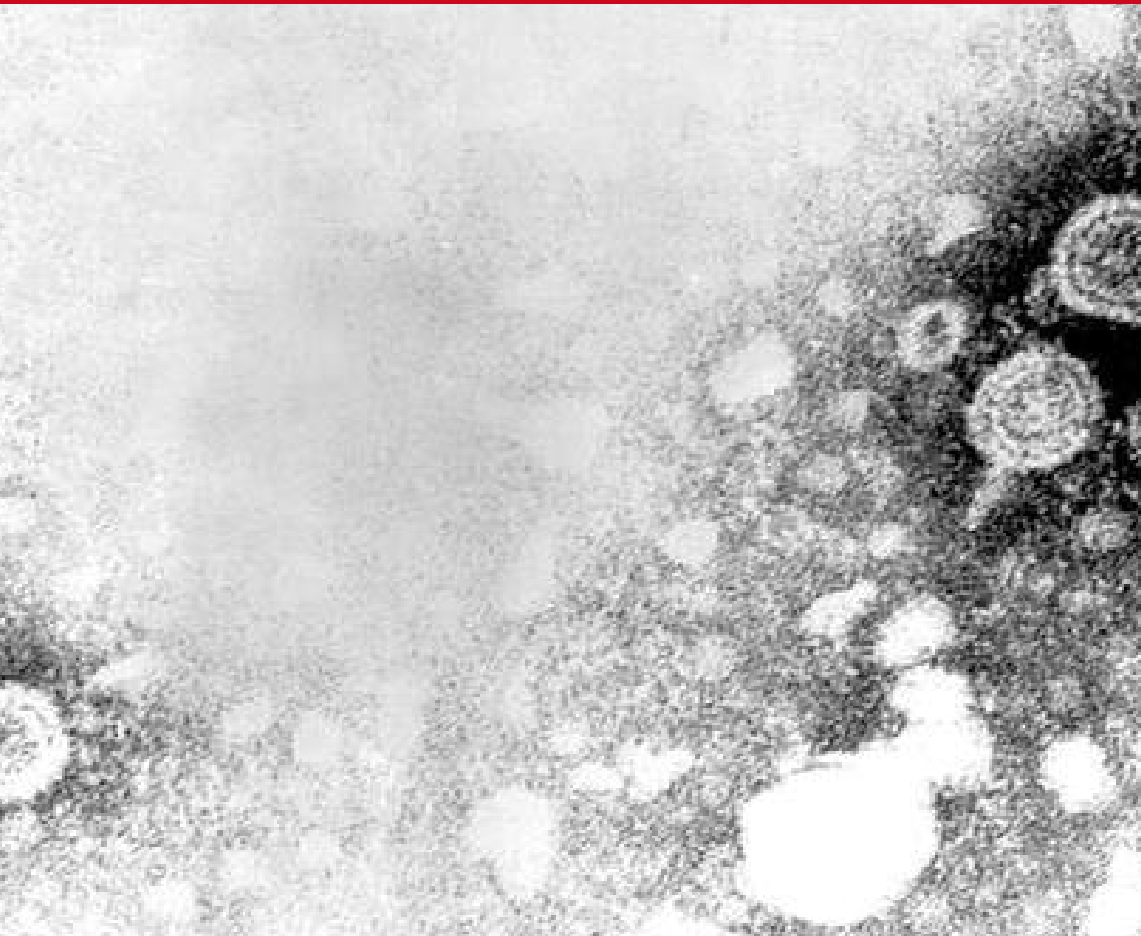


Mauss - Berg - Rockstroh - Sarrazin - Wedemeyer



HEPATOLOGIE

Versiunea in limba romana

Flying Publisher

Hepatologie 2009

www.HepatologyTextbook.com

Versiunea in limba romana
aparuta sub redactia

Camelia Sultana

Simona Ruta

Adaptare dupa

Hepatology 2009

www.HepatologyTextbook.com

Mauss, Berg, Rockstroh, Sarrazin, Wedemeyer, et al.

Traducerea a fost asigurata de
colectivul Disciplinei de Virusologie, UMF "Carol Davila"
Institutul de Virusologie "St. S. Nicolau"
285, sos. Mihai Bravu, Bucuresti Romania
Tel/fax +40213242590
Email: camelia.sultana@virology.ro

Prof. Dr. Simona Ruta
Dr. Camelia Sultana,
Dr. Loredana Manolescu,
Dr. Codruta Vagu,
Dr. Aura Temereanca,
Dr. Cornel Popescu

Hepatologia este un domeniu in continua schimbare. Editorii si autorii *Hepatologiei* 2009, precum si traducatorii prezentei versiuni, au depus toate eforturile pentru a prezenta informatiile complete si corecte la data publicarii. Totusi, datorita modificarilor rapide aparute in domeniul medical, cat si a erorilor umane, acest site poate contine inadvertente tehnice sau erori de tipografie, astfel ca cititorii sunt rugati sa verifice pentru fiecare medicament indicatiile producatorului in legatura cu doza recomandata, posologia si durata tratamentului, fiind responsabilitatea medicului curant de a determina terapia optima pentru un anumit pacient. Informatiile continute in prezenta publicatie nu au garantie, editorii, traducatorii si editura Flying Publisher nu pot fi trasi la raspundere pentru erori sau omisiuni sau pentru rezultatele obtinute din utilizarea informatiei continute in carte.

© 2009 de <Camelia Sultana si Simona Ruta>

Prefata (S. Zeuzem)

Hepatologia este un domeniu medical in continua schimbare si dezvoltare, care va suscita interesul pentru inca minim cateva decade. Hepatitele virale, spre deosebire de infectia HIV in urma cu 10 – 15 ani, pot fi in aceasta perioada tratate. Astfel, replicarea virusului hepatitei B poate fi supresata cu agenti antivirali potenti, chiar daca sub semnul emergentei mutantelor rezistente, iar strategiile de crestere a ratei de eradicare a infectiei VHB trebuie perfectionate in continuare. Pe de alta parte, si infectia cu virus hepatitic C poate fi eradicata utilizand regimuri terapeutice care contin interferon pegylat si ribavirina, dar rata de raspuns virusologic sustinut , mai ales pentru pacientii infectati cu genotipul 1 VHC, este suboptimala. Multe antivirale, mai ales inhibitorii de proteaza sau polimeraza virala, sunt evaluate in studii clinice si preclinice, iar rezultatele preliminare sunt optimiste in ceea ce priveste cresterea ratei de vindecare a infectiei VHC. Cunostintele acumulate in alte domenii ale hepatologiei, cum sunt bolile ereditare si autoimune sunt si ele in crestere, si sunt in studio noi optiuni terapeutice.

Sunt cartile din astfel de domenii rapid progresive cum este hepatologia, utile in sumarizarea cunostintelor medicale actuale, sau sunt destinate invecirii in fiecare zi dupa publicare? Aceasta este o provocare ce poate fi depasita doar prin publicarea on-line, cu tot ceea ce aceasta forma de carte implica: posibilitate de reinnoire continua, accesibilitate generala si gratuitate. Hepatitele virale reprezinta o problema mondiala de sanatate, astfel ca informatia actualizata este deosebit de importanta pentru medici, cercetatori, pacienti si lucratorii din domeniul sanatatii publice din inmtreaga lume.

Autorii acestei carti on-line – Thomas Berg, Stefan Mauss, Jürgen Rockstroh, Christoph Sarrazin and Heiner Wedemeyer – sunt hepatologi de renume mondial care au creat o capodopera in domeniul cartii medicale, carte fiind bine structurata, furnizand informatii in detaliu, fara a fi in sa redundanta. Sunt convins ca toti cei cinci autori vor ramane activi din din punct de vedere stiintific, adaugand permanent informatii noi, sperand ca aceasta carte va deveni in curand un standard international.

Stefan Zeuzem – Frankfurt, 24 January 2009

Prefata (M. P. Manns)

Opțiunile terapeutice și procedurile diagnostice au evoluat rapid în hepatologie, aceste trăsături fiind cel mai pregnant observate în domeniul hepatitelor virale, a căror abordare s-a modificat complet față de anii '90. Înainte de era analogilor nucleotidici și nucleozidici în terapia hepatitei virale B și a combinației de interferon pegylat cu ribavirina în tratamentul hepatitei C, majoritatea pacienților nu reuseau să elimine infecția virală. Singura opțiune de tratament a pacienților cu boli terminale hepatice sau cancer hepatic era transplantul hepatic, dar chiar și la aceia la care intervenția era reușită, reinfectia era o regulă, ceea ce reprezenta o adevărată problemă în tratamentul hepatitelor de cauză virală. La sfârșitul anilor '80 și începutul anilor '90 se punea problema excluderii pacienților cu infecții virale de pe lista de transplant datorită prognosticului rezervat al evoluției în timp ce astăzi, la numai 15 ani diferență, hepatita virală B reprezintă una din cele mai importante indicații pentru transplant hepatic și, practic, aproape toate cazurile de reinfectie a greșii sunt prevenite. În plus trebuie subliniată scăderea numărului de pacienți cu hepatita B care necesită transplant hepatic datorită succesului terapiei antivirale, după care se poate obține supresia completă a replicării virale sau chiar eliminarea antigenului de suprafață, AgHBs. Hepatita C a devenit și ea o boală virală tratabilă, în perioada actuală putându-se obține un răspuns virologic susținut la 50-80% cu ajutorul terapiei combinate cu interferon pegylat cu ribavirina, iar tratamente noi cu inhibitori de enzime virale sunt în studiu (unele ajungând deja în faza 3) și fiind așteptate în curând în practica clinică. De cele mai multe ori introducerea de noi tehnici de diagnostic în practica medicală determină numeroase probleme pentru clinician, legate de diagnosticul complet și corect, de aprecierea după cele mai noi standarde ale stadiului de boală hepatică, determinarea pregulii de sensibilitate pentru tehnicile de detecție a virusurilor hepatice sau, punctual, dacă și când este necesară detecția variantelor polimerazei VHB înainte și în timpul terapiei sau care este momentul optim de întrerupere a terapiei antivirale fără a risca recăderea, problema tratării hepatitelor acute B sau C sau a vaccinării pentru hepatitele A sau B. Datorită acumulării continue de date în domeniul hepatologiei, al apariției continue de noi publicații și ghiduri de terapie, este din ce în ce mai dificilă a se realiza decizia terapeutică optimă pentru pacienți cu boli hepatice. În acest context *Hepatologia 2009* este un instrument valoros ce creează premisele cunoașterii de vârf în domeniul infecțiilor cu virusuri hepatice iar autorii sunt experți bine-cunoscuți din domeniul hepatologiei, aducând contribuții valoroase la dezvoltarea cunoștințelor legate de patogenia bolilor hepatice determinate viral, în diagnosticul și tratamentul infecțiilor virale. *Hepatologia 2009* asigură o vedere de ansamblu asupra epidemiologiei, virologiei și virusologiei virusurilor hepatice, dar și abordări comprehensive asupra managementului infecțiilor VHB și VHC inclusiv în ceea ce privește coinfectia acestora cu HIV. Importanța de subliniat este și abordarea complicațiilor infecțiilor virale, precum carcinomul hepatocelular, dar nu în ultimul rând și a altor boli hepatice non-virale, cum sunt bolile hepatice autoimune și metabolice. Suntem convinși că această carte nouă care abordează cele mai semnificative aspecte legate de patologia hepatică va fi de un real folos oricărui cititor, iar editorii și autorii ar trebui felicitați.

Michael P. Manns – Hannover, 24 January 2009

Autori

Fernando Agüero

Infectious Diseases Service
Hospital Clínic - IDIBAPS
University of Barcelona
Villarroel, 170
08036 - Barcelona, Spain
colachito4@hotmail.com

Susanne Beckebaum

Interdisciplinary Liver Transplant Unit
University Hospital Essen
Operatives Zentrum II
Ebene A1
Hufelandstr. 55
45122 Essen, Germany
susanne.beckebaum@uni-due.de

Thomas Berg

Charité, Campus Virchow-Klinikum,
Universitätsmedizin
Medizinische Klinik m. S. Hepatologie
und Gastroenterologie
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin, Germany
thomas.berg@charite.de

Florian van Bömmel

Charité, Campus Virchow-Klinikum,
Universitätsmedizin
Medizinische Klinik m. S. Hepatologie
und Gastroenterologie
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin, Germany

Carlos Cervera

Infectious Diseases Service
Hospital Clínic - IDIBAPS
University of Barcelona
Villarroel, 170
08036 - Barcelona, Spain
CCERVERA@clinic.ub.es

Vito R. Cicinnati

Interdisciplinary Liver Transplant Unit
University Hospital Essen
Operatives Zentrum II
Ebene A1
Hufelandstr. 55
45122 Essen, Germany
vito.cicinnati@uni-due.de

Markus Cornberg

Dept. of Gastroenterology, Hepatology
and Endocrinology
Medical School of Hannover
Carl-Neuberg-Str. 1
30625 Hannover, Germany
cornberg.markus@mh-hannover.de

Juan-Carlos García-Valdecasas

Liver Transplant Unit, Department of
Surgery
Hospital Clínic - IDIBAPS
University of Barcelona
Villarroel, 170
08036 - Barcelona, Spain
JCVALDE@clinic.ub.es

Guido Gerken

Department of Gastroenterology,
University Hospital Essen
Hufelandstr. 55
45122 Essen, Germany

Frank Grünhage

Medical Department II
Saarland University Hospital
Kirrbergerstr. 1
66421 Homburg, Germany
frank.gruenhage@uks.eu

Bernd Kupfer

Medizinische Universitaetsklinik I
Sigmund-Freud-Str. 25
53105 Bonn, Germany

Montserrat Laguno

Infectious Diseases Service
Hospital Clínic - IDIBAPS

University of Barcelona
Villarroel, 170
08036 - Barcelona, Spain
MLAGUNO@clinic.ub.es

Frank Lammert

Medical Department II
Saarland University Hospital
Kirrbergerstr. 1
66421 Homburg, Germany

Christian Lange

J. W. Goethe-University Hospital
Medizinische Klinik 1
Theodor-Stern-Kai 7
60590 Frankfurt am Main, Germany

Johannes Lenz

Medizinische Universitätsklinik I
Sigmund-Freud-Str. 25
53105 Bonn, Germany

Jessica Lüsebrink

Institute of Virology
University of Bonn Medical Centre
Sigmund-Freud-Str. 25
53105 Bonn, Germany

Michael P. Manns

Dept. of Gastroenterology, Hepatology
and Endocrinology
Medical School of Hannover
Carl-Neuberg-Str. 1
30625 Hannover, Germany

Stefan Mauss

Center for HIV and
Hepatogastroenterology
Grafenberger Allee 128a
40237 Duesseldorf, Germany
stefan.mauss@center-duesseldorf.de

José M. Miró

Infectious Diseases Service
Hospital Clínic - IDIBAPS
University of Barcelona
Villarroel, 170
08036 - Barcelona, Spain
jmmiro@ub.edu

Asuncion Moreno

Infectious Diseases Service
Hospital Clínic - IDIBAPS
University of Barcelona
Villarroel, 170
08036 - Barcelona, Spain
AMORENO@clinic.ub.es

Claus Niederau

Katholische Kliniken Oberhausen
gGmbH, St. Josef Hospital
Department of Internal Medicine
Academic Teaching Hospital of the
University
Duisburg-Essen
Mülheimer Str. 83
46045 Oberhausen, Germany
claus.niederau@st-josef.de

Karl-Philipp Puchner

Charité, Campus Virchow-Klinikum,
Universitätsmedizin
Medizinische Klinik m. S. Hepatologie
und Gastroenterologie
Augustenburger Platz 1
13353 Berlin, Germany

Antonio Rimola

Liver Transplant Unit - CIBEREHD
Hospital Clínic - IDIBAPS
University of Barcelona
Villarroel, 170
08036 - Barcelona, Spain
ARIMOLA@clinic.ub.es

J. K. Rockstroh

Medizinische Universitätsklinik I
Sigmund-Freud-Str. 25
53105 Bonn, Germany
rockstroh@uni-bonn.de

Christoph Sarrazin

J. W. Goethe-University Hospital
Medizinische Klinik 1
Theodor-Stern-Kai 7
60590 Frankfurt am Main, Germany
sarrazin@em.uni-frankfurt.de

Martin Schäfer

Department of Psychiatry
and Psychotherapy
Kliniken Essen-Mitte
Ev. Huyssenstift
Henricstraße 92
45136 Essen, Germany

Carolynne Schwarze-Zander

Immunologische Ambulanz
Medizinische Klinik I
Sigmund-Freud-Str. 25
53105 Bonn
Carolynne.Schwarze-
Zander@ukb.uni-bonn.de

Oliver Schildgen

Institute of Virology
University of Bonn Medical Centre
Sigmund-Freud-Str. 25
53105 Bonn, Germany
schildgen@virology-bonn.de

Verena Schildgen

Institute of Virology
University of Bonn Medical Centre
Sigmund-Freud-Str. 25
53105 Bonn, Germany

Ulrich Spengler

Department of Internal Medicine 1
University Hospitals of Bonn University
Sigmund-Freud-Strasse 25
53105 Bonn, Germany

Christian P. Strassburg

Klinik für Gastroenterologie,
Hepatologie und Endokrinologie
Medizinische Hochschule Hannover
Carl- Neuberg-Str. 1
30625 Hannover
strassburg.christian@mh-
hannover.de

Montserrat Tuset

Pharmacy Department
Hospital Clínic - IDIBAPS
University of Barcelona
Villarroel, 170
08036 - Barcelona, Spain
mtuset@clinic.ub.es

Jan-Christian Wasmuth

Medizinische Klinik und Poliklinik I
Universitätsklinikum Bonn
Sigmund-Freud-Str. 25
53105 Bonn, Germany
j-c.wasmuth@uni-bonn.de

Heiner Wedemeyer

Dept. of Gastroenterology, Hepatolo-
gy and Endocrinology
Medical School of Hannover
Carl-Neuberg-Str. 1
30625 Hannover, Germany
wedemeyer.heiner@mh-hannover.de

Stefan Zeuzem

J. W. Goethe-University Hospital
Medizinische Klinik 1
Theodor-Stern-Kai 7
60590 Frankfurt am Main, Germany

Cuprins

Capitolul 1: Hepatita A - Epidemiologie, transmitere si istoria naturala	23
Organizarea genomului	23
Epidemiologie	23
Transmiterea infectiei	23
Evolutia clinica	24
Semne clinice.....	25
Manifestari extrahepatice	25
Diagnostic de laborator.....	25
Diagnostic.....	25
Tratament	26
Referinte	26
Capitolul 2: Hepatita B - Epidemiologie, transmitere si istorie naturala.....	29
Introducere	29
Transmitere	30
Istoria naturala si manifestari clinice	33
Referinte	39
Capitolul 3: Hepatita C - Epidemiologie, transmitere si istorie naturala.....	41
Epidemiologie	41
Transmitere	41
Manifestari clinice si istoria naturala a infectiei cu VHC	44
Hepatita acuta.....	44
Hepatita cronica C.....	45
Istoria naturala	46
Ciroza si decompensarea hepatica	46
Referinte	50
Capitolul 4: Hepatita E – Epidemiologie, transmitere si istorie naturala.....	53
Introducere	53

Epidemiologie si transmitere.....	53
Manifestari clinice.....	54
Diagnostic.....	55
Sarcina.....	55
Tratament.....	55
Referinte.....	56
Capitolul 5: VHB - Virusologie.....	59
Introducere.....	59
Patogenia infectiei cu alte hepadnavirusuri.....	65
Modele animale ale infectiilor cu VHB.....	66
Culturile celulare modele pentru fenotiparea <i>in vitro</i>	68
Referinte.....	69
Capitolul 6: VHC - Virusologie.....	79
Istoric.....	79
Taxonomie si genotipuri.....	79
Structura virala.....	80
Organizarea genomica.....	81
Gene si proteine.....	83
Ciclul replicativ al virusului.....	87
Sisteme model pentru cercetarea VHC.....	90
Referinte.....	92
Capitolul 7: Profilaxia si vaccinarea in hepatitele virale.....	103
Introducere.....	103
Profilaxia infectiilor cu virusuri hepatice.....	103
Vaccinarea impotriva hepatitei A.....	105
Vaccinarea impotriva hepatitei B.....	106
Siguranta vaccinului pentru VHB.....	108
Vaccinarea impotriva hepatitei C.....	109
Vaccinarea impotriva hepatitei E.....	110
Referinte.....	110
Capitolul 8: Diagnosticul in hepatita B acuta si cronica.....	117
Introducere.....	117
Obiectivele testelor de diagnostic in managementul infectiei VHB.....	117
Testele moleculare in diagnosticul si managementul VHB.....	118
Concluzii si directii viitoare.....	120
Referinte.....	120

Capitolul 9: Tratamentul infectiei VHB - Terapia standard	123
Introducere	123
Obiectivele terapiei antivirale.....	125
Indicatiile terapiei antivirale.....	127
Indicatiile de terapie: sumar al recomandarilor ghidului german.....	129
Referinte	142
Capitolul 10: VHB –rezistenta virusului si implicatii terapeutice.....	147
Introducere	147
Principiile terapiei antivirale in hepatita virala B- cum sa se evite rezistenta.....	148
Alegerea momentului opririi tratamentului.....	148
Patternul rezistentei la inhibitorii de polimeraza VHB.....	149
Tratamentul combinat al hepatitelor cronice B creste eficacitatea antivirala si scade aparitia rezistentei	152
Managementul rezistentei la terapie	153
Consideratii speciale la pacientii coinfectati HIV/VHB.....	153
Rezistenta la inhibitorii de polimeraza si eludarea raspunsului imun.....	154
Concluzii	154
Referinte	155
Capitolul 11: Hepatita D - modalitati de diagnostic si terapie	159
Introducere	159
Virusologia VHD	160
Epidemiologia hepatitei delta.....	161
Patogenia infectiei cu VHD	163
Evolutia clinica a hepatitei delta.....	164
Diagnosticul hepatitei delta.....	165
Tratamentul hepatitei delta.....	166
Referinte	168
Capitolul 12: Hepatita C acuta si cronica – Teste de diagnostic.....	175
Introducere	175
Tehnicile serologice	176
Tehnicile moleculare de detectie a ARN VHC	177
Teste moleculare cantitative	179
Genotiparea VHC.....	181
Diagnosticul infectiei VHC acute si cronice	183
Referinte	185

Capitolul 13: Terapia standard a infectiei VHC	187
Managementul hepatitei acute C	187
Tratamentul standard in hepatitele cronice C	188
Individualizarea si optimizarea strategiilor	192
Reactii adverse si complicatii	198
Tratamentul hepatitei C la categorii speciale de pacienti.....	201
Terapii de viitor	202
Tratamentul pacientilor cu esec anterior al tratamentului antiviral.....	203
Capitolul 14: Noi agenti terapeutici.....	215
Introducere	215
Ciclul replicativ VHC si componentele tinta pentru STAT-C	217
Procesul de translatie a ARN VHC si de traducere a proteinelor virale....	218
Replicarea VHC	230
Rezistenta la antivirale specifice	237
Inhibitorii nucleozidici.....	239
Tratament antiviral VHC care tintește proteinele gazdei	240
Noi preparate de interferon.....	242
Albinterferon.....	242
IFN α -2bXL.....	243
Noi derivati ai ribavirinei	244
Perspective.....	244
Referinte	245
Capitolul 15: Managementul reactiilor adverse ale antiviralelor.....	253
Introducere	253
Simptome asemanatoare gripei, febra, artralgia si mialgia.....	253
Tulburari gastrointestinale.....	254
Scaderea in greutate	254
Astenia	254
Tusea si dispneea	255
Afectiunile glandei tiroide	255
Efecte psihice secundare	255
Referinte	259
Capitolul 16: Manifestarile extrahepatice din hepatita C cronica.....	263
Introducere	263
Crioglobulinemia mixta	265
Boli limfoproliferative.....	268
Trombocitopenia asociata VHC	269

Anemia hemolitica autoimuna asociata VHC	270
Manifestari endocrine	270
Manifestari dermatologice si altele	271
Referinte	272
Capitolul 17: Managementul coinfectiei VHB/HIV	279
Introducere	279
Terapia VHB la pacientii coinfectati HIV fara terapie antiretrovirala.....	280
Tratamentul hepatitei B cronice in cadrul coinfectiei VHB/HIV.....	284
Managementul rezistentei la inhibitorii polimerazei VHB	286
Concluzii	286
Referinte	287
Capitolul 18: Managementul coinfectiei VHC/HIV	291
Epidemiologia coinfectiei HIV/VHC	291
Aspecte tintite ale diagnosticului infectiei VHC in coinfectie cu HIV.....	292
Istoria naturala a hepatitei C la pacientii HIV-pozitivi.....	292
Efectul hepatitei C asupra infectiei HIV.....	293
Efectul terapiei HAART asupra hepatitei C	293
Tratamentul infectiei VHC	294
Concluzii	300
Referinte	300
Capitolul 19: Managementul coinfectiei VHB-VHC	303
Epidemiologia coinfectiei VHC - VHB	303
Screening-ul persoanelor coinfectate VHB/VHC	303
Interactiunile virale intre VHB si VHC	303
Manifestari clinice ale infectiei cu VHB si cu VHC.....	304
Tratamentul persoanelor coinfectate VHC/VHB	307
Concluzie	307
Referinte	308
Capitolul 20: Evaluarea fibrozei hepatice in hepatita cronica virala .	313
Introducere	313
Mecanismele fibrozei hepatice in hepatita cronica virala	313
Biopsia hepatica – standardul de aur pentru stadializarea fibrozei	314
Markerii surogat ai fibrozei hepatice in hepatita cronica virala.....	316
Elastografia tranzitorie.....	317
Alte tehnici imagistice pentru cuantificarea fibrozei hepatice	318
Algoritm pentru decizia terapeutica	318
Rezumat	320

Referinte	320
Capitolul 21: Diagnosticul, prognosticul si tratamentul HCC.....	327
Clasificarea HCC	327
Epidemiologie	327
Supravegherea pacientilor si diagnosticul in stadiile timpurii HCC.....	328
Diagnostic.....	329
Terapia adaptata stadiului tumoral a cancerului hepatic.....	330
Profilaxia cancerului hepatic.....	334
Referinte	335
Capitolul 22: Managementul pacientilor inainte si dupa transplant ..	341
Introducere	341
Indicatia de transplant hepatic si alegerea momentului realizarii acestuia	341
Evaluarea pacientilor	343
Managementul pacientilor pretransplant.....	344
Transplantul de la donator viu:.....	347
Indicatii, evaluarea donatorilor si rezultate	347
Complicatiile pe termen lung post transplant hepatic	348
Recurenta bolilor post transplant hepatic	355
Evolutia transplantului hepatic la pacientii cu insuficienta hepatica acuta.	366
Concluzii	367
Referinte	368
Capitolul 23: Transplantul hepatic in hepatitele B, C si in coinfectiile acestora cu HIV.....	383
Introducere	383
Epidemiologie	383
Caracteristicile clinice ale pacientilor coinfectati cu ESLD	384
Prognosticul dupa decompensare	385
Managementul complicatiilor cirozei	386
Abuzul de substante toxice.....	386
Managementul infectiei VHC/VHB.....	387
Tratamentul antiretroviral (ART).....	388
OLT (Transplantul hepatic ortopic).....	388
Criteriile bolii hepatice.....	388
Criteriile legate de infectia HIV	389
Criterii clinice.....	389
Criterii imunologice.....	390
Criterii virusologice.....	390

Alte criterii.....	390
Evolutia transplantului hepatic ortotopic (OLT) la pacientii HIV-infectati ...	391
Concluzii	394
Referinte	394
Capitolul 24: Boli hepatice metabolice: Hemocromatoza	403
Definitia si clasificarea bolilor prin exces de fier	403
Hemocromatoza tip 1 (HFE)	405
Hemocromatozele secundare.....	420
Referinte	422
Capitolul 25: NAFLD si NASH.....	427
Introducere	427
Prevalenta	427
Factori de risc si demografie.....	427
Patogenia	428
Evolutia naturala.....	429
Diagnostic.....	430
Dieta si recomandari pentru stilul de viata.....	432
Tratamentul farmacologic.....	432
Chirurgia pentru obezitate.....	433
Transplantul hepatic (LTX) pentru NASH.....	433
Referinte	433
Capitolul 26: Boala Wilson	439
Introducere	439
Prezentarea clinica.....	439
Diagnostic.....	443
Tratament	446
Monitorizarea tratamentului	450
Referinte	453
Capitolul 27: Boli hepatice autoimune: AIH, PBC si PSC.....	459
Hepatita autoimuna (AIH).....	459
Ciroza biliara primitiva (PBC)	483
Colangita sclerozanta primara.....	494
Referinte	500

Partea 1

Elemente de baza

Capitolul 1: Hepatita A - Epidemiologie, transmitere si istoria naturala

Johannes Lenz

Organizarea genomului

Virusul hepatitei A (VHA) a fost identificat in 1973 (Feinstone 1973). Este un virus neanvelopat de 27 nm, cu ARN simplu-spiralat, simetrie eicosaedrica si apartine genului heparnavirus din familia Picornaviridae. Genomul viral contine 7474 nucleotide grupate in trei regiuni: doua zone non-codante 5' si 3' si un cadru de citire deschis (open reading frame) de 6681 nucleotide. Acesta codifica un polipeptid care este procesat de proteaza virala, rezultand unsprezece proteine – patru structurale si sapte non-structurale. Au fost descrise la om pana acum patru genotipuri ale VHA, dar nu au fost inca identificate diferente biologice notabile intre acestea (Lemon 1992).

Epidemiologie

Infectia cu virus hepatitic A este larg raspandita pe glob, aparand fie sporadic, fie in mici izbucniri epidemice. Numarul de noi cazuri de hepatita virala A este estimat la 1,4 milioane / per an (Viral Hepatitis Prevention Board 1997). Datorita transmiterii pe cale digestiva (Hollinger 1996) infectia cu virus hepatitic A are prevalenta crescuta in zone cu statut socio-economic scazut, unde introducerea masurilor sanitare este precara, iar masurile de igiena lipsesc. Incidenta este scazuta in tarile industrializate – 1,5 cazuri / 100.000 locuitori, de ex., in Statele Unite sau Germania (Wasley 2007; RKI 2006). Comparativ, in statele in curs de dezvoltare din Africa, Asia sau America Centrala si de Sud, incidenta poate ajunge pana la 150 / 100.000 locuitori / per an (WHO).

Transmiterea infectiei

VHA este transmis de obicei pe cale digestiva (fecal-oral) fie prin contact direct, fie prin ingestie de apa sau alimente contaminate, dar exista si alte posibilitati de transmitere (de ex., practici sexuale de tip analingus). Virusul hepatitic A se transmite prin materii fecale contaminate, in scaunul pacientilor infectati existand o concentratie crescuta de virioni incepand din a 3a – 10a zi de la debutul bolii si pana la 1-2 saptamani de la aparitia icterului. Excretia de virioni in fecale este mai indelungata la copii si la persoane imunocompromise (pana la 4 - 5 luni dupa contactul infectant) decat la adultii sanatosi (Hollinger 1996).

Categoriile de risc pentru achizitia infectiei cu virus hepatitic A sunt: pacientii clinicilor de psihiatrie sau ai azilelor pentru saraci, personalul medical si militar, homosexualii (mai ales daca practica sexul anal). Datorita viremiei scurte in cursul hepatitei acute A, transmiterea parenterala, prin utilizarea de droguri injectabile sau transfuzii si derivate de sange, este rara. De asemenea, nu au fost raportate cazuri de transmitere materno-fetala.

Evolutia clinica

Infectia cu virus hepatitic A poate avea un spectru larg de manifestari clinice, pornind de la forme asimptomatice sau subclinice si pana la forme colestatice, si chiar insuficienta hepatica fulminanta. La copii, hepatita A este adesea asimptomatica in timp ce 70% dintre adulti prezinta forme simptomatice de boala. Formele simptomatice dar anicterice de VHA sunt mai frecvente decat cele icterice (doar 30% dintre pacienti fac icter).

Incubatia este in medie 30 zile (limite: 15 - 49 zile). Boala debuteaza in general brusc, cu simptomatologie prodromala, nespecifica, implicand stare de rau, oboseala, greata, voma, anorexie, febra, discomfort abdominal si dureri in hipocondrul drept (Lednar 1985). In prima saptamana, la pacientii cu forma clinica icterica apar urini hiperchrome, scaune decolorate, icter si deseori prurit. Dupa aparitia icterului prodromele se diminueaza, pana la disparitie. Icterul este intens in general in primele doua saptamani; scaderea si, ulterior, normalizarea transaminazelor serice apare apoi rapid, inaintea normalizarii bilirubinei serice.

Intr-un procent mic de cazuri (6-10%) poate aparea o evolutie clinica bifazica sau o recadere. Episodul initial dureaza 3-5 saptamani si este urmat de o perioada de remisiune, caracterizata de normalizarea testelor biochimice hepatice, cu durata de 4-5 saptamani. Recaderea poate mima episodul initial de hepatita acuta A, intreaga durata a bolii ajungand in aceste cazuri la 16-40 saptamani de la debut. In tot acest interval anticorpii anti VHA de clasa IgM persista in sangele pacientilor infectati (Schiff 1992).

O evolutie severa a hepatitei acute A, cu insuficienta hepatica fulminanta, apare mai frecvent in cazul pacientilor cu boli cronice hepatice in antecedente. Se considera ca pacientii cu hepatita cronica C prezinta un risc crescut de a face insuficienta hepatica fulminanta, in timp ce coinfectia cu VHB este mai putin primejdioasa (Vento 1989). Alti factori agravanti sunt: varsta inaintata, malnutritia si imunosupresia.

Datele legate de evolutia hepatitei acute A la femeile insarcinate nu sunt concludente. In timp ce unele studii indica risc crescut de complicatii aparute in sarcina si nastere prematura (Elinav 2006; Zhang 1990), alte studii neaga astfel de modificari (Tong 1981).

Infectia cu virus hepatitic A este considerata ca posibil trigger al hepatitei autoimune cronice active (CAH) la pacientii susceptibili genetic (Vento 1991). La 58 de indivizi inruditi cu pacienti CAH au aparut trei cazuri de infectie subclinica cu virus hepatitic A, doi dintre acestia dezvoltand la randul lor CAH in primele 5 luni de la debutul hepatitei A. Ambii pacienti au prezentat raspuns anormal al limfocitelor T la receptorul pentru asialoglicoproteina, cu activarea continua a limfocitelor T helper, in ciuda clearance-ului viral.

In general, o evolutie letala a hepatitei virale A apare la 0.1% dintre copii, la 0.4% dintre persoanele cu varste cuprinse intre 15-39 ani si la 1.1% dintre persoanele de peste 40 ani (Lemon 1985). Desi este descrisa forma cu recadere (vezi mai sus), totusi infectia cu virus hepatitic A nu evolueaza niciodata spre cronicizare.

Semne clinice

Icterul si hepatomegalia sunt cele doua semne principale la examenul clinic, aparand la 70, respectiv la 80% dintre pacientii simptomatici (Tong 1995). Alte manifestari clinice sunt: splenomegalia, rash trecator, limfadenopatie cervicala sau cu alta localizare.

Manifestari extrahepatice

Desi mai putin frecvente decat in infectia VHB, manifestarile extrahepatice pot aparea si in hepatita virala acuta A (Schiff 1992). Vasculita cutanata este situata tipic pe membre sau pe fese. La biopsia cutanata se evidentiaza prezenta anticorpilor anti-VHA-IgM si a componentelor sistemului complement in peretii vascolari. De asemenea, artrita pare sa aiba predilectie pentru extremitatile inferioare. Atat artrita, cat si vasculita sunt asociate cu crioglobulinemie. Manifestarile neurologice ca mielita transversa, nevrita optica si polineuropatia pot fi considerate si ele a avea mecanism imun. Complicatiile hematologice includ trombocitopenia, anemia aplastica si aplazia seriei rosii si apar mai frecvent la pacientii cu simptomatologie de lunga durata.

Diagnostic de laborator

La pacientii simptomatici examenul de laborator caracteristic implica cresterea marcata a transaminazelor serice, a fosfatazei alcaline si bilirubinei serice (Tong 1995). Alaninaminotransferaza (ALT) are de obicei valori mai mari decat aspartat aminotransferaza (AST), valori ale acestora mai mari de 1000 UI/L aparand frecvent.

Cresterea transaminazelor serice apare de obicei inaintea cresterii bilirubinei serice, peak-ul de transaminaze aparand si el inaintea varfului concentratiei de bilirubina serica. Valoarea bilirubinei serice depaseste cel mai adesea 10 mg/dl. Alte examne de laborator modificate sunt cresterea reactantilor de faza acuta, o viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) accelerata si cresterea imunoglobulinelor serice.

Diagnostic

Diagnosticul specific de hepatita virala acuta A se pune pe prezenta in sangele pacientului cu simptomatologie sugestiva de hepatita acuta, a anticorpilor anti-VHA-IgM. Acestia sunt prezenti la 99% dintre pacientii cu simptomatologia clinica deja instalata, detectia lor reprezentand "standardul de aur" pentru diagnosticul infectiei acute VHA. Concentratia anti-VHA-IgM atinge un varf in a doua luna de boala, apoi acestia scad lent, pana devin nedetectabili de obicei dupa 6 – 12 luni. Uneori acesti anticorpi pot persista si timp mai indelungat, de aceea detectia anti-VHA-IgM la indivizi asimptomatici nu indica neaparat o infectie acuta, ci poate fi consecinta unui contact asimptomatic VHA recent (CDC 2005).

Detectia directa a VHA in scaun, fluide corporale, ser si tesut hepatic prin microscopie electronica sau PCR (polymerase chain reaction) este laborioasa si scumpa. Anticorpii anti-VHA-IgG apar rapid in faza de convalescenta, ramanand

pozitivi zeci ce ani, chiar toata viata, si asigura imunitatea de lunga durata impotriva unei reinfectii cu VHA.

Tratament

Intrucat hepatita acuta A este o boala autolimitata, majoritatea cazurilor se remit spontan fara sechele si, neexistand terapie specifica, de obicei tratamentul este suportiv. In 85% dintre cazuri simptomatologia clinica si semnele de laborator se remit in 3 luni. Dupa 6 luni majoritatea pacientilor sunt complet vindecati (Koff 1992). Totusi, cazurile severe necesita internare in spital, de ex. in timpul unei epidemii din Pennsylvania, USA, 20% dintre pacienti au necesitat ingrijiri medicale cu internare (Wheeler 2005). Cazurile rare cu evolutie spre insuficienta hepatica fulminanta (deteriorare marcata a functiei hepatocitare de sinteza, encefalopatie portala) necesita terapie de sustinere intensiva. Acesti pacienti ar trebui transferati intr-o clinica cu posibilitati de efectuare de transplant hepatic.

Referinte

- CDC (Centers for Disease Control). Positive test results for acute hepatitis A virus infection among persons with no recent history of acute hepatitis. *MMWR* 2005; 54: 453-6.
- Elinav E, Ben-Dov IZ, Shapira Y, et al. Acute hepatitis A infection in pregnancy is associated with high rates of gestational complications and preterm labor. *Gastroenterology*. 2006; 130: 1129-34.
- Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH. Hepatitis A: detection by immune electron microscopy of a viruslike antigen associated with acute illness. *Science* 1973; 182:1026.
- Hollinger FB and Ticehurst JR. Hepatitis A virus. In: Fields BN, Knipe DM, and Howley PM, editors. *Fields Virology*, 3rd ed. Philadelphia, Lippincott - Raven, 1996: 735-782.
- Koff RS. Clinical manifestations and diagnosis of hepatitis A virus infection. *Vaccine* 1992;10 Suppl 1:S15-7.
- Lemon SM, Jansen RW, Brown EA. Genetic, antigenic and biological differences between strains of hepatitis A virus. *Vaccine* 1992; 10: S40-4.
- Lemon SM. Type A viral hepatitis. New developments in an old disease. *N Engl J Med*. 1985; 313: 1059-67.
- Lednar WM, Lemon SM, Kirkpatrick JW, Redfield RR, Fields ML, Kelley PW. Frequency of illness associated with epidemic hepatitis A virus infections in adults. *Am J Epidemiol* 1985; 122: 226-33.
- RKI (Robert Koch Institut, Germany): *Infektionsepidemiologisches Jahrbuch meldepflichtiger Krankheiten für 2006*. 2006.
- Schiff ER. Atypical clinical manifestations of hepatitis A. *Vaccine* 1992; 10: S18-20.
- Tong MJ, Thursby M, Rakela J, McPeak C, Edwards VM, Mosley JW. Studies on the maternal-infant transmission of the viruses which cause acute hepatitis. *Gastroenterology* 1981; 80: 999-1004.
- Tong MJ, el-Farra NS, Grew MI. Clinical manifestations of hepatitis A: recent experience in a community teaching hospital. *J Infect Dis* 1995; 171: S15-8.
- Vento S, Garofano T, Di Perri G, Dolci L, Concia E, Bassetti D. Identification of hepatitis A virus as a trigger for autoimmune chronic hepatitis type 1 in susceptible individuals. *Lancet* 1991; 337: 1183-7.
- Vento S, Garofano T, Renzini C et al. Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 1998; 338: 286-90.

27 | Hepatita A - Epidemiologie, transmitere si istoria naturala

Viral Hepatitis Prevention Board. News from the VHPB meeting in St. Julians, Malta. *Viral Hepatitis* 1997; 6: 6.

Wasley A, Miller JT, Finelli L. Surveillance for acute viral hepatitis--United States, 2005.

MMWR Surveill Summ. 2007; 56: 1-24.

Wheeler C, Vogt TM, Armstrong GL et al. An outbreak of hepatitis A associated with green onions. *N Engl J Med* 2005; 353: 890-7.

WHO (World Health Organization): Hepatitis A. World Health Organization. Department of Communicable Disease Surveillance and Response
http://www.who.int/csr/disease/hepatitis/HepatitisA_whocdscsreduc2000_7.pdf.

Zhang RL, Zeng JS, Zhang HZ. Survey of 34 pregnant women with hepatitis A and their neonates. *Chin Med J (Engl)* 1990; 103: 552-5.

Capitolul 2: Hepatita B - Epidemiologie, transmitere si istorie naturala

Jan-Christian Wasmuth

Introducere

Se estimeaza ca 40% din populatia lumii a intrat in contact sau este purtator cronic al virusului hepatitei B (VHB). Aceasta corespunde unui numar estimativ de 350 de milioane de purtatori de VHB pe glob (Goldstein 2005). Astfel, infectia cu VHB reprezinta una din cele mai importante boli infectioase din lume. Aproximativ un milion de persoane mor anual in urma unor afectiuni determinate de VHB. Prevalenta VHB variaza considerabil, cu valori cuprinse intre 0.1% si 20% in diferite zone ale lumii. Ariile cu prevalenta scazuta (0.1-2%) sunt Europa de Vest (cu mari variatii in interiorul Europei), Statele Unite si Canada, Australia si Noua Zeelanda; ariile cu prevalenta intermediara (3-5%) sunt tarile Mediteraneene, Japonia, Asia Centrala, Orientul Mijlociu, America Latina si Centrala; si ariile cu prevalenta inalta (10-20%) Asia de Sud, China, si Africa Sub-Sahariana. Aceasta diversitate este probabil legata de diferenta intre varstele la care se achizitioneaza infectia, care se coreleaza la randul sau cu riscul de cronicizare. Rata progresiei infectiei cu VHB de la forma acuta la cea cronica scade cu varsta, fiind de aproximativ 90% in cazul infectiei perinatale si aproximativ 5% sau chiar mai scazuta in cazul adultilor (Stevens 1975; Wasley 2008).

Incidenta noilor infectii a scazut in majoritatea tarilor dezvoltate, cel mai probabil datorita implementarii strategiilor vaccinale (Rantala 2008). Cu toate acestea, raportarea datelor exacte este dificila datorita numarului mare de infectii asimptomatice, fie ele acute sau cronice (RKI 2007). Cu toate acestea, in Germania in 2006 au fost inregistrate 2524 de cazuri de hepatita B acuta, corespunzand unei rate a incidentei de 1,4 la 100.000 de locuitori, iar in 1997 au fost inregistrate 6135 de cazuri de hepatita B acuta. De asemenea, in Statele Unite incidenta hepatitei B acute a scazut cu 78% din 1990 pana in 2005 (Wasley 2008). Este de asteptat ca acest numar sa scada si mai mult in tarile in care s-a implementat programul de vaccinare. In 2006 in Germania 87% din copii de varsta scolara fusesera vaccinati iar trend-ul de acoperire vaccinala era in crestere (Poethko-Muller 2007).

Desi incidenta hepatitei B acute a scazut in majoritatea tarilor datorita implementarii programelor de vaccinare, totusi complicatiile infectiei VHB – carcinomul hepatic si mortalitatea prin boli hepatice - au crescut (Gomaa 2008). Motivele ar putea fi intarzierea efectelor vaccinarii, imbunatatirea procesului de diagnosticare si o mai buna documentare a cazurilor de hepatita B. Desi a fost observata o scadere a prevalentei in multe tari, estimarile sunt dificile datorita cresterea ratei de migratie a populatiei din ariile cu prevalenta inalta catre cele cu prevalenta scazuta (Belongia 2008).

Transmitere

Cai de transmitere ale VHB:

- Sexuala
- Percutana (Intravenous Drug Use)
- Perinatale
- Orizontala
- Prin transfuzie
- Infectii nosocomiale (inclusiv leziunile prin inteparea cu ace)
- Prin transplantatul de organ

Exista variatii considerabile in ceea ce priveste predominanta modurilor de transmitere in arii geografice diferite. De exemplu, in ariile cu prevalenta scazuta ca de exemplu Europa de Vest, caile de transmitere sunt in principal contactul sexual neprotejat si utilizarea intravenoasa a drogurilor. In ariile cu prevalenta inalta ca de exemplu Africa Sub-Sahariana, infectia perinatale reprezinta modalitatea predominanta de transmitere. Transmiterea orizontala, in mod particular in primii ani din copilarie, este considerata calea majora de transmitere in ariile cu prevalenta intermediara.

Transmiterea pe cale sexuala

In ariile cu prevalenta scazuta transmiterea pe cale sexuala este calea majora de transmitere. Se considera ca aproximativ 40% dintre noile infectii cu VHB din Statele Unite sunt transmise prin contact heterosexual, si 25% apar la homosexuali (Wasley 2008). Profilaxia infectiei cu VHB este vaccinarea si sexul protejat, i.e. utilizarea prezervativelor. Cu toate acestea exista inca dezbateri referitoare la recomandarile pentru pacientii cu viremie scazuta.

Transmiterea percutana si permucoasa

Calea parenterala reprezinta o modalitate eficienta de transmitere a VHB. Cea mai importanta cale este folosirea in comun a siringilor si a acelor de catre utilizatorii de droguri intravenoase. In ariile cu prevalenta scazuta cum ar fi Europa sau Statele Unite aproximativ 15% din cazurile nou diagnosticate cu VHB sunt utilizatorii de droguri intravenoase (Wasley 2008). Riscul transmiterii VHB creste proportional cu numarul anilor de consum, frecventa injectarii si folosirea in comun a echipamentului de preparare a drogurilor.

Alte situatii de posibila transmitere parenterala a VHB sunt folosirea in comun a aparatelor de ras si periuțelor de dinti, desi numarul exact de cazuri ramane necunoscut. In plus anumite practici, precum acupunctura, tatuarea si piercingul au fost asociate cu transmiterea hepatitei B. Educatia sanitara publica si utilizarea acelor sau echipamentelor de unica folosinta sunt importante pentru prevenirea transmiterii.

Transmiterea perinataala

Transmiterea VHB de la o mama AgHBe-pozitiva la copil poate avea loc in utero, in timpul expulziei sau dupa nastere. Rata de infectie poate fi de pana la 90%. Totusi, vaccinarea neonatala este foarte eficienta (95%). Eficacitatea sa indica faptul ca majoritatea infectiilor apar intrapartum sau la scurt timp postpartum. Pe de alta parte, operatia cezariana pare sa nu previna transmiterea asa cum se intampla in alte afectiuni transmise vertical cum ar fi HIV.

Riscul transmiterii de la mama la copil este legat de rata replicarii VHB la mama. Se pare ca exista o corelatie directa intre nivelurile ADN VHB si probabilitatea transmiterii. La mamele cu replicare inalta a VHB riscul transmiterii poate fi de pana la 85-90%, si scade continuu odata cu scaderea nivelelor de ADN VHB (Burk 1994; Wang 2003). In unele studii transmiterea perinataala a fost practic absenta atunci cand mama nu avea replicare virala semnificativa ($<10^5$ log copii/ml) (Li 2004).

Este posibil ca riscul transmiterii perinatale sa fie redus in mai multe feluri. Primul pas este identificarea persoanelor la risc. Testarea prezentei Ag HBs ar trebui sa devina rutina la prima vizita prenatala a femeii si apoi sa fie repetata daca se considera necesar. Nou-nascutii din mame pozitive pentru VHB pot fi protejati efectiv prin imunizare pasiv-activa ($>90\%$ rata de protectie) (del Canho 1997). Pentru imunizarea pasiva ar trebui administrate imunoglobuline specifice anti hepatita B cat mai devreme posibil (in decurs de 12 ore), dar pot fi administrate si pana la 7 zile de la nastere, daca mama este diagnosticata mai tarziu. Imunizarea activa urmeaza schema standard si cuprinde trei momente (10 μ g in ziua 0, luna 1, si luna 6). Tratamentul pentru infectia VHB cu analogi nucleozidici trebuie administrat mai ales acelor mame care au niveluri crescute de ADN VHB, desi nu se cunoaste daca tratamentul antiviral are efect protector suplimentar imunizarii. In acest moment nu exista ghiduri de recomandari complete. Lamivudina pare a fi tratamentul de electie. Telbivudina poate fi o alternativa, in timp ce adefovirul, entecavirul si tenofovirul nu sunt recomandate in sarcina, cu exceptia cazurilor cu indicatii specifice (Cornberg 2007).

Asa cum s-a mentionat anterior, operatia cezariana nu trebuie efectuata de rutina, desi se recomanda in cazul altor boli infectioase cum ar fi HIV (in functie de rata replicarii virale). Daca copilul a fost vaccinat, atunci el poate fi alaptat (Hill 2002).

Transmiterea orizontala

Copii pot achizitiona infectia cu VHB prin transmitere orizontala, prin leziuni minore la nivelul tegumentelor sau mucoaselor sau prin contact direct cu alti copii. In plus, VHB poate supravietui in mediul extern o perioada lunga de timp avand ca rezultat, posibilitatea transmiterii prin obiecte casnice contaminate cum ar fi periuetele de dinti, aparatele de ras, si chiar jucarii. Desi ADN-ul VHB a fost detectat in diverse secretii corporale la purtatorii de Ag HBs, nu exista o dovada ferma a transmiterii VHB prin alte fluide corporale in afara de sange.

Transfuzia

Donatorii de sange sunt testati in mod frecvent pentru prezenta antigenului de suprafata al virusului hepatitic B (AgHBs) si prin urmare incidenta hepatitei B posttransfuzionale a scazut in mod semnificativ. Riscul de achizitie al hepatitei B posttransfuzionale depinde de o serie de factori, cum ar fi prevalenta si strategia de testare a donatorilor: in zonele cu prevalenta scazuta a fost estimat la 1 - 4 / 1.000.000 persoane transfuzate (Dodd 2000; Polizzotto 2008), in regiunile cu prevalenta crescuta fiind considerabil mai ridicat - aproximativ 1 la 20.000 (Shang 2007).

Exista strategii diferite pentru screeningul donatorilor. Majoritatea tarilor folosesc pentru screening AgHBs. Altele tari, cum ar fi SUA, recomanda pentru screening atat AgHBs, cat si Ac antiHBc. De rutina, screeningul pentru determinarea Ac anti HBc ramane controversat, deoarece specificitatea este scazuta, iar pacientii vindecati dupa o hepatita B vor fi exclusi. Screeningul pool-urilor de probe sau chiar a probelor individuale, poate fi perfectionat prin folosirea tehnicilor de detectie a acizilor nucleici virali. Totusi aceasta este o problema de dezbatut, din cauza reducerii relativ scazute a riscului, si a costurilor aferente.

Infectia nosocomiala

Infectia nosocomiala poate fi transmisa de la pacient la pacient, de la pacient la personalul sanitar si viceversa. VHB este considerat virusul cu cel mai frecvent transmis parenteral in mediul spitalicesc.

In general, infectia nosocomiala cu virus hepatitic B poate fi, si trebuie prevenita. Cu toate ca s-au implementat strategiile de preventie, infectia nozocomiala apare si exista cazuri documentate (Williams 2004). Totusi, riscul precis de transmitere al infectiei este necunoscut. Numarul pacientilor infectati raportati in literatura ar putea sa fi subestimat fata de valoarea reala, deoarece multi pacienti infectati pot fi asimptomatici si doar o parte a pacientilor expusi sunt chemati pentru retestare.

Strategiile pentru controlul transmiterii infectiei nozocomiale cu virus hepatitic B sunt: utilizarea acelor si echipamentelor de unica folosinta, sterilizarea instrumentarului chirurgical, masurile de control al infectiei si vaccinarea personalului care lucreaza in domeniul sanitar.

Datorita implementarii programelor de vaccinare a personalului sanitar, incidenta infectiei cu virus hepatitic B in randul acestora este mai mica comparativ cu populatia generala. (Duseja 2002; Mahoney 1997). De aceea, transmiterea de la personalul sanitar la pacienti este rara, in timp ce transmiterea inversa, de la pacientii cu infectie VHB la personalul din domeniul sanitar pare a fi mai mare.

Personelor din domeniul sanitar infectate cu virus hepatitic B nu le este de obicei interzisa exercitarea profesiei. Totusi, situatia ar trebuie sa fie evaluata in mod individual pentru a se lua masurile necesare. In mod normal, personalul sanitar care prezinta AgHB_e negativ este considerat neinfectant, iar cei la care acest antigen este pozitiv ar trebui sa respecte anumite masuri de protectie: sa poarte doua perechi de manusi si sa nu execute anumite activitati medicale, stabilite in mod individual. Totusi au fost raportate cazuri de transmitere a infectiei de la chirurgi cu AgHBs pozitiv si AgHB_e negativ - la pacienti. (Teams 1997). Virusul hepatitic B poate

prezenta o mutatie in regiunea precore, ce impiedica expresia AgHBe in ciuda replicarii active a virusului. De acest motiv in unele unitati s-a introdus testarea ADN-VHB, cu toate ca rezultatele pot fi neconcludente datorita nivelului fluctuant al incarcaturii virale. In majoritatea tarilor dezvoltate exista recomandari pentru personalul sanitar infectat care trebuie consultate.

Transplantul de organe

Transmiterea infectiei cu virus hepatitic B a fost raportata dupa transplantul altor organe decat ficatul (de ex. rinichi, cornee) de la donatori cu AgHBs pozitiv (Dickson 1997). De aceea, donatorii de organe sunt testati de rutina pentru prezenta AgHBs. Rolul testarii Ac antiHBc este controversat, ca si in cazul donatorilor de sange, datorita posibilitatii aparitiei de rezultate fals pozitive, cu o pierdere a mai mult de 5% din donatori chiar si in zonele cu endemicitate scazuta si nesiguranta in privinta gradului de infectivitate organelor, in special a celor extrahepatice de la donatorii cu antiHBc prezenti ca singur marker (De Feo 2005). Exista un risc mai mare de transmitere a infectiei VHB pentru pacientii care primesc organe provenite de la astfel de donatori, comparativ cu cei care primesc organe de la donatori cu acest marker viral negativ.

Profilaxia postexpunere

In cazul expunerii la infectia cu virusul hepatitic B, in oricare din circumstantele mentionate mai sus, profilaxia postexpunere este indicata la toate persoanele nevaccinate. Imunizarea activ-pasiva este recomandata. Prima doza de vaccin anti HB ar trebui administrata cat mai rapid posibil in vederea realizarii unei profilaxii eficiente – cel mai tarziu la 12 ore dupa contactul posibil infectant. O doza de imunoglobulina specifica anti VHB ar trebui administrata concomitent, daca se stie ca sursa infectanta prezinta AgHBs pozitiv. Celelalte doua doze ale vaccinului se vor administra conform programului de vaccinare.

Persoanele vaccinate cu raspuns postvaccinare documentat, nu necesita profilaxie postexpunere. Persoanelor netestate postvaccinare trebuie sa li se determine titrul Ac antiHBs cat mai repede posibil. Daca aceasta nu este posibil sau titrul Ac antiHBs este prea mic ($<100\text{IE/l}$), se impune o noua vaccinare.

Persoanelor care nu dezvoltă anticorpi postvaccinare li se vor administra doua doze de imunoglobuline la interval de o luna.

Istoria naturala si manifestari clinice

Tabloul clinic al infectiei VHB difera in cele doua faze: acuta si cronica. In timpul fazei acute tabloul clinic evolueaza de la forma subclinica sau anicterica la hepatita icterica si, in anumite situatii, la hepatita fulminanta. In timpul fazei cronice, se trece de la stadiul de purtator asimptomatic la hepatita cronica, ciroza si carcinom hepatocelular. Manifestarile extrahepatice pot apare atat in faza acuta cat si in cea cronica a infectiei.

Hepatita B acuta

Dupa transmiterea virusului hepatitic B, urmeaza perioada de incubatie de 1-4 luni. O etapa prodromala poate sa apara inainte de faza acuta a bolii, in care se poate dezvolta un sindrom asemanator bolii serului, cu urmatoarele manifestari clinice: febra, eruptie cutanata, artralgie si artrita. Aceste simptome se remit, de obicei, o data cu instalarea hepatitei acute. Cel putin 70% dintre pacienti vor dezvolta hepatita anicterica sau o forma subclinica, in timp ce mai putin de 30% vor avea hepatita icterica. Simptomele evidente in hepatita acuta sunt: disconfort in hipocondrul drept, greata, icter si alte manifestari clinice nespecifice. In cazul coinfectiei cu alte virusuri hepatotrope sau a bolilor hepatice asociate, evolutia clinica a hepatitei acute poate fi mai severa. Icterul se remite in general, dupa 1-3 luni, dar o parte dintre pacienti pot prezenta o stare de oboseala prelungita, chiar si dupa normalizarea transaminazelor.

Valoarea transaminazelor poate ajunge in faza acuta a bolii la 1000-2000UI/L, cu nivelul ALT de obicei mai mare decat AST. Concentratia bilirubinei serice se mentine in limite normale la o proportie semnificativa dintre pacienti. La pacientii vindecati, transaminazele se normalizeaza in decurs de 1-4 luni. Un nivel ridicat al ALT mai mult de 6 luni indica evolutia spre hepatita cronica.

Rata progresiei de la forma acuta la cea cronica depinde in primul rand de varsta la momentul infectarii (Ganem 2004; McMahon 1985). La adulti infectia se cronicizeaza in maxim 5% dintre cazuri, in timp ce infectarea la varste mici se insoteste de o rata de cronicizare mai mare, fiind de 90% in cazul transmiterii perinatale si de 20-50% daca infectarea se produce intre 1-5 ani.

Pana de curand se presupunea ca pacientii care vindeca hepatita acuta elimina virusul din organism. Totusi, in prezent exista dovezi ale persistentei indelungate a acidului nucleic viral chiar la pacienti cu anti HBs si antiHBc pozitivi, iar aceasta infectie latentă stimuleaza limfocitele T care vor tine virusul sub control (Yotsuyanagi 1998). Eliminarea totala a virusului survine rar si imunosupresia poate determina reactivarea virusului (de ex. dupa transplantul de organ sau chimioterapie).

Insuficienta hepatica fulminanta este neobisnuita, survenind la aproximativ 0,1-0,5% din cazuri, cauzele si factorii de risc fiind inca insuficient intelesi (Garfein 2004). Poate exista o corelatie cu abuzul de substante hepatotoxice sau coinfectia cu alte virusuri. Insuficienta hepatica fulminanta pare a fi cauzata de citoliza masiva imun-mediata a hepatocitelor infectate. Acesta este motivul pentru care multi pacienti cu hepatita fulminanta nu au, la prezentare, semne de replicare ale virusului hepatitic B.

Tratamentul antiviral in faza acuta a infectiei nu este de regula recomandat. (Cornberg 2007). La adulti, probabilitatea evolutiei spre hepatita fulminanta este mai mica de 1%, iar a progresiei spre hepatita cronica este mai mica de 5%. De aceea la majoritatea pacientilor tratamentul hepatitei acute este mai degrabă un suportiv. Tratamentul antiviral poate fi luat in considerare a anumite categorii de pacienti, cum sunt de exemplu: pacientii cu o evolutie indelungata si severa a hepatitei, pacientii coinfectati cu alte virusuri hepatice sau care au afectiuni hepatice asociate, pacienti imunosupresati sau cei cu hepatita fulminanta dupa transplant

hepatic (Kondili 2004; Tillmann 2006). In plus, toti contactii unui pacient cu hepatita acuta B trebuie testati in vederea detectiei markerilor de infectie.

Hepatita B cronica

Rata de cronicizare in hepatita cu VHB este de aproximativ 5% sau mai putin atunci cand infectia este dobandita de adulti, dupa cum s-a mentionat anterior. In infectia dobandita perinatal cronicizarea este de aproximativ 90%, si de 20-50% la varste intre 1 si 5 ani (Ganem 2004; McMahon 1985). Totusi, majoritatea acestor pacienti nu au prezentat istoric de hepatita acuta virala.

Cei mai multi pacienti cu hepatita cronica B sunt asimptomatici. O parte pot prezenta simptomatologie nespecifica, precum fatigabilitate. In cele mai multe cazuri, simptome semnificative din punct de vedere clinic se instaleaza abia atunci cand afectarea hepatica a progresat catre stadiul de ciroza decompensata. In plus si manifestarile extrahepatice pot produce manifestari clinice.

In consecinta, examenul fizic este normal in majoritatea cazurilor. In stadiile avansate ale afectarii hepatice exista semne de boala cronica hepatica precum splenomegalie, stelute vasculare, "cap de meduza" (circulatie colaterala abdominala), eritroza palmara, atrofie testiculara, ginecomastie, etc. La pacientii cu ciroza decompensata pot fi prezente icterul, ascita, edemele periferice si encefalopatia hepatica.

Investigatiile de laborator evidentiaza cresteri usoare sau moderate ale AST si ALT serice la majoritatea pacientilor, rar intalnindu-se valori normale ale transaminazelor. In puseele citolitice, concentratia serica a ALT poate sa creasca de pana la 50 de ori normalul. Valorile alfa fetoproteinei sunt corelate cu gradul de activitate a bolii. In momentele de exacerbare a hepatitei B se pot atinge concentratii de pana la 1000 ng/ml.

Evolutia naturala a infectiei cronice cu VHB este determinata de relatia dintre replicarea virala si raspunsul imun al gazdei. Alti factori care pot avea un rol in progresia infectiei hepatice cu VHB sunt sexul pacientului, consumul de alcool si infectia concomitenta cu alte virusuri hepatice. Prognosticul infectiei cronice cu VHB depinde de stadiul afectarii hepatice la momentul incetarii replicarii virale. Fibroza hepatica este potential reversibila odata ce replicarea VHB este sub control.

Exista 2 stadii diferite care se observa in infectia cronica cu VHB: prima faza inalt replicativa, cu boala hepatica activa si valori crescute ale ALT serica, ADN VHB si AgHBe prezente; a doua faza este cu replicare virala scazuta sau absenta, in care ALT seric poate fi normal, AgHBe absent si Ac anti Hbe prezenti. La unii pacienti, replicarea virala este oprita complet, dupa cum demonstreaza testele de determinare a incarcaturii virale, desi raman cu AgHBs pozitiv. Acesti pacienti au ADN VHB nedetectabil in ser si concentratii normale de ALT, nu prezinta semne de afectare hepatica sau inflamatie evolutiva la biopsia hepatica, corespunzand starii de purtator inactiv.

Un mic procent din pacienti continua sa prezinte nivele moderate ale replicarii VHB si boala hepatica activa (cresterea ALT seric si inflamatie cronica la biopsia hepatica), dar raman AgHBe negativ. Acesti pacienti cu hepatita cronica AgHBe negativ pot avea tulpini virale salbatice sau variante ale VHB care nu pot produce AgHBe, variante "core promoter" sau "precore".

Prima faza, inalt replicativa, poate trece in faza non-replicativa spontan, sau sub tratament antiviral. Invers, faza non-replicativa se poate reactiva in faza inalt replicativa, de asemenea, spontan sau in caz de imunosupresie (de ex. in infectia HIV sau chimioterapie).

Infectia cu VHB dobandita perinatal are 3 stadii diferite: o faza de toleranta imuna, o faza de clearance imun si o faza tarzie non-replicativa.

Faza de toleranta imuna, care in mod obisnuit dureaza 10-30 de ani, este caracterizata prin nivele inalte ale replicarii VHB, manifestata prin prezenta AgHBe si a unor valori inalte ale ADN VHB in ser. Cu toate acestea, nu exista dovezi ale unei boli hepatice active avand concentratiile ALT seric fiind in limite normale, iar la biopsia hepatica observandu-se modificari minime. Se considera ca aceasta lipsa a afectarii hepatice in conditiile unei replicari virale inalte este consecinta tolerantei imune la VHB, (Dienstag 2008), desi mecanismul este putin cunoscut. Acest fenomen de toleranta imuna se presupune a fi principalul motiv al raspunsului scazut la terapia cu interferon in cazul pacientilor cu AgHBe pozitiv si niveluri normale ale ALT. Pe perioada acestei faze exista o rata foarte scazuta a clearance-ului spontan al AgHBe. Se estimeaza ca rata clearance-ului spontan al AgHBe este de numai 15% dupa 20 de ani de infectie.

Pe perioada celei de a doua si a treia decade faza de toleranta imuna poate trece in faza de clearance imun. Rata clearance-ului spontan al AgHBe este in crestere: de la 10 la 20% anual. Daca apare seroconversia AgHBe, foarte frecvent se observa exacerbari ale hepatitei cu o crestere abrupta a ALT seric. Acesta exacerbare urmeaza unei cresteri a ADN VHB si poate fi consecinta unei cresteri bruste a citolizei mediate imun a hepatocitelor infectate. De cele mai multe ori nu exista manifestari clinice pe perioada exacerbarii, iar cresterea ALT seric este detectata numai la o examinare de rutina. Unii pacienti pot dezvolta simptomatologie care mimeaza o hepatita acuta. Titrul de anticorpi antiHBc IgM poate creste, la fel si valorile alfa-fetoproteinei. Daca acesti pacienti nu sunt cunoscuti ca fiind infectati cu VHB, se poate pune diagnosticul gresit de hepatita acuta B. Seroconversia AgHBe si clearance-ul ADN VHB din ser nu se produc intotdeauna dupa exacerbare. La acesti pacienti pot apare exacerbari repetate cu disparitia intermitenta a ADN VHB din ser, cu sau fara disparitia AgHBe. Faza nonreplicativa este frecvent caracterizata de absenta ADN VHB si normalizarea ALT seric, la fel ca la adultul cu hepatita cronica B.

Foarte putini pacienti cu infectie cronica VHB devin AgHBs negativi in cursul natural al infectiei. Rata anuala a clearance-lui AgHBs este estimata la mai putin de 2% la pacientii din vest si chiar mai mica (0,1-0,8%) la pacientii de origine asiatica (Liaw 1991). Daca dispare AgHBs, prognosticul este considerat favorabil. In orice caz, clearance-ul AgHBs nu exclude evolutia catre ciroza sau carcinom hepatocelular la unii pacienti, desi rata exacta a acestor complicatii nu este cunoscuta. Acest fenomen este presupus a fi legat de faptul ca ADN VHB poate fi inca prezent in hepatocite, in ciuda disparitiei AgHBs.

Prognostic

Asemenea evolutiei clinice variate a pacientilor, exista si o larga variatie a prognosticului in infectia cronica cu VHB. Rata mortalitatii asociata bolii hepatice

cronice este estimata a fi 40-50% pentru barbati si 15% pentru femei. Riscul de progresie a bolii pare a fi mai crescut daca are loc activare imuna.

Rata estimata de progresie la 5 ani (Fattovich 2008; Lok 2008):

- De la hepatita cronica la ciroza – 10-20%
- De la ciroza compensata la ciroza decompensata – 20-30%
- De la ciroza compensata la carcinom hepatocelular – 5-15%

In consecinta, rata de supravietuire este:

- Ciroza compensata – 85% la 5 ani
- Ciroza decompensata – 55-70% la un an si 15-35% la 5 ani

Exista cativa factori cunoscuti ce influenteaza supravietuirea:

- **Replicarea virala:** la pacientii cu semne de replicare virala (AgHBe pozitiv) rata de supravietuire este mai scazuta decat la pacientii care au AgHBe negativ. Cu toate acestea in ultimele decenii, infectiile nou achizitionate cu mutante precure - Ag HBe negative, sunt de departe predominante, ceea ce face sa existe la majoritatea pacientilor un pattern diferit al hepatitelor Ag HBe negative, ADN-VHB pozitiv cu fibroza progresiva si carcinom hepatocelular. In ultimii ani, nivelul ADN VHB a fost, de asemenea, corelat cu progresia bolii, inlocuind pozitivitatea Ag Hbe ca marker pentru activitatea bolii (Chen 2006). Acest lucru este adevarat atat pentru progresia spre ciroza, cat si pentru riscul de carcinom hepatocelular. Prin urmare, majoritatea ghidurilor actuale de tratament se bazeaza pe nivelul viremiei VHB. Un cut-off rezonabil pentru a diferentia pacientii cu risc scazut de progresie, de pacientii cu risc crescut si cu indicatie pentru tratament antiviral este 10^4 copii/ml (corespunzator cu aproximativ 2×10^3 UI/ml), desi exista si alte limite ce pot fi utilizate. Durata replicarii virale este evident corelata cu riscul dezvoltarii cirozei si carcinomului hepatocelular. Cum necroinflamatia poate persista mai mult la pacientii cu faza replicativa prelungita, si riscul de progresie a bolii este crescut. In schimb, chiar si la pacientii cu ciroza decompensata, supresia replicarii VHB si clearance-ul AgHBs, poate duce la ameliorarea bolii hepatice (Fung 2008).
- **Alcoolismul:** infectia cu VHB la alcoolici este asociata cu o progresie rapida a leziunilor hepatice si cu un risc crescut de evolutie spre ciroza si carcinom hepatocelular (Bedogni 2008; Marcellin 2008). Supravietuirea este redusa comparativ cu alcoolicii fara infectie cu VHB. Cu toate acestea nu exista o dovada clara ca alcoolicii au un risc mai mare de infectie cronica cu VHB, desi prevalenta VHB este estimata a fi de 4 ori mai mare decat normalul (Laskus 1992) cu variatii regionale si de cohorta (Rosman 1996).

- **Coinfectia cu VHC:** in cazul coinfectiei VHC si VHB, de obicei virusul hapatitic C predomina, aceasta putand conduce la niveluri mai scazute ale transaminazelor si ale ADN VHB (Jardi 2001). Desi rata seroconversiei AgHBs pare sa fie crescuta, acest lucru ar putea fi consecinta lipsei markerilor virali pentru infectia cu VHB la o treime din pacientii coinfectati cu VHC, chiar daca ADN VHB este detectabil. In ciuda valorilor scazute ale transaminazelor si a ADN VHB, afectarea hepatica este mai severa in cele mai multe cazuri. Riscul de hepatita severa sau insuficienta hepatica fulminanta pare a fi crescut daca ambele infectii au loc simultan, fara deosebire daca este o coinfectie acuta cu VHB si VHC, sau o hepatita acuta C suprapusa peste o hepatita cronica B (Liw 2004).
- **Coinfectia cu VHD:** coinfectia acuta VHB si VHD tinde sa fie mult mai severa decat hepatita acuta VHB singura, fiind mult mai probabil sa se instaleze o hepatita fulminanta. Daca apare suprainfectia cu VHD la pacientii cu infectie cronica cu VHB, de obicei VHD este predominant, replicarea VHB fiind supresata (Jardi 2001) dar severitatea afectarii hepatice este inalta si progresia catre ciroza este accelerata (Fattovich 2000).

Evolutia individuala a pacientilor cu hepatita B este dificil de anticipat datorita multitudinii de factori ce influenteaza progresia bolii. Au fost evaluate pana acum cateva modele predictive pentru evolutia bolii, care includ parametrii clinici (de ex. decompensarea hepatica) si de laborator (de ex. bilirubina, INR), dar in prezent nici unul din aceste modele nu este utilizat de rutina in practica clinica. La pacientii cu ciroza sunt utilizate scorul MELD (Model for End-Stage Liver Disease) si scorul CHILD-Pugh (vezi capitolul 3).

Manifestari extrahepatice

Cele doua complicatii majore ale infectiei cronice VHB sunt poliarterita nodoasa si afectarea renala, care pot aparea la 10-20% dintre pacientii cu hepatita cronica B si se presupune ca sunt mediate de complexe imune circulante (Han 2004).

- **Poliarterita nodoasa:** manifestarile clinice sunt similare cu ale pacientilor cu poliarterita VHB negativi, insa pot aparea beneficii clinice in urma terapiei antivirale.
- **Nefropatia/Glomerulonefrita:** VHB poate induce nefropatie si, mai rar, glomerulonefrita membranoproliferativa, majoritatea cazurilor aparand la copii. Manifestarea clinica de electie este proteinuria; spre deosebire de poliarterita nodoasa, nu s-au observat beneficii ale tratamentului antiviral.

Pentru mai multe detalii legate de manifestarile extrahepatice consultati capitolul 16.

Referinte

- Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, et al. Natural course of chronic HCV and HBV infection and role of alcohol in the general population: the Dionysos Study. *Am J Gastroenterol* 2008;103(9):2248.
- Belongia EA, Costa J, Gareen IF, et al. NIH Consensus Development Statement on Management of Hepatitis B: Draft. *NIH Consens State Sci Statements* 2008;25(2).
- Burk RD, Hwang LY, Ho GY, Shafritz DA, Beasley RP. Outcome of perinatal hepatitis B virus exposure is dependent on maternal virus load. *J Infect Dis* 1994;170(6):1418.
- Cornberg M, Protzer U, Dollinger MM, et al. Prophylaxis, diagnosis and therapy of hepatitis B virus (HBV) infection: the German guidelines for the management of HBV infection. *Z Gastroenterol* 2007;45(12):1281.
- Chen CJ, Yang HI, Su J, et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *Jama* 2006;295(1):65.
- Dickson RC, Everhart JE, Lake JR, et al. Transmission of hepatitis B by transplantation of livers from donors positive for antibody to hepatitis B core antigen. The National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Liver Transplantation Database. *Gastroenterology* 1997;113(5):1668.
- Dienstag JL. Hepatitis B virus infection. *N Engl J Med* 2008;359(14):1486.
- Dodd RY. Current viral risks of blood and blood products. *Ann Med* 2000;32(7):469.
- Duseja A, Arora L, Masih B, et al. Hepatitis B and C virus--prevalence and prevention in health care workers. *Trop Gastroenterol* 2002;23(3):125.
- Fattovich G, Bortolotti F, Donato F. Natural history of chronic hepatitis B: special emphasis on disease progression and prognostic factors. *J Hepatol* 2008;48(2):335.
- Fung J, Lai CL, Yuen MF. New paradigms for the treatment of chronic hepatitis B. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23(8 Pt 1):1182.
- Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection--natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004;350(11):1118.
- Garfein RS, Bower WA, Loney CM, et al. Factors associated with fulminant liver failure during an outbreak among injection drug users with acute hepatitis B. *Hepatology* 2004;40(4):865.
- Goldstein ST, Zhou F, Hadler SC, Bell BP, Mast EE, Margolis HS. A mathematical model to estimate global hepatitis B disease burden and vaccination impact. *Int J Epidemiol* 2005;34(6):1329.
- Gomaa AI, Khan SA, Toledano MB, Waked I, Taylor-Robinson SD. Hepatocellular carcinoma: epidemiology, risk factors and pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2008;14(27):4300.
- Han SH. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis B. *Clin Liver Dis* 2004;8(2):403.
- Hill JB, Sheffield JS, Kim MJ, Alexander JM, Sercely B, Wendel GD. Risk of hepatitis B transmission in breast-fed infants of chronic hepatitis B carriers. *Obstet Gynecol* 2002;99(6):1049.
- Jardi R, Rodriguez F, Buti M, et al. Role of hepatitis B, C, and D viruses in dual and triple infection: influence of viral genotypes and hepatitis B precore and basal core promoter mutations on viral replicative interference. *Hepatology* 2001;34(2):404.
- Kondili LA, Osman H, Mutimer D. The use of lamivudine for patients with acute hepatitis B (a series of cases). *J Viral Hepat* 2004;11(5):427.
- Laskus T, Radkowski M, Lupa E, Horban A, Cianciara J, Slusarczyk J. Prevalence of markers of hepatitis viruses in out-patient alcoholics. *J Hepatol* 1992;15(1-2):174.

- Lok ASF. Clinical manifestations and natural history of hepatitis B virus infection. UpToDate, 2008. (Accessed October 23, 2008, at <http://www.uptodateonline.com>.)
- Li XM, Shi MF, Yang YB, et al. Effect of hepatitis B immunoglobulin on interruption of HBV intrauterine infection. *World J Gastroenterol* 2004;10(21):3215.
- Liaw YF, Sheen IS, Chen TJ, Chu CM, Pao CC. Incidence, determinants and significance of delayed clearance of serum HBsAg in chronic hepatitis B virus infection: a prospective study. *Hepatology* 1991;13(4):627.
- Liaw YF, Chen YC, Sheen IS, Chien RN, Yeh CT, Chu CM. Impact of acute hepatitis C virus superinfection in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 2004;126(4):1024.
- Mahoney FJ, Stewart K, Hu H, Coleman P, Alter MJ. Progress toward the elimination of hepatitis B virus transmission among health care workers in the United States. *Arch Intern Med* 1997;157(22):2601.
- Marcellin P, Pequignot F, Delarocque-Astagneau E, et al. Mortality related to chronic hepatitis B and chronic hepatitis C in France: evidence for the role of HIV coinfection and alcohol consumption. *J Hepatol* 2008;48(2):200.
- McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, et al. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis* 1985;151(4):599.
- Poethko-Muller C, Kuhnert R, Schlaud M. [Vaccination coverage and predictors for vaccination level. Results of the German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents (KiGGS)]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz* 2007;50(5-6):851.
- Polizzotto MN, Wood EM, Ingham H, Keller AJ. Reducing the risk of transfusion-transmissible viral infection through blood donor selection: the Australian experience 2000 through 2006. *Transfusion* 2008;48(1):55.
- Rantala M, van de Laar MJ. Surveillance and epidemiology of hepatitis B and C in Europe - a review. *Euro Surveill* 2008;13(21).
- Anonymous. Hepatitis C: RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten. *Epidemiologisches Bulletin* 2004;17:141.
- Rosman AS, Waraich A, Galvin K, Casiano J, Paronetto F, Lieber CS. Alcoholism is associated with hepatitis C but not hepatitis B in an urban population. *Am J Gastroenterol* 1996;91(3):498.
- Shang G, Seed CR, Wang F, Nie D, Farrugia A. Residual risk of transfusion-transmitted viral infections in Shenzhen, China, 2001 through 2004. *Transfusion* 2007;47(3):529.
- Stevens CE, Beasley RP, Tsui J, Lee WC. Vertical transmission of hepatitis B antigen in Taiwan. *N Engl J Med* 1975;292(15):771.
- Teams TII. Transmission of hepatitis B to patients from four infected surgeons without hepatitis B e antigen. The Incident Investigation Teams and others. *N Engl J Med* 1997;336(3):178.
- Tillmann HL, Hadem J, Leifeld L, et al. Safety and efficacy of lamivudine in patients with severe acute or fulminant hepatitis B, a multicenter experience. *J Viral Hepat* 2006;13(4):256.
- Wasley A, Grytdal S, Gallagher K. Surveillance for acute viral hepatitis--United States, 2006. *MMWR Surveill Summ* 2008;57(2):1.
- Williams IT, Perz JF, Bell BP. Viral hepatitis transmission in ambulatory health care settings. *Clin Infect Dis* 2004;38(11):1592.
- Yotsuyanagi H, Yasuda K, Iino S, et al. Persistent viremia after recovery from self-limited acute hepatitis B. *Hepatology* 1998;27(5):1377.

Capitolul 3: Hepatita C - Epidemiologie, transmitere si istorie naturala

Jan-Christian Wasmuth

Epidemiologie

Hepatita C este o boala cu un impact global semnificativ. Datele Organizatiei Mondiale a Sanatatii arata ca 170 de milioane de persoane sunt infectate cu virusul hepatitic C (VHC), reprezentand 3% din populatia totala a globului. Exista diferente considerabile intre regiuni. In unele tari , ca de exemplu Egipt, prevalenta este de 20%; in Africa si in Pacificul de Vest prevalenta este semnificativ mai mare decat in America de Nord si Europa (Anonymous 2004).

Se estimeaza ca in Europa exista 2-5 milioane de persoane VHC-pozitive. Prevalenta anticorpilor anti-VHC la donorii de sange, sanatosi din alte puncte de vedere, este de aproximativ 1,6% in Statele Unite, 1,15% in Italia, 0,4% in Germania si 0,23% in Scandinavia (Anonymous 2004). Numarul pacientilor ARN VHC pozitivi se estimeaza a fi in jur de 80-90% din totalul persoanelor anti-VHC pozitive. Anumite grupuri sunt mai frecvent afectate: cel mai important factor de risc in majoritatea cazurilor este utilizarea drogurilor injectabile. De asemenea, prezinta risc pacientii aflati sub hemodializa si persoanele care au primit transfuzii de sange inainte de anul 1991. In Europa si in Statele Unite, hepatita cronica C este cea mai comuna boala hepatica cronica si principala cauza de transplant hepatic.

Numarul noilor infectii cu VHC este dificil de determinat, deoarece majoritatea cazurilor acute nu se manifesta clinic. Mai putin de 25% din cazurile acute de hepatita C sunt clinic evidente. In plus, in majoritatea cazurilor, nu este posibil sa fie determinata durata infectiei pana in momentul diagnosticului. Cu toate acestea, numarul noilor infectii a scazut considerabil in ultimele decenii. Pentru Statele Unite se estimeaza ca numarul noilor cazuri de infectie acuta cu VHC a scazut de la aproximativ 230.000 pe an in 1980 la aproximativ 20.000 de cazuri pe an in prezent (Wasley 2008). Aceasta scadere este asociata in primul rand cu reducerea infectiilor la utilizatorii de droguri intravenos, o posibila consecinta a schimbarilor in practicile de injectare. Aceste schimbari sunt motivate de componente educationale legate de modul de transmitere al virusului imunodeficientei umane (HIV). Numarul de cazuri de hepatita C post-transfuzionala a scazut aproape la zero.

Transmitere

Expunerea parenterala este cea mai eficienta cale de transmitere a VHC. Prin urmare, majoritatea pacientilor din Europa si Statele Unite infectati cu VHC au dobandit boala prin utilizarea drogurilor intravenos sau prin transfuzii de sange. Transmiterea VHC prin transfuzii a devenit rara de cand s-a introdus, la inceputul anilor '90, testarea de rutina a rezervelor de sange pentru VHC. In anumite regiuni ale globului, alte tipuri de expunere parenterala sunt importante.

La donatorii de sange anti-VHC pozitivi au fost identificate urmatoarele cai posibile de infectare (in ordinea descrescatoare a riscului de transmitere):

- Utilizarea drogurilor intravenos
- Transfuziile de sange
- Contact sexual cu un utilizator de droguri intravenos
- Detentie pe o perioada mai lunga de 3 zile
- Scarificare religioasa
- Lovirea sau taierea cu un obiect contaminat cu sange
- Piercing la nivelul urechii sau altor parti ale corpului
- Injectiile cu imunoglobuline

Frecvent insa, la pacientii nou diagnosticati cu infectie VHC nu se poate identifica un factor de risc clar.

Utilizarea drogurilor injectabile

Utilizarea drogurilor injectabile a fost cea mai frecvent identificata sursa de infectie cu VHC. S-a estimat ca majoritatea infectiilor nou dobandite apar la indivizii care si-au injectat ilegal droguri. Seroprevalenta anticorpilor anti-VHC in grupul utilizatorilor de droguri injectabile poate fi pana la 70%, cu variatii considerabile ce depind de factori ca regiune, comportament de risc, status socio-economic si altele, subliniind eficienta transmiterii prin contact direct cu sange contaminat (Sutton 2008). Infectia cu VHC a fost de asemenea asociata cu antecedente de utilizare intranazala a cocainei, datorata probabil prezentei sangelui pe dispozitivele de prizare.

Transfuzia de sange

In trecut, transfuziile de sange sau derivatele de sange prezentau un risc major pentru transmiterea VHC. In unele cohorte istorice, 10% sau mai mult dintre pacientii care au primit transfuzii de sange au fost infectati cu hepatita C (Alter 1989). Totusi, screening-ul donatorilor de sange pentru VHC, introdus la inceputul anilor '90, aproape a eliminat aceasta cale de transmitere. Donatorii de sange sunt testati pentru anticorpii anti-VHC si ARN VHC – cel putin in tarile dezvoltate. Riscul este estimat astazi a fi intre 1:500.000 si 1:1.000.000 unitati de sange transfuzat (Pomper 2003).

In trecut, in cohortele cu pacienti politransfuzati, ca de exemplu hemofilicii, peste 90% dintre acestia erau infectati cu VHC (Francois 1993). De cand se utilizeaza de rutina inactivarea virusurilor (ex.: inactivare prin incalzire sau pasteurizare) sau factorii de coagulare recombinanti, noile cazuri de hepatita C au devenit mai putin frecvente la acesti pacienti.

Transplantul de organ

Recipientii de transplant care au primit organe de la donatori VHC-pozitivi prezinta un risc inalt de achizitionare a infectiei cu VHC. Ratele transmiterii variaza de la 30 la 80%, in functie de totalul de pacienti studiati (Pereira 1991; Roth 1994). De aceea, s-au dezvoltat strategii pentru testarea si utilizarea selectiva a organelor provenite de la donatori anti-VHC pozitivi.

Contactul sexual sau intra-familial

Contactul intra-familial obisnuit nu implica un risc de transmitere a virusului hepatitic C.

Cu toate ca, nu exista nici o indoiala ca transmiterea sexuala a hepatitei C este posibila, eficienta transmiterii VHC prin contact sexual este foarte scazuta.

Riscul exact al transmiterii VHC in cadrul relatiilor heterosexuale monogame a fost dificil de determinat. Se pare ca riscul in cazul relatiilor pe termen lung este foarte scazut. In cohorte prospective de cupluri heterosexuale, monogame, riscul de transmitere pe termen lung a fost de 0,01 sau mai mic (Vandelli 2004). Factorii care pot creste riscul infectiei cu VHC includ: numar mare de parteneri sexuali, antecedente de boli cu transmitere sexuala, si esec in utilizarea prezervativului. Este neclar daca infectia HIV creste riscul transmiterii heterosexuale a VHC la un partener neinfestat. Este posibil ca transmiterea sa se datoreze altor factori de risc decat expunerea sexuala.

In mai multe orase din Europa si Statele Unite existenta unor focare de hepatita acuta C in grupul homosexualilor a atras atentia asupra transmiterii sexuale a virusului hepatitic C. Exista dovezi clare ca, nici o alta cale, in afara sexului neprotejat, nu are importanta pentru transmiterea VHC. Au fost identificati ca factori de risc: sexul anal neprotejat, fisting?, parteneri sexuali multipli intr-o perioada scurta de timp si existenta concomitenta a unei boli cu transmitere sexuala (Danta 2007). Se pare ca lezarea mucoasei este o conditie esentiala pentru transmiterea VHC. Conform acestor observatii, seroprevalenta VHC la MSM variaza de la 4 la 8%, fiind mai mare decat prevalenta VHC raportata pentru populatia generala a Europei.

Pacientii cu infectie VHC acuta sau cronica ar trebui sa fie informati despre probabilitatea transmiterii infectiei prin contact sexual, desi riscul este extrem de scazut in cazul relatiilor heterosexuale. Este posibil ca utilizarea prezervativului sa scada riscul transmiterii sexuale. Totusi, in majoritatea tarilor nu exista recomandari ferme pentru utilizarea barierei de precautie in cazul relatiilor sexuale monogame stabile. Riscul transmiterii la homosexuali este considerabil mai mare, astfel - coroborat cu riscul pentru alte boli cu transmitere sexuala- practicile sexuale protejate ar trebui sa fie recomandate in acest grup.

Transmiterea perinatale

Riscul de transmitere perinatale a virusului hepatitic C in cazul mamelor ARN VHC- pozitive este estimat a fi 5% sau mai mic (Ohto 1994). La mamele coinfectate cu HIV acest risc se coreleaza cu imunosupresia si poate ajunge pana la 20%. In prezent, nu exista recomandari specifice pentru preventia transmiterii perinatale. (Pembrey 2005). Operatia de cezariana nu pare sa reduca riscul de transmitere. Nu exista dovezi ca alaptatul la san prezinta un risc pentru infectarea copiilor nascuti de mame infectate cu VHC. Diagnosticul timpuriu al infectiei la nou-nascuti necesita testarea ARN VHC, intrucat anticorpilor anti-VHC sunt transferati pasiv de la mama.

Hemodializa

Pacientii care participa la programe de hemodializa cronica au un risc crescut de infectie cu VHC. Prevalenta anticorpilor VHC la astfel de pacienti atinge 15%, cu toate ca, prezinta o scadere in ultimii ani (Fissell 2004). Factorii de risc pentru infectia cu VHC la pacientii dializati sunt reprezentati de : transfuziile de sange, durata hemodializei, prevalenta infectiei cu VHC in unitatea de dializa si tipul dializei. Riscul intraspitalicesc este mai mare pentru hemodializa comparativ cu dializa peritoneala. Nu se cunoaste inca o strategie optima de prevenire a transmiterii VHC asociata cu hemodializa.

Alte cai rare de transmitere

O cale rara de transmitere percutana a virusului hepatitic C este reprezentata de utilizarea echipamentului contaminat in cursul procedurilor medicale, proceduri din cadrul medicinei traditionale (ex.: scarificare, punerea ventuzelor), tatuare si piercing (Haley 2001). Toate aceste cai prezinta potential de transmitere a VHC. Totusi, in majoritatea cazurilor nu este clar daca riscul se datoreaza procedurii in sine sau daca exista posibile contacte cu persoane VHC-pozitive. In plus, transmiterea prin aceste cai este atat de rara incat persoanele expuse nu prezinta un risc crescut pentru achizitionarea hepatitei C.

Leziuni produse de ace contaminate

Pentru personalul medical exista unele riscuri de transmitere a VHC dupa inteparea accidentala cu un instrument nesterilizat sau expunerea la alte obiecte ascutite. Incidenta seroconversiei dupa expunerea la o sursa VHC-pozitiva este in general estimata a fi mai mica de 2% (Anonymous 2001). Totusi, informatiile sunt divergente si pot fi intalnite valori variind de la 0 la 10% (Mitsui 1992). Expunerea la VHC fara existenta unei leziuni de continuitate la nivelul tegumentelor nu a fost asociata cu transmiterea VHC.

Manifestari clinice si istoria naturala a infectiei cu VHC

Spectrul manifestarilor clinice ale infectiei cu VHC este diferit in infectia acuta si cea cronica. Infectia acuta cu VHC este cel mai adesea asimptomatica si conduce la infectie cronica in aproximativ 80% din cazuri. Manifestarile bolii cronice variaza de la o forma asimptomatica la ciroza si carcinom hepatocelular. Infectia cu VHC are de obicei o progresie lenta. Astfel, la multi pacienti boala hepatica poate fi inaparenta clinic, daca infectia este dobandita mai tarziu in cursul vietii. Aproximativ 20-30% din indivizii infectati cronic dezvoltă ciroza dupa o perioada de 20-30 ani.

Hepatita acuta

Dupa transmiterea virusului hepatitic C exista o perioada variabila de incubare. Acidul nucleic viral poate fi detectat in sange (sau ficat) prin PCR la un interval de cateva zile pana la opt saptamani (Hoofnagle 1997). Nivelul transaminazelor serice

creste la 6-12 saptamani dupa expunere (limite 1-26 saptamani). Cresterea transferazelor variaza considerabil de la un individ la altul, dar tinde sa fie mai mare de 10-30 de ori decat limita superioara a normalului (de obicei in jur de 800 U/l). Anticorpii VHC pot fi detectati la aproximativ 8 saptamani dupa expunere, desi la unii pacienti poate dura mai multe luni pana la seroconversie.

Totusi, majoritatea pacientilor nou infectati vor fi asimptomatici si vor avea o evolutie clinica moderata sau inaparenta. Icterul, ca o trasatura clinica a hepatitei acute C va fi prezent la mai putin de 25% din pacientii infectati. De aceea, hepatita acuta C nu va fi observata la majoritatea pacientilor. Screening-ul periodic pentru infectie poate fi justificat la anumite grupuri de pacienti care prezinta un risc inalt de infectie (ex.: homosexuali activi cu infectie HIV).

Alte simptome care pot aparea sunt similare cu cele din alte forme de hepatita virala acuta, incluzand stare generala proasta, greata si durere la nivelul hipocondrului drept. La pacientii care experimenteaza asemenea simptome de hepatita acuta, boala dureaza de obicei 2-12 saptamani. Impreuna cu rezolutia clinica a simptomelor, nivelul transaminazelor se va normaliza la aproximativ 40% din pacienti. Disparitia ARN VHC, care indica vindecarea hepatitei C, se produce la mai putin de 20% din pacienti –in ciuda normalizarii transferazelor.

Insuficienta hepatica fulminanta datorata infectiei acute cu VHC este foarte rara; poate fi mai frecventa la pacientii cu hepatita B cronica (Chu 1999).

Hepatita cronica C

Riscul de infectie cronica cu virusul hepatitic C este mare. 80-100% din pacienti raman ARN VHC pozitivi dupa hepatita acuta C (Alter 1999). Cei mai multi dintre acestia vor avea enzime hepatice persistente ridicate in continuare monitorizate. Prin definitie, hepatita C este considerata cronica dupa o persistenta de mai mult de sase luni. Odata ce infectia cronica s-a instalat, exista o rata foarte scazuta de clearance spontan.

Nu este clar de ce infectia cu VHC se transforma in infectie cronica in majoritatea cazurilor. Diversitatea genetica a virusului si tendinta sa spre mutatii rapide pot permite virusului hepatitic C sa eludeze recunoasterea imuna. Factorii ce tin de gazda pot fi de asemenea implicati in capacitatea de a elimina spontan virusul. Factorii care au fost asociati cu clearance-ul reusit al VHC sunt: raspuns specific-VHC al celulelor CD4 T, titrurile mari de anticorpi neutralizanti impotriva proteinelor structurale VHC si prezenta unor alele specifice HLA-DRB1 si DQB1 (Lauer 2001). Infectia cu VHC dobandita in copilarie pare a fi asociata cu un risc mai scazut de infectie cronica, aproximativ 50-60% (Vogt 1999). In sfarsit, par a exista diferente etnice, cu un risc mai redus de cronicizare in anumite populatii.

Majoritatea pacientilor cu infectie cronica sunt asimptomatici sau prezinta doar simptome nespecifice usoare atata timp cat ciroza nu este prezenta (Lauer 2001; Merican 1993). Cel mai frecvent simptom este fatigabilitatea. Manifestari mai putin comune sunt greata, apatie, mialgii, artralgi si scaderea in greutate. Infectia cu VHC a fost de asemenea asociata cu un deficit cognitiv. Toate aceste simptome sunt nespecifice si nu reflecta activitatea bolii sau severitatea acesteia (Merican 1993). Foarte adesea simptomele pot fi cauzate de alte boli (ex.:depresie) si poate fi dificil de diferentiat intre diferitele boli. Fatigabilitatea, ca cel mai frecvent simptom,

poate fi prezenta si in multe alte situatii (inclusiv grupurile de control sanatoase din cadrul studiilor clinice). Hepatita C este rar o boala cu handicap.

Nivelul aminotransferazelor poate varia considerabil in cursul istoriei naturale a hepatitei cronice C. Majoritatea pacientilor au doar cresteri usoare ale transaminazelor. Pana la o treime din pacienti au valori serice normale ale ALT (Martinot-Peignoux 2001; Puoti 2002). In jur de 25% din pacienti au concentratia serica a ALT mai mare decat dublul valorii normale, dar de obicei mai mica decat 5 ori limita superioara a normalului. Cresterile de 10 ori peste limita superioara a normalului sunt rar observate.

Exista o corelatie redusa intre concentratiile aminotransferazelor si histologia hepatica. Chiar si pacientii cu valori serice normale ale ALT prezinta dovezi histologice de inflamatie cronica in majoritatea cazurilor (Mathurin 1998). La acesti pacienti nivelul lezarii hepatice este de obicei minim sau moderat. Prin urmare, normalizarea nivelului aminotransferazelor dupa terapia cu interferon nu reflecta neaparat imbunatatirea histologica.

Istoria naturala

Riscul dezvoltarii cirozei in decurs de 20 de ani este estimat a fi in jur de 10 pana la 20%, unele studii aratand un risc de pana la 50% (de Ledinghen 2007; Poynard 1997; Sangiovanni 2006; Wiese 2000). Datorita evolutiei indelungate a hepatitei C riscul exact este foarte dificil de determinat si exista rate divergente in functie de tipul studiului si populatie. De fapt, hepatita cronica C nu este neaparat progresiva la toti pacientii infectati. In mai multe cohorte, s-a aratat ca un numar substantial de pacienti (in jur de 30%) nu vor dezvolta ciroza pentru o lunga perioada de timp (cel putin 50 de ani) (Poynard 1997).

De aceea, studii pe perioade scurte de observatie nu arata o crestere a mortalitatii. Supravietuirea nu este in general afectata pana cand nu se dezvolta ciroza. Pe de alta parte, nu exista dubii ca pacientii cu hepatita cronica C prezinta un risc inalt de ciroza, decompensare si carcinom hepatocelular pe termen lung. De exemplu, intr-o cohorta de pacienti cu hepatita C post-transfuzionala urmariti mai mult de 20 ani dupa transfuzie, 23% au avut hepatita cronica activa, 51% ciroza si 5% carcinom hepatocelular (Tong 1995). Nu este pe deplin inteles de ce exista diferente mari in ceea ce priveste progresia bolii; trebuie luata in considerare influenta gazdei si a factorilor virali.

Ciroza si decompensarea hepatica

Complicatiile hepatitei C apar aproape exclusiv la pacientii ajunsi in stadiul de ciroza hepatica, dar si mortalitatea de cauze non-hepatice este crescuta la acesti pacienti. Totusi diagnosticul clinic de ciroza este relativ intarziat, mai ales datorita faptului ca pacientii sunt asimptomatici pana in momentul aparitiei decompensarii hepatice. Semnele clinice posibil asociate cirozei hepatice sunt hepatomegalia si/sau splenomegalia, iar ca semne paraclinice se asociaza de obicei bilirubina serica crescuta, hiperalbuminemia sau trombocitopenia. Alte manifestari clinice asociate frecvent bolilor cronice hepatice sunt angiomul stelar, semnul de circulatie colaterala in "cap de meduza", eritemul palmar, atrofia testiculara sau ginecomastia,

acestea aparand insa la mai putin de jumatate dintre pacienti, astfel ca nici unul nu este suficient pentru a stabili diagnosticul cert de ciroza hepatica.

Decompensarea hepatica se poate manifesta clinic sub mai multe forme, cea mai frecventa fiind cea cu ascita, urmata de sangerari din varice, encefalopatie si icter. Asa cum a fost mentionat anterior, decompensarea hepatica apare doar la pacientii cirofici, fara a fi insa obligatorie, riscul de decompensare fiind estimat la aproximativ 5% per an (Poynard 1997). Odata decompensarea hepatica instalata rata de supravietuire la 5 ani este aproximativ 50% (Planas 2004), singura alternativa terapeutica fiind transplantul hepatic.

Similar decompensarii hepatice, si carcinomul hepatocelular (HCC) in infectia VHC se dezvolta dupa trecerea prin stadiul de ciroza hepatica (spre deosebire de hepatita cronica B), riscul de HCC fiind estimat la mai putin de 3% per an odata ciroza instalata (Di Bisceglie 1997; Fattovich 1997). Totusi aparitia carcinomului hepatocelular are un impact semnificativ asupra ratei de supravietuire a pacientilor cu infectie cronica VHC (vezi capitolul 21).

Concentratia crescuta de alpha-fetoproteina serica (AFP) nu indica cert aparitia HCC deoarece crestere moderate ale acesteia pot fi prezente si in infectia cronica VHC (de ex. 10 - 100 ng/ml), totusi valori de peste 400 ng/ml sau cresterea in timp a valorii AFP sunt sugestive pentru HCC.

Progresia bolii

Hepatita cronica C poate avea evolutie individuala distincta, necunoscandu-se mecanismul exact prin care apare aceasta. Exista deja identificati anumiti factori sigur implicati in progresia bolii, dar numerosi alti factori ar putea fi incriminati.

- **Varsta si sexul pacientului:** varsta mai inaintata in momentul achizitiei infectiei (peste 40-55 ani) si sexul masculin se coreleaza cu o progresie mai rapida a bolii hepatice (Svrtlih 2007). Dimpotriva, la copii riscul evolutiv pare mai redus (Child 1964), de ex. studiul unei cohorte de copii infectati cu VHC a indicat faptul ca doar 1 din 37 de pacienti cu viremie prezenta au avut transaminaze serice crescute, si doar 3 din 17 pacienti (18%) la care a fost disponibil rezultatul biopsiei hepatice dupa 20 de ani prezentau semne histologice de boala hepatica evolutiva.
- **Originea etnica:** progresia bolii pare mai lenta si modificarile histologice mai putin severe la pacientii afro-americani (Sterling 2004).
- **Raspunsul imun celular specific antiVHC:** severitatea leziunilor hepatice este influentata de raspunsul imun celular indreptat impotriva antigenelor virale VHC. Raspunsul inflamator local este influentat de mecanisme reglatorii complexe, dependente probabil de determinanti genetici, cum ar fi expresia HLA (Hraber 2007), dar nu se cunoaste exact modul de implicare a acestora in progresia leziunilor hepatice.

- **Consumul de alcool:** consumul de alcool creste replicarea virala VHC, stimuleaza evolutia spre cronicizare a infectiei si accelereaza evolutia leziunilor hepatice (Gitto 2008), chiar si cantitati moderate de alcool parand a creste riscul aparitiei fibrozei hepatice. La alcoolicii la care se evidentiaza ciroza si insuficienta hepatica se detecteaza concomitent si o seroprevalenta crescuta de anticorpi anti-VHC. Consumul de alcool trebuie interzis pacientilor cu hepatita cronica C, neexistand o cantitate admisa, considerata nonhepatotoxica.
- **Consumul zilnic de marijuana:** folosirea zilnica a marijuanei a fost asociata cu evolutia mai rapida spre fibroza hepatica, datorata probabil stimularii receptorilor canabinoizi endogeni de la nivel hepatic.
- **Alti factori care apartin gazdei:** polimorfismul genetic al anumitor gene ar putea influenta rata de progresie spre fibroza (Jonsson 2008), de ex. fenotipul TGF B1 (transforming growth factor B1) este frecvent corelat cu stadiul fibrozei. In plus, pacientii cu steatoza moderata sau severa prezinta risc crescut de dezvoltare a fibrozei hepatice.
- **Coinfectiile:** progresia hepatitei C este accelerata evident la pacientii coinfectati HIV (vezi capitoul dedicat coinfectiilor). Hepatita acuta B aparuta la un pacient cu hepatita cronica C poate evolua mai sever, in timp ce hepatita cronica B se poate asocia cu o replicare virala VHC mai slaba in comparatie cu pacienti mono infectati VHC. Totusi, trebuie subliniat faptul ca leziunile hepatice sunt mai grave si progresia bolii hepatice este mai rapida in cazul coinfectiei VHC-VHB. Aproximativ o treime din acesti pacienti nu prezinta markeri uzuali de infectie VHB (de ex. AgHBs), dar prezinta acid nucleic ADN VHB detectabil.
- **Factorii de mediu:** sunt descrise anumite diferente geografice evidente in progresia bolii hepatice induse de infectia VHC (Lim 2008), de ex. in Japonia carcinomul hepatocelular este detectat mult mai frecvent decat in Statele Unite, fara a exista inca o explicatie clara a acestui fenomen.
- **Tratamentul cu corticosteroizi:** este bine statuat faptul ca steroizii cresc incarcatura virala ARN VHC, in timp ce efectul asupra transaminazelor serice este variabil, la majoritatea pacientilor acestea tinzand de fapt sa scada, existand insa si cazuri cu transaminaze si bilirubina serica crescute. Reducerea dozei de corticosteroizi aduce incarcatura virala la nivel baseline, dar consecintele unui tratament à la long cu corticosteroizi nu sunt inca bine precizate. Se considera insa ca un tratament pe termen scurt nu modifica semnificativ prognosticul de durata al hepatitei cronice C.

- **Factorii virali:** influenta factorilor virali in progresia bolii nu este inca bine precizata, desi este in studiu implicatia diferitelor genotipuri sau subtipuri VHC in evolutia spre fibroza. Este insa sigur faptul ca prezenta coinfectiilor cu mai multe genotipuri determina o evolutie mai grava decat infectia unica.

Prognosticul bolii in hepatita cronica C este dificil de apreciat datorita numerosilor factori ce influenteaza progresia leziunilor hepatice. La ora actuala biopsia hepatica este considerata factorul obiectiv de apreciere a evolutiei hepatitei cronice C (Gebo 2002) pe baza leziunilor necro-inflamatorii si a gradului fibrozei hepatice. Pacientii cu leziuni inflamatorii grave si necroza de tip bridging evolueaza intr-o majoritate covarsitoare spre ciroza hepatica in maxim 10 ani, in timp ce la pacientii cu leziuni inflamatorii usoare si fara fibroza, riscul anual de progresie spre ciroza este de aprox. 1%.

Au fost evaluate pana acum cateva modele predictive pentru evolutia bolii hepatice care includ parametrii clinici (de ex. decompensarea hepatica) si de laborator (de ex. bilirubina serica, INR – raport international normalizat al timpului de protrombina), dar pana in prezent nici unul din aceste modele nu este utilizat de rutina in practica clinica. La pacientii cu ciroza, pentru stadializare si prognosticul de scurta durata sunt utilizate scorul MELD (Model for End-Stage Liver Disease) si scorul CHILD-Pugh (tabelul 1) (vezi capitolul 22 si 23). Scorul MELD este folosit mai ales pentru estimarea severitatii leziunilor hepatice si a probabilitatii de supravietuire la pacientii in asteptarea transplantului hepatic, fiind calculat dupa urmatoarea formula: Scorul MELD = $10 \times ((0.957 \times \ln(\text{Creatinina})) + (0.378 \times \ln(\text{Bilirubina})) + (1.12 \times \ln(\text{INR}))) + 6.43$. Informatii suplimentare si modul de calcul se pot gasi pe site-ul UNOS - The United Network for Organ Sharing (<http://www.unos.org>).

Parametru	Punctaj		
	1	2	3
Ascita	Absenta	Usoara	Moderata
Bilirubina serica, mg/dl	<2	2-3	>3
Albumina serica, g/dl	>3.5	2.8-3.5	<2.8
Timp de protrombina			
Peste normal cu	<4	4-6	>6
(secunde)			
INR	<1.7	1.7-2.3	>2.3
Encefalopatie	Absenta	Grad 1-2	Grad 3-4

Tabel 1. Clasificarea Child-Pugh a severitatii bolii hepatice (Child 1964).

Un scor total 5-6 este incadrat in stadiul A (boala hepatica compensata); 7-9 reprezinta stadiul B (functie hepatica compromisa semnificativ); iar 10-15 este stadiul C (boala hepatica decompensata). Stadiile se coreleaza cu rata de supravietuire la 1 si respectiv, 2 ani: stadiul A –100 si respectiv, 85 %; stadiul B – 80 si respectiv, 60 %, iar in stadiul C - 45 si respectiv, 35%.

Manifestari extrahepatice

Aproximativ 30 - 40% dintre pacientii cu hepatita cronica C prezinta o gama extrem de variata de manifestari extrahepatice ale infectiei (Zignego 2008):

- Tulburari hematologice (crioglobulinemia mixta esentiala, limfoame)
- Boli autoimune (tiroidita autoimuna, autoanticorpi circulanti)
- Boli renale (glomerulonefrita membranoproliferativa)
- Afectiuni dermatologice (porphyria cutanea tarda, lichen plan)
- Diabet zaharat

Pentru detalii legate de manifestarile extrahepatice consultati capitolul 16.

Referinte

- Alter HJ, Purcell RH, Shih JW, et al. Detection of antibody to hepatitis C virus in prospectively followed transfusion recipients with acute and chronic non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 1989;321(22):1494.
- Alter MJ, Kruszon-Moran D, Nainan OV, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1988 through 1994. *N Engl J Med* 1999;341(8):556.
- Anonymous. Hepatitis C: RKI-Ratgeber Infektionskrankheiten. *Epidemiologisches Bulletin* 2004;17:141.
- Anonymous. Updated U.S. Public Health Service Guidelines for the Management of Occupational Exposures to HBV, HCV, and HIV and Recommendations for Postexposure Prophylaxis. *MMWR Recomm Rep* 2001;50(RR-11):1.
- Child CGI, Turcotte JG. Surgery and Portal Hypertension. In: Child CGI, ed. *The Liver and portal hypertension*. Philadelphia: WB Saunders; 1964:5.
- Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Fulminant hepatic failure in acute hepatitis C: increased risk in chronic carriers of hepatitis B virus. *Gut* 1999;45(4):613.
- Danta M, Brown D, Bhagani S, et al. Recent epidemic of acute hepatitis C virus in HIV-positive men who have sex with men linked to high-risk sexual behaviours. *Aids* 2007;21(8):983.
- de Ledinghen V, Trimoulet P, Mannant PR, et al. Outbreak of hepatitis C virus infection during sclerotherapy of varicose veins: long-term follow-up of 196 patients (4535 patient-years). *J Hepatol* 2007;46(1):19.
- Di Bisceglie AM. Hepatitis C and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1997;26(3 Suppl 1):34S.
- Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997;112(2):463.
- Fissell RB, Bragg-Gresham JL, Woods JD, et al. Patterns of hepatitis C prevalence and seroconversion in hemodialysis units from three continents: the DOPPS. *Kidney Int* 2004;65(6):2335.
- Francois M, Dubois F, Brand D, et al. Prevalence and significance of hepatitis C virus (HCV) viremia in HCV antibody-positive subjects from various populations. *J Clin Microbiol* 1993;31(5):1189.
- Gebo KA, Herlong HF, Torbenson MS, et al. Role of liver biopsy in management of chronic hepatitis C: a systematic review. *Hepatology* 2002;36(5 Suppl 1):S161.

- Gitto S, Micco L, Conti F, Andreone P, Bernardi M. Alcohol and viral hepatitis: A mini-review. *Dig Liver Dis* 2008.
- Haley RW, Fischer RP. Commercial tattooing as a potentially important source of hepatitis C infection. *Clinical epidemiology of 626 consecutive patients unaware of their hepatitis C serologic status. Medicine (Baltimore)* 2001;80(2):134.
- Hraber P, Kuiken C, Yusim K. Evidence for human leukocyte antigen heterozygote advantage against hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2007;46(6):1713.
- Jonsson JR, Purdie DM, Clouston AD, Powell EE. Recognition of genetic factors influencing the progression of hepatitis C : potential for personalized therapy. *Mol Diagn Ther* 2008;12(4):209.
- Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2001;345(1):41.
- Lim YS, Kim WR. The global impact of hepatic fibrosis and end-stage liver disease. *Clin Liver Dis* 2008;12(4):733.
- Martinot-Peignoux M, Boyer N, Cazals-Hatem D, et al. Prospective study on anti-hepatitis C virus-positive patients with persistently normal serum alanine transaminase with or without detectable serum hepatitis C virus RNA. *Hepatology* 2001;34(5):1000.
- Mathurin P, Moussalli J, Cadranel JF, et al. Slow progression rate of fibrosis in hepatitis C virus patients with persistently normal alanine transaminase activity. *Hepatology* 1998;27(3):868.
- Merican I, Sherlock S, McIntyre N, Dusheiko GM. Clinical, biochemical and histological features in 102 patients with chronic hepatitis C virus infection. *Q J Med* 1993;86(2):119.
- Mitsui T, Iwano K, Masuko K, et al. Hepatitis C virus infection in medical personnel after needlestick accident. *Hepatology* 1992;16(5):1109.
- Ohto H, Terazawa S, Sasaki N, et al. Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. The Vertical Transmission of Hepatitis C Virus Collaborative Study Group. *N Engl J Med* 1994;330(11):744.
- Pembrey L, Newell ML, Tovo PA. The management of HCV infected pregnant women and their children European paediatric HCV network. *J Hepatol* 2005;43(3):515.
- Pereira BJ, Milford EL, Kirkman RL, Levey AS. Transmission of hepatitis C virus by organ transplantation. *N Engl J Med* 1991;325(7):454.
- Planas R, Balleste B, Alvarez MA, et al. Natural history of decompensated hepatitis C virus-related cirrhosis. A study of 200 patients. *J Hepatol* 2004;40(5):823.
- Pomper GJ, Wu Y, Snyder EL. Risks of transfusion-transmitted infections: 2003. *Curr Opin Hematol* 2003;10(6):412.
- 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;349(9055):825.
- Puoti C, Castellacci R, Montagnese F, et al. Histological and virological features and follow-up of hepatitis C virus carriers with normal aminotransferase levels: the Italian prospective study of the asymptomatic C carriers (ISACC). *J Hepatol* 2002;37(1):117.
- Roth D, Zucker K, Cirocco R, et al. The impact of hepatitis C virus infection on renal allograft recipients. *Kidney Int* 1994;45(1):238.
- Sangiovanni A, Prati GM, Fasani P, et al. The natural history of compensated cirrhosis due to hepatitis C virus: A 17-year cohort study of 214 patients. *Hepatology* 2006;43(6):1303.
- Sterling RK, Stravitz RT, Luketic VA, et al. A comparison of the spectrum of chronic hepatitis C virus between Caucasians and African Americans. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004;2(6):469.

- Sutton AJ, Hope VD, Mathei C, et al. A comparison between the force of infection estimates for blood-borne viruses in injecting drug user populations across the European Union: a modelling study. *J Viral Hepat* 2008;15(11):809.
- Svrtlih N, Jevtovic D, Simonovic J, et al. Older age at the time of liver biopsy is the important risk factor for advanced fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatogastroenterology* 2007;54(80):2324.
- Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med* 1995;332(22):1463.
- Vandelli C, Renzo F, Romano L, et al. Lack of evidence of sexual transmission of hepatitis C among monogamous couples: results of a 10-year prospective follow-up study. *Am J Gastroenterol* 2004;99(5):855.
- Vogt M, Lang T, Frosner G, et al. Prevalence and clinical outcome of hepatitis C infection in children who underwent cardiac surgery before the implementation of blood-donor screening. *N Engl J Med* 1999;341(12):866.
- Wasley A, Grytdal S, Gallagher K. Surveillance for acute viral hepatitis--United States, 2006. *MMWR Surveill Summ* 2008;57(2):1.
- Wiese M, Berr F, Lafrenz M, Porst H, Oesen U. Low frequency of cirrhosis in a hepatitis C (genotype 1b) single-source outbreak in germany: a 20-year multicenter study. *Hepatology* 2000;32(1):91.
- Zignego AL, Craxi A. Extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis* 2008;12(3):611.

Capitolul 4: Hepatita E – Epidemiologie, transmitere si istorie naturala

Johannes Lenz

Introducere

Asemanator VHA, virusul hepatitei E este si el un virus neanvelopat, de 27-34 nm, cu ARN simplu-spiralat, cu polaritate pozitiva si simetrie eicosaedrica. VHE este singurul membru al genului Hepevirus din familia Hepeviridiea (Emerson 2004). Ipoteza existentei acestui virus a fost emisa in urma unor studii retrospective asupra probelor clinice colectate in cursul izbucnirii epidemice de hepatita virala transmisa pe cale enterica in India (1955), ce au fost testate cu ajutorul unor noi metode de diagnostic pentru infectia VHA si VHB, fara ca rezultatele sa sprijine vreuna din aceste etiologii. Acest lucru a dus la ipoteza existentei unui alt virus hepatitic nonA nonB (NANB) cu transmitere pe cale enterica (Khuroo 1980; Wong 1980). VHE a fost pentru prima data vizualizat in 1983 si s-a putut obtine boala experimentală cu simptomatologie de hepatita acuta, la un voluntar uman din Rusia si la maimuta *Macacus cynomolgus*, stabilindu-se astfel implicarea etiologica a VHE in hepatita enterica NANB (Balayan 1983).

La nivelul genomului VHE s-au descris trei mari cadre deschise de citire (ORF): cel mai mare ORF are 1693 codoni si codifica proteine non-structurale, implicate in replicarea virusului, iar celelalte doua (de 660 si respectiv, 123 condoni) codifica polipeptide care intra in structura particulei virale (Koonin 1992). Pe baza analizei filogenetice a secventelor VHE stocate s-au evidentiat patru genotipuri si 24 subtipuri virale, avand distributie geografica particulara. Genotipul 1 si 2 par a fi specifice omului, in timp ce genotipul 3 si 4 infecteaza si porcul sau animalele salbatice (Lu 2006). Un singur serotip al VHE a fost descris pana in prezent.

Epidemiologie si transmitere

Caracteristicile epidemiologice ale hepatitei E sunt asemanatoare cu cele ale hepatitei A. Zonele hiperendemice pentru hepatita E sunt regiuni din Asia, Africa, America Centrala si Orientul Mijlociu (Belabbes 1985; Gupta 1957; Arankalle 1988; Tsega 1991; Velazquez 1990), unde calea principala transmitere este fecal-orală, prin ingestia de apa contaminata (Belabbes 1985; Naik 1992). Cea mai mare epidemie hidrica cu VHE documentata pana in prezent a fost descrisa in China intre anii 1986 si 1988, cuprinzand peste 100.000 de indivizi infectati (Zhuang 1992). In zonele in care VHE este endemic poate aparea si transmiterea parenterala prin transfuzii de sange contaminat (Matsubayashi 2004; Khuroo 2004).

In tarile industrializate infectia apare sporadic, majoritatea cazurilor fiind descrise la indivizi care calatoresc in zone endemice pentru VHE. Totusi, nu se stie sigur daca toate cazurile sunt importate, deoarece sunt descrise seroprevalente crescute de anticorpi anti VHE la consumatorii de droguri injectabile in unele dintre aceste tari, cum ar fi Danemarca si Suedia (Sylvan 1998; Christensen 2002), ceea ce ar putea sugera transmiterea parenterala a VHE prin folosirea in comun de ace infectate. Este de semnalat in plus detectarea virusului in apa recoltata din canalizare in unele

tari ca Franta, Spania si Statele Unite (Buti 2003), ceea ce ar putea indica faptul ca prevalenta infectiei cu VHE este subestimata in tarile industrializate.

Transmiterea zoonotica este de luat in considerare, la persoane cu contact profesional cu porcinele (veterinari, fermieri) din Statele Unite fiind descrisa o prevalenta inalta a anticorpilor anti VHE (Meng 2002; Karetnyi 1999), iar in anumite regiuni, un alt rezervor potential de transmitere este reprezentat de rozatoare (He 2006). In doua studii clinice din Japonia a fost raportata transmiterea infectiei VHE la om prin carne de mistret si de caprioara insuficient tratata termic (Tei 2003; Li 2005), pana in prezent totalitatea modalitatilor de transmitere endemica sau zoonotica nefiind inca pe deplin stabilita.

Transmiterea verticala a infectiei este, de asemenea, posibila - un studiu realizat pe opt femei insarcinate cu hepatita acuta E a indicat prezenta viremiei ARN-VHE la cinci dintre nou-nascutii acestora (Khuroo 1995).

Manifestari clinice

Hepatita E poate imbraca grade diferite de severitate, de la infectii subclinice pana la insuficienta hepatica fulminanta. Riscul major il prezinta femeile insarcinate, la care rata de mortalitate prin infectie VHE poate ajunge pana la 20%; in general, rata insuficientei hepatice fatale in infectia VHE este de 0,5-3% (Herrera 1993).

Dupa o perioada de incubatie de 15 - 60 zile (Khuroo 1980; Bayalan 1983) apare simptomatologia clinica de hepatita acuta virala: cel mai important semn este icterul, insotit de simptome generale ca astenie, anorexie si febra, dar si semne digestive ca greata, varsaturi, dureri abdominale si hepatomegalie, mai rar putand aparea si diaree, prurit, artralгии si eruptii cutanate. Testele biochimice arata cresterea nivelului seric al bilirubinei, alaninaminotransferazei si a aspartataminotransferazei. Atat simptomatologia, cat si testele de laborator revin la normal dupa cateva saptamani, pana la doua luni, dar evolutia hepatitei E este mai grava decat a hepatitei A, corelat mai ales cu posibilitatea de aparitie a coagulopatiei de consum si a colestazei, ce pot complica evolutia hepatitei E la mai mult de jumatate dintre pacienti (Chau 2006).

Evolutia clinica a pacientilor infectati cu doua genotipuri diferite ale VHE (3 si 4) a fost urmarita intr-un studiu realizat in Japonia, care a aratat ca simptomatologia determinata de genotipul 4 este mai severa decat cea determinata de genotipul 3 (Ohnishi 2006). Pacientii infectati cu genotip 4 VHE prezinta varf de transaminaze semnificativ mai mare (valoarea mediana pentru alaninaminotransferaza serica a fost 3430 UI/l pentru genotip 4, versus 1052 UI/l pentru genotipul 3), un prag mai scazut de normalizare a timpului de protrombina (61 versus 84%) si o perioada de spitalizare prelungita (26,5 versus 18 zile).

Biopsia hepatica realizata la unsprezece pacienti cu hepatita acuta E sporadica a indicat leziuni de tip hepatita acuta la toti pacientii studiati, noua pacienti prezentau activitate necro-inflamatorie intensa, iar cinci, necroza confluenta; depuneri de fier la nivel hepatic si colestaza au aparut la unsprezece, respectiv la noua dintre acesti pacienti (Peron 2007).

Studii seroepidemiologice pentru infectia cu VHE au aratat faptul ca pacientii cu hepatita E in antecedente sunt protejati impotriva reinfectiilor in cursul episoadelor

epidemic, astfel ca se poate conchide ca imunitatea in aceasta infectie este dobandita si durabila (Bryan 1994).

Este larg acceptata ipoteza conform careia hepatita E nu cronicizeaza, totusi doua studii recente realizate pe pacienti care au primit transplant hepatic, renal sau pancreatic si care au fost supusi terapiei imunosupresoare au indicat prezenta indelungata a unei incarcaturi virale ARN VHE detectabile. La 10 din cei 16 pacienti studiati s-au observat leziuni histologice de hepatita cronica, atribuite potential VHE (Haagsma 2008; Kamar 2008), de aceea pe viitor trebuie stabilit exact riscul de cronicizare la pacientii imunodeprimati.

Diagnostic

Diagnosticul hepatitei acute E se bazeaza pe detectia anticorpilor anti VHE sau a acidului nucleic viral ARN VHE in ser sau materii fecale, acidul nucleic viral seric sau fecal fiind markerul cel mai timpuriu de infectie, ce persista una pana la sase saptamani dupa instalarea simptomatologiei clinice (Takahashi 2005). Anticorpii anti-VHE-IgM apar si ei timpuriu in cursul infectiei si raman pozitivi cateva luni, fiind inlocuiti apoi de anticorpii de clasa IgG ce pot aparea din a doua saptamana de evolutie clinica a bolii.

In tari endemice pentru hepatita E testarea combinata pentru detectia de anticorpi anti-VHE-IgG impreuna cu anticorpii anti-VHE-IgA sau ARN VHE poate fi utila pentru a diferentia o infectie in evolutie fata de o infectie veche VHE (Takahashi 2005), in timp ce detectia singulara a anticorpilor anti-VHE-IgM (sau anti-VHE-IgA) poate aparea la pacientii cu contact anterior cu VHE. De remarcat in unele situatii ca factorul reumatoid IgM poate determina aparitia de rezultate fals pozitive, fiind necesara interpretarea cu prudenta a unor asemenea teste.

Sarcina

Hepatita acuta E aparuta in cursul sarcinii este mult mai frecvent insotita de insuficienta hepatica fulminanta, rezultand o rata de mortalitate extrem de crescuta - intre 15 si 25% - mai ales daca infectia se produce in al treilea trimestru de sarcina (Khuroo 1981); evolutia fatului, dar si a mamei, dupa o hepatita E pare a fi cea mai grava dintre toate celelalte cauze de hepatita virala (Patra 2007). Un studiu prospectiv realizat pe 220 femei insarcinate care s-au prezentat cu simptomatologie de hepatita acuta icterica la un spital din New Delhi, a indicat o rata de aparitie a hepatitei fulminante si de mortalitate semnificativ crescute in cazul infectiei cu VHE fata de alte etiologii (risc relativ 2.7 si respectiv, 6.0). Riscul relativ pentru alte complicatii obstetricale a fost: 4.1 pentru hemoragii antepartum, 1.9 pentru moarte fetala in utero, 1.2 pentru nastere prematura si 1.8 pentru nastere de fat mort.

Tratament

Intrucat hepatita acuta E este o boala autolimitata, majoritatea cazurilor se remit spontan fara sechele si, neexistand terapie specifica, de obicei tratamentul este suportiv. Cazurile cu evolutie spre insuficienta hepatica fulminanta necesita internare intr-o clinica cu posibilitati de efectuare de transplant hepatic.

Referinte

- Arankalle VA, Chada MS, Mehendale SM, Banerjee K. Outbreak of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis among school children. *Lancet* 1988; 2:1199.
- Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology* 1983; 20: 23-31.
- Belabbes EH, Bouguerrou A, Benatallah A, Illoul G. Epidemic non-A, non-B viral hepatitis in Algeria: strong evidence for its spreading by water. *J Med Virol* 1985; 16: 257-63.
- Bryan JP, Tsarev SA, Iqbal M et al. Epidemic hepatitis E in Pakistan: patterns of serologic response and evidence that antibody to hepatitis E virus protects against disease. *J Infect Dis*. 1994; 170: 517-21.
- Buti M, Jardi R, Martin M et al. Hepatitis E virus epidemiology in industrialized countries. *Emerg Infect Dis*. 2003; 9: 448-54.
- Chau TN, Lai ST, Tse C et al. Epidemiology and clinical features of sporadic hepatitis e as compared with hepatitis a. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 292-6.
- Christensen PB, Engle RE, Jacobsen SE, Krarup HB, Georgsen J, Purcell RH. High prevalence of hepatitis E antibodies among Danish prisoners and drug users. *J Med Virol*. 2002; 66: 49-55.
- De Feo TM, Poli F, Mozzi F, Moretti MP, Scalapogna M. Risk of transmission of hepatitis B virus from anti-HBC positive cadaveric organ donors: a collaborative study. *Transplant Proc* 2005;37(2):1238.
- Emerson SU, Anderson D, Arankalle A et al. Virus taxonomy VIIIth report of the ICTV. In: Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J, Desselberger U, Ball LA, editors. *Hepevirus*. 2004 London: Elsevier/Academic Press. Pp 851-3.
- Gupta, DN, Smetana, HF. The histopathology of viral hepatitis as seen in the Delhi epidemic (1955-56). *Indian J Med Res* 1957; 45: 101.
- Haagsma EB, van den Berg AP, Porte RJ et al. Chronic hepatitis E virus infection in liver transplant recipients. *Liver Transpl*. 2008; 14 : 547-53.
- He J, Innis BL, Shrestha MP et al. Evidence that rodents are a reservoir of hepatitis E virus for humans in Nepal. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1208.
- Herrera JL. Hepatitis E as a cause of acute non-A, non-B hepatitis. *Arch Intern Med* 1993; 153: 773-5
- Kamar N, Selves J, Mansuy JM et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med*. 2008; 358: 811-7.
- Karetnyi YV, Gilchrist MJ, Naides SJ. Hepatitis E virus infection prevalence among selected populations in Iowa. *J Clin Virol* 1999; 14: 51-5.
- Khuroo MS. Study of an epidemic of non-A, non-B hepatitis. Possibility of another human hepatitis virus distinct from post-transfusion non-A, non-B type. *Am J Med* 1980; 68: 818-24.
- Khuroo MS, Teli MR, Skidmore S, Sofi MA, Khuroo MI. Incidence and severity of viral hepatitis in pregnancy. *Am J Med* 1981; 70: 252-5.
- Khuroo MS, Kamili S, Jameel S. Vertical transmission of hepatitis E virus. *Lancet*. 1995; 345: 1025-6.
- Khuroo MS, Kamili S, Yattoo GN. Hepatitis E virus infection may be transmitted through blood transfusions in an endemic area. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 778-84.
- Koonin EV, Gorbalenya AE, Purdy MA, Rozanov MN, Reyes GR, Bradley DW. Computer-assisted assignment of functional domains in the nonstructural polyprotein of hepatitis E virus: delineation of an additional group of positive-strand RNA plant and animal viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 8259-63.

- Li TC, Chijiwa K, Sera N, et al. Hepatitis E virus transmission from wild boar meat. *Emerg Infect Dis* 2005; 11: 1958-60.
- Lu L, Li C, Hagedorn CH. Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. *Rev Med Virol*. 2006; 16: 5-36.
- Matsubayashi K, Nagaoka Y, Sakata H et al. Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. *Transfusion* 2004; 44: 934-40.
- Meng XJ, Wiseman B, Elvinger F et al. Prevalence of antibodies to hepatitis E virus in veterinarians working with swine and in normal blood donors in the United States and other countries. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 117-22.
- Naik SR, Aggarwal R, Salunke PN, Mehrotra NN. A large waterborne viral hepatitis E epidemic in Kanpur, India. *Bull World Health Organ* 1992; 70: 597-604.
- Ohnishi S, Kang JH, Maekubo H et al. Comparison of clinical features of acute hepatitis caused by hepatitis E virus (VHE) genotypes 3 and 4 in Sapporo, Japan. *Hepatol Res* 2006; 36: 301–307.
- Patra S, Kumar A, Trivedi SS, Puri M, Sarin SK. Maternal and fetal outcomes in pregnant women with acute hepatitis E virus infection. *Ann Intern Med*. 2007; 147: 28-33.
- Peron JM, Danjoux M, Kamar N et al. Liver histology in patients with sporadic acute hepatitis E: A study of 11 patients from southwest France. *Virchows Arch* 2007; 450: 405–410.
- Sylvan, SP. The high rate of antibodies to hepatitis E virus in young, intravenous drug-abusers with acute hepatitis B-virus infection in a Swedish community: a study of hepatitis markers in individuals with intravenously or sexually acquired hepatitis B-virus infection. *Scand J Infect Dis* 1998; 30: 429.
- Takahashi M, Kosakai S, Mizuo H et al. Simultaneous detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against hepatitis E virus (VHE) is highly specific for diagnosis of acute VHE infection. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 49–56.
- Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet* 2003; 362: 371-3.
- Tsega E, Krawczynski K, Hansson BG et al. Outbreak of acute hepatitis E virus infection among military personnel in northern Ethiopia. *J Med Virol* 1991; 34: 232-6.
- Velazquez O, Stetler HC, Avila C, et al. Epidemic transmission of enterically transmitted non-A, non-B hepatitis in Mexico, 1986-1987. *JAMA* 1990; 263: 3281-5.
- Wong DC, Purcell RH, Sreenivasan MA, Prasad SR, Pavri KM. Epidemic and endemic hepatitis in India: evidence for a non-A, non-B hepatitis virus aetiology. *Lancet* 1980; 2: 876-9.
- Zhuang, H. Hepatitis E and strategies for its control. *Viral Hepatitis in China: Problems and Control Strategies*. *Monogr Virol* 1992; 19: 126.

Capitolul 5: VHB - Virusologie

Jessica Lüsebrink, Verena Schildgen and Oliver Schildgen

Introducere

În 1965, Blumberg și colaboratorii săi – în căutarea de mijloace pentru identificarea și urmărirea variațiilor genetice în populații diferite – au găsit un antigen nou în serul aborigenilor australieni (Blumberg 1965). Inițial, a fost numit antigen Australia, în anii următori fiind asociat evoluției clinice a hepatitei (Blumberg 1967; Blumberg 1968) și imediat ulterior unui tip specific de hepatită numit hepatită serică (Okochi 1968; Okochi 1970; Okochi 1993). Studiile de microscopie electronică au relevat faptul că pacienții pozitivi pentru antigenul Australia aveau în ser 2 tipuri diferite de particule ce conțineau antigenul Australia, și anume particule mici de formă sferică sau filamentoasă cu diametru de aproximativ 22 nm, și așa numitele particule Dane, de 42 nm (Dane 1970), care sunt particulele virale complete și infectioase ce conțin genomul viral și care au fost denumite virusul hepatitei umane B (VHB) (Heermann 1984; Kaplan 1973; Robinson 1974; Robinson 1974; Robinson 1975b; Robinson 1975a; Robinson 1976b; Robinson 1976a). Între timp, s-a dovedit că există un număr de virusuri asemănătoare HBV, cele mai multe dintre ele interesând un număr redus de gazde; toate aceste virusuri împreună alcătuiesc familia Hepadnaviridae.

Taxonomia *Hepadnaviridae*

Numele *Hepadnaviridae* al familiei are la bază aspectul clinic al infecției și organele țintă afectate (ficat, clasic/greacă veche : hepar) și acidul nucleic, ADN. Familia *Hepadnaviridae* conține două genuri, virusuri *orthohepadna* care infectează numai mamiferele, și virusurile *avihepadna* ce infectează pasările.

Din punct de vedere al taxonomiei, Familia *Hepadnaviridae* formează propriul grup deoarece caracteristicile sale biologice nu au fost observate la alte familii virale cunoscute până în prezent. Familia *Hepadnaviridae* conține unul dintre cei mai mici patogeni cunoscuți, de doar 3-3,3 kbp. Cadrele de citire ale genomului sunt extrem de condensate și parțial suprapuse, ceea ce contribuie la o strategie unică de replicare. Această strategie include o etapă de reverstranscriere fapt observat și în replicarea retrovirusurilor, dar în contrast cu acestea acidul nucleic din particulele virale infectioase este de tip ADN.

Subclasificarea familiei *Hepadnaviridae* în 2 genuri se bazează pe diferența dintre gazdele naturale și pe diferențele filogenetice între hepadnavirusurile mamiferelor și cele aviare (figura 1). Până acum, două specii majore au fost clasificate ca avihepadnavirusuri și denumite după propria gazdă, virusul hepatitei B la rata domestică (DVHB) și virusul hepatitei B la egrete (HVHB). Suplimentar, un număr de alte hepadnavirusuri aviare au fost descrise dar încă nu au fost specific clasificate (Guo 2005). Cel de al doilea gen - *orthohepadnavirus* - cuprinde 4 specii distincte bine cunoscute: VHB, WHV, GSHV și WMHV. Specia prototip este virusul hepatitei umane B (VHB) care infectează omul și care poate fi utilizat în infecții experimentale la cimpanzei. WHV, virusul hepatitei la marmote, este un *orthohepadnavirus* bine studiat care se găsește în mod natural la marmote și care nu a putut fi transmis la alte rozătoare oarecum asemănător GSHV, virusul hepatitei la

veverite. Interesant, GSHV poate sa infecteze si marmotele, astfel incat numarul gazdelor nu este asa restrans ca la WHV. Ultima specie din lista, virusul hepatitei B de la maimutele lanoase (WMHV), in ciuda faptului ca are ca gazda naturala un primat non-umanoid si in contrast cu VHB, nu este infectios pentru cimpanzei (Lanford 1998; Lanford 2003; Seeger 1987; Seeger 1991). Un alt membru al genului, virusul hepatitei de la veveritele polare (AGSHV) este inrudit cu GSHV, dar nu a fost clasificat, studii asupra spectrului sau de gazda nefiind inca publicate (Testut 1996). Hepadnavirusurile izolate de la cimpanzei, gorile, urangutani si giboni, despre care initial s-a crezut ca sunt specii distincte, sunt acum considerate a fi subtipuri ale VHB mai degraba decat specii distincte (Testut 1996; Verschoor 2001; Warren 1999; Thornton 2001; Zuckerman 1975; Zuckerman 1978; Hu 2000; Starkman 2003). La oameni, VHB este divizat in opt genotipuri, A-H; oricum, nu este exclus ca alte genotipuri sa fie descoperite sau sa evolueze in viitor. Genotipurile A-H prezinta diferente intre 8 si 17% din nucleotide (Fung 2004; Norder 1994; Norder 2003; Arauz-Ruiz 2002; Arauz-Ruiz 2001; Arauz-Ruiz 1997b; Arauz-Ruiz 1997a).

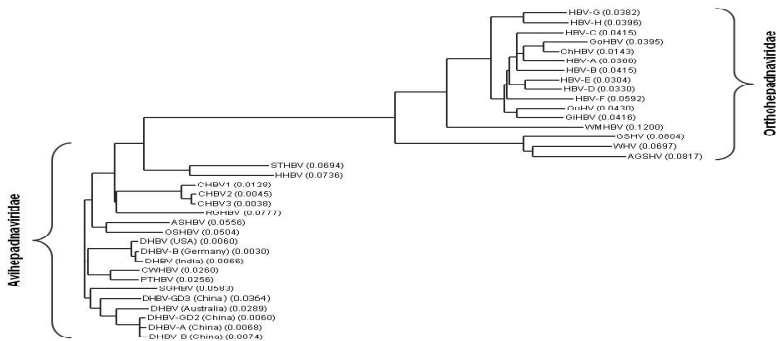


Figura 1. Figura prezinta arborele filogenetic al tulpinilor de referinta ale orthohepadnavirusurilor and avihepadnavirusurilor. Urmarierea secventelor prototip a utilizat: AB064316, AB113876, AF193864, AF493986, AJ006350, AJ131567, AJ251937, AJ441111, AJ441112, AJ441113, AY226578, AY433937, AY494849, AY494850, AY494851, AY494852, AY521226, AY521227, AY536371, AY781186, CS388973, CS388974, CS388977, CS388980, CS409746, CS409749, D00220, M11082, NC_001484, NC_001486, NC_005890, NC_005950, U29144, X12798, X74623

Abrevieri. AGSHV=arctic ground squirrel hepatitis virus, ASHBV=ashy headed sheldgoose HBV, CHBV=crane HBV, ChHEBV=Chimpanzee HBV, GiHEBV=Gibbon HBV, GoHEBV=Gorilla HBV, GSHV=ground squirrel hepatitis virus, CWHEBV=chileo wigeon HBV, HHEBV=heron HBV, OSHBV=Orinoco sheldgoose HBV, OuHEBV=Orangutan hepadnavirus, PTHEBV=puna teal HBV, RGHEBV=Ross' goose HBV, SGHEBV=snow goose HBV, STHBV=storck HBV, WHV=woodchuck hepatitis virus, WMHEBV=woolly monkey HBV

Structura particulelor virale si organizarea genomului viral

Hepadnavirusurile sunt virusuri ADN anvelopate cu un ADN dublu spiralat, partial circular care impreuna cu proteinele core formeaza nucleocapsida. Virusul infectiv, e.g., particula Dane, se gaseste sub forma sferica cu diametrul de 42-47nm. Membrana virala este castigata de virus prin inmugurire sau in timp ce particulele virale sunt transportate pe calea canalelor secretoare prin reticulul endoplasmatic si complexul Golgi formand suprafata ce contine cele trei proteine virale de suprafata. Aceste proteine denumite in functie de marimea lor antigen de suprafata mic (HBsAg), mediu (HBMAg) sau mare (HBLAg) sunt dobandite in cursul inmuguririi la nivelul reticulului endoplasmatic (ER).

Nucleocapsida, care formeaza partea interioara a particulei Dane, are dimensiunea de aproximativ 28nm; contine o singura copie a genomului viral asociata cu polimeraza virala si joaca un rol important in diagnosticul molecular al infectiei cu VHB (vezi capitolul 8). La VHB, ca la aproape toate virusurile anvelopate, in structura virusului s-au evidentiat proteine provenite de la gazda (Albin 1980).

Marimea medie a genomului viral este de aproximativ 3,3 kbp, variind usor de la genotip la genotip si de la izolat la izolat. Figura 2 prezinta organizarea cadrelor de citire din genomul VHB. Toate cadrele de citire au o orientare identica si se suprapun cel putin partial. In interiorul particulei Dane spira negativa a genomului viral este prezenta pe toata lungimea, asa incat sustine intregul genom. Prin contrast, spira pozitiva acopera numai ~ 2/3 din lungimea genomului, in timp ce capatul 3' are o lungime variabila (Lutwick 1977; Summers 1975). Polimeraza virala este legata covalent de spira negativa printr-o legatura fosfotirozinica. La capatul 5' al spirei pozitive un oligomer scurt RNA, originar din RNA-ul pregenomic (PG) rezidual ramane legat covalent dupa sinteza DNA viral. Spira negativa, in contrast cu cea pozitiva, contine la ambele capete 3' si 5' o mica regiune redundanta de 8-9 nucleotide numita regiunea r, esentiala pentru replicarea virala (Seeger 1986; Will 1987; Lien 1986°; Lien 1987).

Genomul viral consta in patru cadre de citire, toate codificate de spira negativa, cu 6 codoni de start, patru promotori, doua elemente de accelerare a transcrierii, un motiv-semnal de poliadenilare, si un numar de semnale pentru replicarea DNA (Figura 2). Transcrierile majore ARN sunt poliadenilate, de 3,5 kb, 2,4 kb si 2,1 kb in lungime si se numesc pre-C/C, preS si S MRNAs (Enders 1985; Cattaneo 1984). De altfel un RNAm lung de 0,7kb denumit X ARNm poate aparea ocazional. Capatul 3' este comun tuturor transcriptelor VHB si este creat de semnalul poliadenilat in genele core (C).

Genomul viral codifica proteina core, proteina pre-core cunoscuta si sub denumirea de antigen e, polimeraza, cele 3 proteine de suprafata si proteina X. In timp ce proteina core, recunoscuta de sistemul imun, este esentiala pentru formarea nucleocapsidei, antigenul e care de asemenea contine toate genele core, este procesat posttranslatie este important in interactiunea virus-gazda. Antigenul e este de asemenea marker al replicarii virale active si joaca un rol important in diagnosticul molecular (Chen 2004).

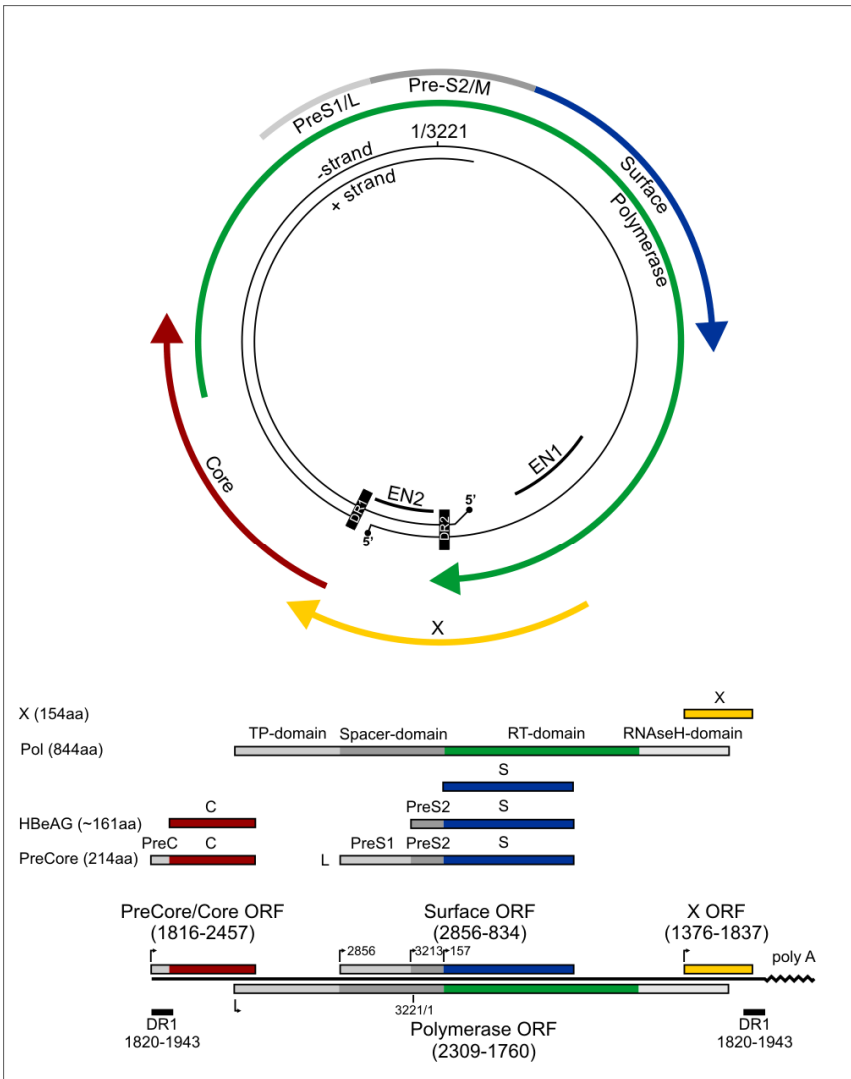


Figura 2. Organizarea genomului VHB si transcriptele corespunzatoare.

Polimeraza virala este singura enzima codificata de genomul VHB si este o ADN polimeraza ARN dependenta cu activitate RNazica H. Polimeraza VHB este formata din trei domenii functionale si o asa zisa regiune spacer; proteina terminala (TP) este localizata in domeniul N-terminal, actionand ca un primer in sinteza spirei ADN negative. Regiunea C-terminala este separata de spacer si functioneaza ca RT-polimeraza si Rnaza H.

Cele trei proteine de suprafata L, M si S impart domeniul s c-terminal si sunt codate pe un cadru de citire ce codifica trei codoni start (unul pentru L: preS1, unul pentru M: preS2 si unul pentru S: preS3) si se suprapun peste cadrul de citire al polimerazei (Seeger 2007). Pana in prezent rolul proteinei X nu este complet inteles, cu toate ca a fost asociata cu nucleul si citoscheletul (Doria 1995; Henkler 2001; Lara-Pezzi 2001). Totusi proteina X a hepatitei B este necesara pentru o infectie eficienta *in vivo* (Zhang 2001; Zoulim 1994).

Ciclu replicativ VHB

In ciuda a 40 de ani de cercetare a VHB, nu au fost descrise linii celulare permissive utilizabile pe scara larga pentru VHB sau alt membru al familiei *Hepadnaviridae*. Oricare din studiile privind ciclul replicativ al *Hepadnaviridae*, e.g., adsorbtia, internalizarea, replicarea genomului, transcrierea si expresia genelor virale, asamblarea si eliberarea nu au putut fi total executate, sau studiile au fost limitate la o serie de mici experimente pe hepatocite primare permissive (Tuttleman 1986; Aldrich 1989; Ochiya 1989; Gripon 1993; Gripon 1988). Din pacate hepatocitele primare raman permissive doar pentru scurt timp dupa ce au fost recoltate din ficat.

Acum este admis ca internalizarea virala si tipurile de gazda ale hepadnavirusurilor sunt dependente de capatul N al antigenului mare de suprafata (Ishikawa 1995; Chouteau 2001; Lambert 1990; Gripon 2005; Urban 2002). Pana in prezent receptorul intrinsec al VHB nu a fost descoperit, dar din studiile DVHB pe hepatocite primare de rata este admis ca aproximativ 10^4 pe celula mediaza legarea rapida, urmata de o asimilare lenta a virusului in celula ce poate dura pina la 16 ore (Pugh 1989; Klingmuller 1993; Pugh 1995; Rigg 1992; Hagelstein 1997; Kock 1996). Dupa internalizarea in hepatocit si decapsidare, ce pot avea loc in paralel, nucleocapsida este transportata in nucleul celulei, unde acidul nucleic viral este eliberat. Eliberarea ADN-ului viral si dezintegrarea nucleocapsidei este admis ca are loc in complexul nuclear central (Kann 1997; Rabe 2003).

In hepatocitele infectate ADN-ul viral este imediat transformat in ADN circular relaxat (ADNccc) de enzimele celulare. ADNccc este matrita pentru transcrierea genelor virale, actionand chimic si structural ca un episom/extracromozomial ADN, cu o structura de tip plasmida (Bock 1994; Bock 2001; Newbold 1995). In concordanta cu faptul ca VHB infecteaza hepatocitele, aproape toate elementele ce regleza transcrierea virala au locusuri de legatura pentru factori de transcriere specifici ficatului (Schaller & Fischer 1991; Lopez-Cabrera 1991; Lopez-Cabrera 1990; Guo 1993; Courtois 1987; Raney 1995). Cu toate acestea, desi un numar de factori si interactiuni ce regleza transcrierea virala sunt cunoscuti, mecanismele exacte de transcriere a VHB raman neclare. Totusi este cunoscut ca transcrierea virala se afla in nucleu, si ambii ARNs mesager si pregenomic sunt transportate in citoplasma unde sunt traduse sau utilizate ca matrita pentru producerea genomului progen.

In citoplasma, proteina core poate fi fosforilata de cateva kinaze, fomand baza pentru nucleocapsida. Joaca un rol activ in legarea si impachetarea ARN pregenomic, recrutarea polimerazei virale si asa ajutand RT polimeraza/ARN complex sa initieze revers transcrierea in interiorul nucleocapsidelor nou formate (Liao 1995; Lan 1999; Gerlich 1982; Kann 1993; Kau 1998; Daub 2002; Watts 2002).

Cele trei proteine de suprafata ale VHB au 2 proprietati majore. Prima, ca proteine transmembranare ele sunt ancorate in envelopa virala si astfel sunt localizate la suprafata virusului, devenind responsabile de legarea de inca necunoscutul receptor viral. A doua, ca cele trei proteine de suprafata sunt secretate sub forma de particule subvirale care nu contin nucleocapside functionale. Proteinele difera in secventele lor N-terminale care sunt mai lungi in cazul proteinelor L si M. Toate proteinele au in comun acelasi domeniu S; in plus proteinele M au domeniul pre-S2; iar proteinele L au si domeniile pre-S2 si pre-S1. (figura 2). Proteinele de suprafata ale *Hepadnaviridae* de la mamifere au fost prezentate ca fiind N- si O-glicozilate (Schildgen 2004; Lu 2003; Block 1998; Block 1994; Schmitt 2004; Schmitt 1999). Aceste glicozilari s-a evidentiat a fi responsabile de propria secretie a particulelor progene virale reprezentand astfel o noua tinta pentru terapia cu inhibitori ai glicozilarii (Schildgen 2004; Lu 2003; Block 1998; Block 1994; Schmitt 2004; Schmitt 1999). Mai mult proteinele de suprafata s-a demonstrat ca sunt activatori ai transcrierii prin actiune individuala (Kekule 1990; Caselmann 1990).

Polimeraza virala, singura enzima codificata de genomul hepadnaviral, contine trei domenii functionale – proteina terminala, revers transcriptaza si domeniul RnazeiH – si un domeniu spacer care separa proteina terminala de domeniul polimerazei. Proteina terminala serveste si ca primer pentru revers transcriere (Wang 1992; Weber 1994; Lanford 1997). Inainte sau in timpul constituirii ADNccc, proteina terminala si una din regiunile terminale repetitive din genomul ADN viral circular relaxat care este eliberat din nucleocapsida este mutata si se formeaza ADNccc printr-un mecanism incomplet cunoscut, cel mai probabil dependent de ligaza celulara si poate si de alte enzime. Pana in prezent este admis ca ADN-ul celular intretine mecanismele devenite active si exprima forma circulara relaxata in ADNccc (Seeger 2007).

Cum s-a mentionat anterior, ADNccc este, de asemenea, matrita pentru ARN-ul pregenomic (ARNpg). Acest ARN este matrita pentru core si translatia proteinelor polimerazei si este matrita si pentru genomul progen. ARNpg prezinta o structura secundara prezenta la ambele capete 5' si 3' - numita structura ϵ . Bucla ϵ de la capatul 5' sunt primele recunoscute de polimeraza virala si actioneaza ca un prim semnal de impachetare (Bartenschlager 1992; Hirsch 1990; Huang 1991). Sinteza spirei ADN negative (reverstranscrierea intrinseca) este apoi initiata de formarea unei legaturi covalente intre un reziduu de tirozina Y65 a domeniului proteinei terminale si o molecula de dezoxi-guanozin-monofosfat (dGMP) (Wang 1992; Weber 1994; Lanford 1999; Zoulim 1994). Urmatoarele cateva nucleotide urmeaza acest dGMP initial completand o mica parte din structura ϵ , iar micul primer astfel format este translocat inspre capatul 3' printr-un mecanism necunoscut, ramanand legata covalent tot timpul. Acest proces este posibil sa fie o premisa pentru corecta pliere a genomului progen in interiorul noilor nucleocapside. In final spira negative este complet sintetizata de revers transcriptaza in timp ce ARN este degradat de activitatea enzimatica a RnazeiH. In continuare sinteza spirei pozitive este initiata de un oligo ARN 18 mer capped care ramane de la capatul 5' al ARNpg (Lien 1986b; Loeb 1991). Cu toate acestea, este admis ca desi nu exista replicare activa si contrar aspectului de stabilitate este evident ca ADNccc poate fi adaptos in hepatocitele infectate astfel contribuind la infectia cronica VHB. Acesta este un

punct catre o alta tinta privind terapia pe termen lung care sa sustina eliminarea ADNccc din celule.

Ultimul pas in replicarea virala, asamblarea si eliberarea prticulelor Dane VHB, nu este pe deplin inteles; un studiu cu folosirea inhibitorilor glicozilarii in doze netoxice supreseaza viremia la marmotele infectate WHV este o dovada indirecta ca asamblarea si eliberarea urmeaza cai secretorii (Block 1998).

Patogenia infectiei cu alte hepadnavirusuri

Transmiterea VHB si a celorlalti membrii ai familiei *Hepadnaviridae* se realizeaza pe cale verticala si orizontala prin schimb de fluide corporale. In ser se pot intalni de la 10^{10} pana la maxim 10^{12} copii genomice per ml. In infectiile cornice, viremia poate fluctua cu +/- un \log_{10} (Schildgen 2006).

Rata cronicizarii, in functie de studiu, este peste 90% in infectiile neonatale si aproximativ 10-15% in infectiile la adulti. Riscul achizitiei infectiilor in urma transfuziilor sau nosocomial a scazut in ultimele doua decade datorita optimizarii diagnosticului prin tehnici moleculare, igienei mai stricte si a reglementarilor legale; cu toate acestea, exista inca un numar remarcabil de astfel de cazuri de transmitere datorita comportamentului imprudent al personalului medical.

Odata intrat in organism, VHB ajunge in principala celula tinta, hepatocitul, principalul loc de replicare si persistenta, deoarece efectiv toate hepadnavirusurile manifesta un tropism distinct si pronuntat pentru ficat. Mai mult, s-a dovedit ca alte tipuri celulare pot servi drept rezervoare non-hepatice pentru hepadnavirusurile care infecteaza mamiferele. In ficatul infectat al gazdelor imunocompetente exista o deteriorare continua a hepatocitelor infectate datorata limfocitelor T citotoxice (LT-citotoxic). fapt care conduce la expresia continua a fibrelor de collagen, iar in cazurile cele mai grave si in lipsa terapiei se ajunge la ciroza hepatica. (Pinzani 1995; Mathew 1996; Papatheodoridis 2005; Yoshida 2004; Rockey 2005; Liaw 2004; Rizzetto 2005; Maynard 2005).

In acest context putem observa faptul ca nu exista dovezi ca VHB este citotoxic pentru hepatocitul infectat. In conditiile unei infectii obisnuite, contrar altor virusuri care pot infecta ficatul, cum ar fi virusul herpes simplex (VHS), VHB este incapabil sa induca efecte citopatie. (Jilbert 1992; Kajino 1994; Wieland 2004; Thimme 2003). Se crede ca leziunea hepatica (fibroza, ciroza, si probabil carcinomul hepatocelular) este rezultatul unei reactii imune continue si a unui proces inflamator hepatic consecvent.

Prin urmare, si confirmat de datele experimentale (Ando 1994; Guidotti 1994a; Guidotti 1994b; Guidotti 1996; Guidotti 1999a; Guidotti 1999b; Guidotti 2000; Kakimi 2001; Tsui 1995), este unanim recunoscut faptul ca actiunea masiva a LT-citotoxice si a celulelor NK este esentiala pentru eliminarea infectiei si se soldeaza cu distrugerea hepatocitelor infectate. Mai mult este acceptat faptul ca in acele cazuri in care apare o cronicizare a infectiei raspunsul celular initial este prea slab si deci insuficient pentru a controla infectia. (Ganem 2004). Pana acum este neclar care mecanisme sunt responsabile de trecerea din faza acuta in faza cronica a infectiei, astfel ca aceasta parte a ciclului replicativ ramane o chestiune speculativa. De fapt, s-a demonstrat implicarea in supresia infectiilor trecatoare a unui raspuns suficient al limfocitelor Th1 care implica LT-citotoxice CD8 pozitive, celulele NK,

citochinele (TNF-alpha, alti interferoni gamma like IL-12, IL-15, etc.) (Seeger 2007).

In ciuda faptului ca numai anticorpii antiHBs sunt neutralizanti si reprezinta un marker major pentru imunitate, s-a emis ipoteza ca infectia trecatoare este controlata de interferonul gamma si alte citochine eliberate de celulele imune, fapt care conduce in timp la o stopare a replicarii virale. (Schultz 1999; Pasquetto 2002; Schultz 1999). Totusi, acest fapt nu explica de ce anticorpii anti HBs sunt prezenti doar la acei pacienti care au eliminat virusul; se presupune ca reprezinta un control continuu al infectiei. ADN-ul ccc persista zeci de ani la acei pacienti (Maynard 2005; Werle-Lapostolle 2004), in timp ce mecanismele descrise mai sus esueaza daca infectia trece in stadiul cronic.

Modele animale ale infectiilor cu VHB

Dupa cum am mentionat mai sus este decisiv sa ne folosim de sisteme de modele potrivite pentru a studia caracteristicile biologice si clinice ale infectiei virale. Din pacate, datorita spectrului de gazda ingust si faptului ca VHB nu se poate replica decat in hepatocite, modelele de studiu sunt limitate. Prin urmare cercetatorii din lumea intraga au incercat sa stabileasca modele animale si sisteme de culturi celulare care reproduc cel putin partial unele statii ale infectiei cu VHB si pot fi folosite, spre exemplu, la testarea preclinica a noilor medicamente antivirale.

Cimpanzeii

Este cunoscut, atat din studiile epidemiologice realizate pe animale captivate si in rezervoarele naturale ale *hepadnaviridae* cat si din modelele infectiilor experimentale, faptul ca cimpanzeii si alte primat inalt umanizate pot fi infectate cu VHB. Cimpanzeii au fost utilizati in studiile preclinice pentru testarea vaccinurilor profilactice sau terapeutice (Kim 2008; Komiya 2008; Murray 2005; Sallberg 1998; Pride 1998; Ogata 1993; Wahl 1989; Lubeck 1989; Sureau 1988; Acs 1987; Will 1983). Din fericire, din motive etice, economice si stiintifice, experimentele cu cimpanzeii au fost aproape in totalitate eliminate.

Marmotele si neveritele

La sfasitul anilor 70, dintr-o intamplare norocoasa, marmota monax s-a dovedit a fi un model pentru infectiile cu VHB. La gradina zoologica din Philadelphia, unde se afla Laboratorul de Cercetare Penrose, a fost observat faptul ca marmotele capturate in statele americane din regiunea centrala a Atlanticului care fusesera gazduite in gradina zoologica din Philadelphia sufereau frecvent de carcinom hepatocelular (Summers 1978). In contrast, in populatia de marmote capturate in New York si regiunile adiacente nu s-au observat nici un fel de hepatoame. Carcinomul hepatocelular a fost asociat cu unui virus VHB-like, denumit virusul hepatitei marmotei (VHM). In mod surprinzator, VHM nu poate infecta marmotele europene. Marmotele si virusul lor hepatitic reprezinta un model acceptat pentru testarea preclinica a noilor medicamente antivirale.

In ciuda unui numar de avantaje modelul marmotei nu este larg raspandit. Contrar unor incercari reusite de reproducere in captivitate a marmotelor, realizate la Universitatea Cornell, unde este gazduita o colonie de marmote, majoritatea laboratoarelor nu au reusit sa reproduca sau au produs din intamplare un numar

limitat de marmote. Prin urmare, majoritatea laboratoarelor trebuie sa se bazeze pe animale salbatice capturate cu sau fara infectii cronice, fapt care aduce complicatii. Animalele salbatice capturate prezinta riscul de a fi infectate si cu alti agenti patogeni cum ar fi paraziti sau virusul rabic, si pot fi purtatoare de ectoparaziti sau alte comorbiditati necunoscute. In plus, cercetarea realizata pe animale salbatice capturate necesita aprobari speciale, cel putin la nivel european, independent de faptul ca aceste animale pot fi capturate ca daunatori agrari fapt ce implica o birocrație coplesitoare cu vama si autoritatile locale. Mai mult, procesul de hibernare poate influenta experimentele, in special daca dupa capturare marmotele raman in hibernare. Un ultim impediment il reprezinta nevoia de a fii anesteziate inainte de orice procedura, deoarece marmotele salbatice capturate cantaesc pana la 7 kg si nu sunt cooperante in timpul experimentelor. Oricum, numarul reactivilor secundari utilizati in procesul de cercetare al marmotelor, desi nu este disponibil pe piata, este in crestere si va deveni o unealta utila in cercetare, in viitor.

Virusul hepatitei vevertice a fost detectat la putin timp dupa VHM (Marion 1980) si ca si VHM dar spre deosebire de VHBD poate induce carcinomul hepatocelular. La gazda lor naturala vevertita, pare a determina simptomatologie mai balanda decat VHM la marmote (Marion 1983; Marion 1983; Marion 1986; Cullen 1996).

Ratele

In cadrul genului avihepadnavirus, prima specie descrisa a fost virusul hepatitei ratelor ce infecteaza ratele domestice (Mason 1980). In mod surprinzator, la pasari infectia cu hepadnavirus este complet apatogena, cel mai probabil datorita faptului ca VHBD se transmite vertical in majoritatea cazurilor. Replicarea virala a VHBD are loc la rate la nivelul sacului amniotic, ficatului, splinei, rinichilor si pancreasului. Desi unele aspecte ale infectiilor cu orthohepadnavirusuri se pot studia in cadrul acestui model, exista si limitari. Spre deosebire de ceea ce s-a observat la mamifere, infectia cu avihepadnavirusuri nu a fost asociata cu distrugerea hepatocitara, de exemplu cu fibroza, ciroza si ulterior carcinomul (care nu s-a dezvoltat in timpul infectiei cronice).

De altfel, pana la 50% din rate dezvolta o boala hepatica neinrudita cu VHBD ale carei efecte se pot suprapune simptomatologiei induse de VHBD. In plus, spre deosebire de infectia determinata de hepadnavirusuri la mamifere, infectia cu VHBD se vindeca spontan in decurs de cateva zile daca nu se transmite pe cale verticala. In cele din urma, in ciuda faptului ca modelul ratei a fost utilizat la scara larga in studiile preclinice (e.g., Chen 2007; Foster 2005; Le Guerhier 2003; Deres 2003; Kumar 2002; Delmas 2002; Kumar 2001; Kumar 2001; Kumar 2001; Seignerres 2001; Peek 2001; Chu 1998; Xin 1998; Seifer 1998; Offensperger 1996; Hafkemeyer 1996; Lofgren 1996; Heijtkink 1993) trebuie avut in vedere faptul ca pasarile au in multe aspecte o biologie diferita de mamifere, problema de care in trecut nu s-a tinut cont.

Modelele de tip soarece

In ciuda faptului ca unele aspecte importante ale infectiilor cu VHB au fost investigate la soarecii transgenici si au condus la rezultate convingatoare pentru majoritatea cercetatorilor, rezultatele obtinute trebuie folosite cu grija. La soarecii transgenici apare expresia antigenelor virale dar nu reflecta obligatoriu situatia

intalnita in infectia naturala, astfel ca unele aspecte observate pot fi considerate artificiale. Totusi, incercarile de a utiliza vectori adenovirali cu genomul VHB inserat pot ramane benefice atata timp cat macar unele aspecte ale infectiei pot fi studiate folosind un model *in vivo* bine caracterizat (Seeger 2007).

O alta abordare utilizeaza soarecii himera care sunt soareci imunosupresati la care s-au transplatat hepatocite umane. S-a dovedit ca acesti soareci sunt susceptibili pentru virusurile hepatitice B si C (Dandri 2001a; Dandri 2001b; Mercer 2001). Avantajul major al modelui acesta este dat de faptul ca hepatocitele umane raman susceptibile pentru VHB o perioada lunga de timp, dar din pacate, aceste modele necesita conditii de crestere extrem de bine controlate fapt ce limiteaza utilizarea lor pe scara larga.

Tupaia

Tupaia, sau scorpia de copac, apartine ordinului zoologic al *Scadentia* cu doua familii *Tupaidae* si *Ptilocercidae*. Pana acum au fost descrise 20 de specii cu 5 genuri. Una dintre specii, *Tupaia belangeri chinesis*, este susceptibila pentru VHB (Su 1999; Yan 1996b; Yan 1996a). Tupaia este relativ un model nou, dar deoarece este susceptibil direct pentru VHB ar putea fi un model de viitor.

Culturile celulare modele pentru fenotiparea *in vitro*

Mutatiile din gena polimerazei pot fi detectate prin metode variate cum ar fi secventierea directa, testele de hibridizare sau clonare. In timp ce secventierea produselor amplificate prin PCR direct din serul pacientului sau din vectori clonati furnizeaza informatii despre modificarile la nivelul aminoacizilor din cadrul populatiei virale majoritare a unui pacient sau a unei clone, testul de detectie a rezistentei prin hibridizare poate detecta simultan mai multe populatii VHB co-existente, cu toate ca pot fi detectate numai mutatiile incluse in test. Totusi, cuantificarea populatiilor minoritare trebuie perfectionata, si trebuie determinat impactul lor clinic. Pana acum nu a fost identificata nici o linie celulara complet permisiva pentru VHB si deci nu s-a realizat nici un sistem de fenotipare. Prin urmare, realizarea testelor de fenotipare pentru fiecare tip de rezistenta clinica ramane dificila. Din aceasta cauza, in practica curenta sunt utilizate testele de genotipare care determina rezistenta. In afara metodelor clasice de analiza prin secventiere (comerciale sau in-house), testele de hibridizare furnizeaza rapid informatii despre mutatiile asociate cu rezistenta din genomul viral. Culturile celulare utilizate pentru studiul rezistentei VHB la antivirale sunt utilizate numai pentru confirmarea mutatiilor noi observate, mutatii care ar putea influenta rezistenta la antivirale. Aceste metode includ in general mutagenza directionata a replicarii genomurilor VHB competente, schimburi intre fragmentele genomice ale VHB, amplificarea prin PCR a genomurilor complete sau clonarea genomurilor VHB amplificate, urmata de transfectia ulterioara a acestor genomuri. Capacitatea replicativa a VHB si susceptibilitatea la medicamente sunt de obicei masurate prin cuantificarea speciilor diferite de acid nucleic viral care se formeaza in sistemul de cultura celulara. Pentru a minimiza variatiile din cadrul testelor de transfectie ulterioara, si pentru o mai buna reproductibilitate a cuantificarii susceptibilitatii la medicamente, genomurile VHB mutante au fost integrate in linii celulare permanente (Yang 2005) sau in baculovirus pentru transfer in celule de mamifere.

(Delaney 2001). Aceste metode sunt mult mai laborioase, dar iau in calcul intreaga variabilitate genetica si permit testarea rezistentei incurcitate la diverse medicamente (Delaney 2001; Zoulim 2006). Desi transfectia sau transductia genomurilor mutante de VHB permit studierea capacitatii replicative si a susceptibilitatii la medicamente, fitnesul viral poate fi stabilit numai partial deoarece in cadrul acestor sisteme nu pot fi investigate primele etape ale ciclului replicativ – adsorbția si fuziunea in hepatocit. Mai mult, este foarte important sa observam ca la nivel mondial aceste metode nu sunt standardizate, si deci este foarte dificil de comparat nivelul de rezistenta determinat cantitativ prin testarea individuala a mutatiilor.

Referinte

- Acs G, Sells MA, Purcell RH, Price P, Engle R, Shapiro M et al. Hepatitis B virus produced by transfected Hep G2 cells causes hepatitis in chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84(13):4641-4644.
- Albin C, Robinson WS. Protein kinase activity in hepatitis B virus. *J Virol* 1980; 34(1):297-302.
- Aldrich CE, Coates L, Wu TT, Newbold J, Tennant BC, Summers J et al. In vitro infection of woodchuck hepatocytes with woodchuck hepatitis virus and ground squirrel hepatitis virus. *Virology* 1989; 172(1):247-252.
- Ando K, Guidotti LG, Wirth S, Ishikawa T, Missale G, Moriyama T et al. Class I-restricted cytotoxic T lymphocytes are directly cytopathic for their target cells in vivo. *J Immunol* 1994; 152(7):3245-3253.
- Arauz-Ruiz P, Norder H, Robertson BH, Magnius LO. Genotype H: a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America. *J Gen Virol* 2002; 83(Pt 8):2059-2073.
- Arauz-Ruiz P, Norder H, Visona KA, Magnius LO. Genotype F prevails in HBV infected patients of hispanic origin in Central America and may carry the precore stop mutant. *J Med Virol* 1997; 51(4):305-312.
- Arauz-Ruiz P, Norder H, Visona KA, Magnius LO. Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Central America reflected in the genetic variability of the small S gene. *J Infect Dis* 1997; 176(4):851-858.
- Arauz-Ruiz P, Sundqvist L, Garcia Z, Taylor L, Visona K, Norder H et al. Presumed common source outbreaks of hepatitis A in an endemic area confirmed by limited sequencing within the VP1 region. *J Med Virol* 2001; 65(3):449-456.
- Bartenschlager R, Schaller H. Hepadnaviral assembly is initiated by polymerase binding to the encapsidation signal in the viral RNA genome. *EMBO J* 1992; 11(9):3413-3420.
- Block TM, Lu X, Mehta AS, Blumberg BS, Tennant B, Ebling M et al. Treatment of chronic hepadnavirus infection in a woodchuck animal model with an inhibitor of protein folding and trafficking. *Nat Med* 1998; 4(5):610-614.
- Block TM, Lu X, Platt FM, Foster GR, Gerlich WH, Blumberg BS et al. Secretion of human hepatitis B virus is inhibited by the imino sugar N-butyldeoxyjirimycin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(6):2235-2239.
- Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S. A "NEW" ANTIGEN IN LEUKEMIA SERA. *JAMA* 1965; 191:541-546.
- Blumberg BS, Gerstley BJ, Hungerford DA, London WT, Sutnick AI. A serum antigen (Australia antigen) in Down's syndrome, leukemia, and hepatitis. *Ann Intern Med* 1967; 66(5):924-931.
- Blumberg BS, Sutnick AI, London WT. Hepatitis and leukemia: their relation to Australia antigen. *Bull N Y Acad Med* 1968; 44(12):1566-1586.

- Bock CT, Schranz P, Schroder CH, Zentgraf H. Hepatitis B virus genome is organized into nucleosomes in the nucleus of the infected cell. *Virus Genes* 1994; 8(3):215-229.
- Bock CT, Schwinn S, Locarnini S, Fyfe J, Manns MP, Trautwein C et al. Structural organization of the hepatitis B virus minichromosome. *J Mol Biol* 2001; 307(1):183-196.
- Caselmann WH, Meyer M, Kekule AS, Lauer U, Hofschneider PH, Koshy R. A trans-activator function is generated by integration of hepatitis B virus preS/S sequences in human hepatocellular carcinoma DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(8):2970-2974.
- Cattaneo R, Will H, Schaller H. Hepatitis B virus transcription in the infected liver. *EMBO J* 1984; 3(9):2191-2196.
- Chen MT, Billaud JN, Sallberg M, Guidotti LG, Chisari FV, Jones J et al. A function of the hepatitis B virus precore protein is to regulate the immune response to the core antigen. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(41):14913-14918.
- Chen ZY, Cheng AC, Wang MS, Xu DW, Zeng W, Li Z. Antiviral effects of PNA in duck hepatitis B virus infection model. *Acta Pharmacol Sin* 2007; 28(10):1652-1658.
- Chouteau P, Le Seyec J, Cannie I, Nassal M, Guguen-Guillouzo C, Gripon P. A short N-proximal region in the large envelope protein harbors a determinant that contributes to the species specificity of human hepatitis B virus. *J Virol* 2001; 75(23):11565-11572.
- Chu CK, Boudinot FD, Peek SF, Hong JH, Choi Y, Korba BE et al. Preclinical investigation of L-FMAU as an anti-hepatitis B virus agent. *Antivir Ther* 1998; 3(Suppl 3):113-121.
- Courtois G, Morgan JG, Campbell LA, Fourel G, Crabtree GR. Interaction of a liver-specific nuclear factor with the fibrinogen and alpha 1-antitrypsin promoters. *Science* 1987; 238(4827):688-692.
- Cullen JM, Marion PL. Non-neoplastic liver disease associated with chronic ground squirrel hepatitis virus infection. *Hepatology* 1996; 23(6):1324-1329.
- Dandri M, Burda MR, Gocht A, Torok E, Pollok JM, Rogler CE et al. Woodchuck hepatocytes remain permissive for hepadnavirus infection and mouse liver repopulation after cryopreservation. *Hepatology* 2001; 34(4 Pt 1):824-833.
- Dandri M, Burda MR, Torok E, Pollok JM, Iwanska A, Sommer G et al. Repopulation of mouse liver with human hepatocytes and in vivo infection with hepatitis B virus. *Hepatology* 2001; 33(4):981-988.
- Dane DS, Cameron CH, Briggs M. Virus-like particles in serum of patients with Australia-antigen-associated hepatitis. *Lancet* 1970; 1(7649):695-698.
- Daub H, Blencke S, Habenberger P, Kurtenbach A, Dennenmoser J, Wissing J et al. Identification of SRPK1 and SRPK2 as the major cellular protein kinases phosphorylating hepatitis B virus core protein. *J Virol* 2002; 76(16):8124-8137.
- Delaney WE, Edwards R, Colledge D, Shaw T, Torresi J, Miller TG et al. Cross-resistance testing of antihepadnaviral compounds using novel recombinant baculoviruses which encode drug-resistant strains of hepatitis B virus. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(6):1705-1713.
- Delmas J, Schorr O, Jamard C, Gibbs C, Trepo C, Hantz O et al. Inhibitory effect of adefovir on viral DNA synthesis and covalently closed circular DNA formation in duck hepatitis B virus-infected hepatocytes in vivo and in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46(2):425-433.
- Deres K, Schroder CH, Paessens A, Goldmann S, Hacker HJ, Weber O et al. Inhibition of hepatitis B virus replication by drug-induced depletion of nucleocapsids. *Science* 2003; 299(5608):893-896.
- Doria M, Klein N, Lucito R, Schneider RJ. The hepatitis B virus HBx protein is a dual specificity cytoplasmic activator of Ras and nuclear activator of transcription factors. *EMBO J* 1995; 14(19):4747-4757.

- Enders GH, Ganem D, Varmus H. Mapping the major transcripts of ground squirrel hepatitis virus: the presumptive template for reverse transcriptase is terminally redundant. *Cell* 1985; 42(1):297-308.
- Foster WK, Miller DS, Scougall CA, Kotlarski I, Colonno RJ, Jilbert AR. Effect of antiviral treatment with entecavir on age- and dose-related outcomes of duck hepatitis B virus infection. *J Virol* 2005; 79(9):5819-5832.
- Fung SK, Lok AS. Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection? *Hepatology* 2004; 40(4):790-792.
- Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection--natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350(11):1118-1129.
- Gerlich WH, Goldmann U, Muller R, Stibbe W, Wolff W. Specificity and localization of the hepatitis B virus-associated protein kinase. *J Virol* 1982; 42(3):761-766.
- Gripon P, Cannie I, Urban S. Efficient inhibition of hepatitis B virus infection by acylated peptides derived from the large viral surface protein. *J Virol* 2005; 79(3):1613-1622.
- Gripon P, Diot C, Guguen-Guillouzo C. Reproducible high level infection of cultured adult human hepatocytes by hepatitis B virus: effect of polyethylene glycol on adsorption and penetration. *Virology* 1993; 192(2):534-540.
- Gripon P, Diot C, Theze N, Fourel I, Loreal O, Brechot C et al. Hepatitis B virus infection of adult human hepatocytes cultured in the presence of dimethyl sulfoxide. *J Virol* 1988; 62(11):4136-4143.
- Guidotti LG, Ando K, Hobbs MV, Ishikawa T, Runkel L, Schreiber RD et al. Cytotoxic T lymphocytes inhibit hepatitis B virus gene expression by a noncytolytic mechanism in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91(9):3764-3768.
- Guidotti LG, Borrow P, Brown A, McClary H, Koch R, Chisari FV. Noncytopathic clearance of lymphocytic choriomeningitis virus from the hepatocyte. *J Exp Med* 1999; 189(10):1555-1564.
- Guidotti LG, Guilhot S, Chisari FV. Interleukin-2 and alpha/beta interferon down-regulate hepatitis B virus gene expression in vivo by tumor necrosis factor-dependent and -independent pathways. *J Virol* 1994; 68(3):1265-1270.
- Guidotti LG, Ishikawa T, Hobbs MV, Matzke B, Schreiber R, Chisari FV. Intracellular inactivation of the hepatitis B virus by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity* 1996; 4(1):25-36.
- Guidotti LG, McClary H, Loudis JM, Chisari FV. Nitric oxide inhibits hepatitis B virus replication in the livers of transgenic mice. *J Exp Med* 2000; 191(7):1247-1252.
- Guidotti LG, Rochford R, Chung J, Shapiro M, Purcell R, Chisari FV. Viral clearance without destruction of infected cells during acute HBV infection. *Science* 1999; 284(5415):825-829.
- Guo H, Mason WS, Aldrich CE, Saputelli JR, Miller DS, Jilbert AR et al. Identification and characterization of avihepadnaviruses isolated from exotic anseriformes maintained in captivity. *J Virol* 2005; 79(5):2729-2742.
- Guo W, Chen M, Yen TS, Ou JH. Hepatocyte-specific expression of the hepatitis B virus core promoter depends on both positive and negative regulation. *Mol Cell Biol* 1993; 13(1):443-448.
- Hafkemeyer P, Keppler-Hafkemeyer A, al Haya MA, Janta-Lipinski M, Matthes E, Lehmann C et al. Inhibition of duck hepatitis B virus replication by 2',3'-dideoxy-3'-fluoroguanosine in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40(3):792-794.
- Hagelstein J, Fathinejad F, Stremmel W, Galle PR. pH-independent uptake of hepatitis B virus in primary human hepatocytes. *Virology* 1997; 229(1):292-294.
- Heermann KH, Goldmann U, Schwartz W, Seyffarth T, Baumgarten H, Gerlich WH. Large surface proteins of hepatitis B virus containing the pre-s sequence. *J Virol* 1984; 52(2):396-402.

- Heijntink RA, De Wilde GA, Kruining J, Berk L, Balzarini J, De Clercq E et al. Inhibitory effect of 9-(2-phosphorylmethoxyethyl)-adenine (PMEA) on human and duck hepatitis B virus infection. *Antiviral Res* 1993; 21(2):141-153.
- Henkler F, Hoare J, Waseem N, Goldin RD, McGarvey MJ, Koshy R et al. Intracellular localization of the hepatitis B virus HBx protein. *J Gen Virol* 2001; 82(Pt 4):871-882.
- Hirsch RC, Lavine JE, Chang LJ, Varmus HE, Ganem D. Polymerase gene products of hepatitis B viruses are required for genomic RNA packaging as well as for reverse transcription. *Nature* 1990; 344(6266):552-555.
- Hu X, Margolis HS, Purcell RH, Ebert J, Robertson BH. Identification of hepatitis B virus indigenous to chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97(4):1661-1664.
- Huang MJ, Summers J. Infection initiated by the RNA pregenome of a DNA virus. *J Virol* 1991; 65(10):5435-5439.
- Ishikawa T, Ganem D. The pre-S domain of the large viral envelope protein determines host range in avian hepatitis B viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(14):6259-6263.
- Jilbert AR, Wu TT, England JM, Hall PM, Carp NZ, O'Connell AP et al. Rapid resolution of duck hepatitis B virus infections occurs after massive hepatocellular involvement. *J Virol* 1992; 66(3):1377-1388.
- Kajino K, Jilbert AR, Saputelli J, Aldrich CE, Cullen J, Mason WS. Woodchuck hepatitis virus infections: very rapid recovery after a prolonged viremia and infection of virtually every hepatocyte. *J Virol* 1994; 68(9):5792-5803.
- Kakimi K, Lane TE, Chisari FV, Guidotti LG. Cutting edge: Inhibition of hepatitis B virus replication by activated NK T cells does not require inflammatory cell recruitment to the liver. *J Immunol* 2001; 167(12):6701-6705.
- Kann M, Bischof A, Gerlich WH. In vitro model for the nuclear transport of the hepadnavirus genome. *J Virol* 1997; 71(2):1310-1316.
- Kann M, Thomssen R, Kochel HG, Gerlich WH. Characterization of the endogenous protein kinase activity of the hepatitis B virus. *Arch Virol Suppl* 1993; 8:53-62.
- Kaplan PM, Greenman RL, Gerin JL, Purcell RH, Robinson WS. DNA polymerase associated with human hepatitis B antigen. *J Virol* 1973; 12(5):995-1005.
- Kau JH, Ting LP. Phosphorylation of the core protein of hepatitis B virus by a 46-kilodalton serine kinase. *J Virol* 1998; 72(5):3796-3803.
- Kekule AS, Lauer U, Meyer M, Caselmann WH, Hofschneider PH, Koshy R. The preS2/S region of integrated hepatitis B virus DNA encodes a transcriptional transactivator. *Nature* 1990; 343(6257):457-461.
- Kim SH, Kim SH, Oh HK, Ryu CJ, Park SY, Hong HJ. In vivo hepatitis B virus-neutralizing activity of an anti-HBsAg humanized antibody in chimpanzees. *Exp Mol Med* 2008; 40(1):145-149.
- Klingmuller U, Schaller H. Hepadnavirus infection requires interaction between the viral pre-S domain and a specific hepatocellular receptor. *J Virol* 1993; 67(12):7414-7422.
- Kock J, Borst EM, Schlicht HJ. Uptake of duck hepatitis B virus into hepatocytes occurs by endocytosis but does not require passage of the virus through an acidic intracellular compartment. *J Virol* 1996; 70(9):5827-5831.
- Komiya Y, Katayama K, Yugi H, Mizui M, Matsukura H, Tomoguri T et al. Minimum infectious dose of hepatitis B virus in chimpanzees and difference in the dynamics of viremia between genotype A and genotype C. *Transfusion* 2008; 48(2):286-294.
- Kumar R, Nath M, Tyrrell DL. Design and synthesis of novel 5-substituted acyclic pyrimidine nucleosides as potent and selective inhibitors of hepatitis B virus. *J Med Chem* 2002; 45(10):2032-2040.

- Kumar R, Rai D, Sharma SK, Saffran HA, Blush R, Tyrrell DL. Synthesis and antiviral activity of novel 5-(1-cyanamido-2-haloethyl) and 5-(1-hydroxy(or methoxy)-2-azidoethyl) analogues of uracil nucleosides. *J Med Chem* 2001; 44(21):3531-3538.
- Kumar R, Sharma N, Nath M, Saffran HA, Tyrrell DL. Synthesis and antiviral activity of novel acyclic nucleoside analogues of 5-(1-azido-2-haloethyl)uracils. *J Med Chem* 2001; 44(24):4225-4229.
- Kumar R, Tyrrell DL. Novel 5-vinyl pyrimidine nucleosides with potent anti-hepatitis B virus activity. *Bioorg Med Chem Lett* 2001; 11(22):2917-2920.
- Lambert V, Fernholz D, Sprengel R, Fourel I, Deleage G, Wildner G et al. Virus-neutralizing monoclonal antibody to a conserved epitope on the duck hepatitis B virus pre-S protein. *J Virol* 1990; 64(3):1290-1297.
- Lan YT, Li J, Liao W, Ou J. Roles of the three major phosphorylation sites of hepatitis B virus core protein in viral replication. *Virology* 1999; 259(2):342-348.
- Lanford RE, Chavez D, Barrera A, Brasky KM. An infectious clone of woolly monkey hepatitis B virus. *J Virol* 2003; 77(14):7814-7819.
- Lanford RE, Chavez D, Brasky KM, Burns RB, III, Rico-Hesse R. Isolation of a hepadnavirus from the woolly monkey, a New World primate. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95(10):5757-5761.
- Lanford RE, Kim YH, Lee H, Notvall L, Beames B. Mapping of the hepatitis B virus reverse transcriptase TP and RT domains by transcomplementation for nucleotide priming and by protein-protein interaction. *J Virol* 1999; 73(3):1885-1893.
- Lanford RE, Notvall L, Lee H, Beames B. Transcomplementation of nucleotide priming and reverse transcription between independently expressed TP and RT domains of the hepatitis B virus reverse transcriptase. *J Virol* 1997; 71(4):2996-3004.
- Lara-Pezzi E, Serrador JM, Montoya MC, Zamora D, Yanez-Mo M, Carretero M et al. The hepatitis B virus X protein (HBx) induces a migratory phenotype in a CD44-dependent manner: possible role of HBx in invasion and metastasis. *Hepatology* 2001; 33(5):1270-1281.
- Le Guerhier F, Thermet A, Guerret S, CVHEallier M, Jamard C, Gibbs CS et al. Antiviral effect of adefovir in combination with a DNA vaccine in the duck hepatitis B virus infection model. *J Hepatol* 2003; 38(3):328-334.
- Liao W, Ou JH. Phosphorylation and nuclear localization of the hepatitis B virus core protein: significance of serine in the three repeated SPRRR motifs. *J Virol* 1995; 69(2):1025-1029.
- Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med* 2004; 351(15):1521-1531.
- Lien JM, Aldrich CE, Mason WS. Evidence that a capped oligoribonucleotide is the primer for duck hepatitis B virus plus-strand DNA synthesis. *J Virol* 1986; 57(1):229-236.
- Lien JM, Aldrich CE, Mason WS. Evidence that a capped oligoribonucleotide is the primer for duck hepatitis B virus plus-strand DNA synthesis. *J Virol* 1986; 57(1):229-236.
- Lien JM, Petcu DJ, Aldrich CE, Mason WS. Initiation and termination of duck hepatitis B virus DNA synthesis during virus maturation. *J Virol* 1987; 61(12):3832-3840.
- Loeb DD, Hirsch RC, Ganem D. Sequence-independent RNA cleavages generate the primers for plus strand DNA synthesis in hepatitis B viruses: implications for other reverse transcribing elements. *EMBO J* 1991; 10(11):3533-3540.
- Lofgren B, Vickery K, Zhang YY, Nordenfelt E. 2',3'-dideoxy-3'-fluoroguanosine inhibits duck hepatitis B virus in vivo. *J Viral Hepat* 1996; 3(2):61-65.
- Lopez-Cabrera M, Letovsky J, Hu KQ, Siddiqui A. Multiple liver-specific factors bind to the hepatitis B virus core/pregenomic promoter: trans-activation and repression by

- CCAAT/enhancer binding protein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(13):5069-5073.
- Lopez-Cabrera M, Letovsky J, Hu KQ, Siddiqui A. Transcriptional factor C/EBP binds to and transactivates the enhancer element II of the hepatitis B virus. *Virology* 1991; 183(2):825-829.
- Lu X, Tran T, Simsek E, Block TM. The alkylated imino sugar, n-(n-Nonyl)-deoxygalactonojirimycin, reduces the amount of hepatitis B virus nucleocapsid in tissue culture. *J Virol* 2003; 77(22):11933-11940.
- Lubeck MD, Davis AR, Chengalvala M, Natuk RJ, Morin JE, Molnar-Kimber K et al. Immunogenicity and efficacy testing in chimpanzees of an oral hepatitis B vaccine based on live recombinant adenovirus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86(17):6763-6767.
- Lutwick LI, Robinson WS. DNA synthesized in the hepatitis B Dane particle DNA polymerase reaction. *J Virol* 1977; 21(1):96-104.
- Marion PL, Knight SS, Salazar FH, Popper H, Robinson WS. Ground squirrel hepatitis virus infection. *Hepatology* 1983; 3(4):519-527.
- Marion PL, Oshiro LS, Regnery DC, Scullard GH, Robinson WS. A virus in Beechey ground squirrels that is related to hepatitis B virus of humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980; 77(5):2941-2945.
- Marion PL, Robinson WS. Hepadna viruses: hepatitis B and related viruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 1983; 105:99-121.
- Marion PL, Van Davelaar MJ, Knight SS, Salazar FH, Garcia G, Popper H et al. Hepatocellular carcinoma in ground squirrels persistently infected with ground squirrel hepatitis virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83(12):4543-4546.
- Mason WS, Seal G, Summers J. Virus of Pekin ducks with structural and biological relatedness to human hepatitis B virus. *J Virol* 1980; 36(3):829-836.
- Mathew J, Geerts A, Burt AD. Pathobiology of hepatic stellate cells. *Hepatogastroenterology* 1996; 43(7):72-91.
- Maynard M, Parvaz P, Durantal S, CVHEallier M, CVHEallier P, Lot M et al. Sustained HBs seroconversion during lamivudine and adefovir dipivoxil combination therapy for lamivudine failure. *J Hepatol* 2005; 42(2):279-281.
- Mercer DF, Schiller DE, Elliott JF, Douglas DN, Hao C, Rinfret A et al. Hepatitis C virus replication in mice with chimeric human livers. *Nat Med* 2001; 7(8):927-933.
- Murray JM, Wieland SF, Purcell RH, Chisari FV. Dynamics of hepatitis B virus clearance in chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102(49):17780-17785.
- Newbold JE, Xin H, Tencza M, Sherman G, Dean J, Bowden S et al. The covalently closed duplex form of the hepadnavirus genome exists in situ as a heterogeneous population of viral minichromosomes. *J Virol* 1995; 69(6):3350-3357.
- Norder H, Arauz-Ruiz P, Blitz L, Pujol FH, EcVHEarria JM, Magnius LO. The T(1858) variant predisposing to the precore stop mutation correlates with one of two major genotype F hepatitis B virus clades. *J Gen Virol* 2003; 84(Pt 8):2083-2087.
- Norder H, Courouze AM, Magnius LO. Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus, four of which represent two new genotypes. *Virology* 1994; 198(2):489-503.
- Ochiya T, Tsurimoto T, Ueda K, Okubo K, Shiozawa M, Matsubara K. An in vitro system for infection with hepatitis B virus that uses primary human fetal hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989; 86(6):1875-1879.
- Offensperger WB, Offensperger S, Keppler-Hafkemeyer A, Hafkemeyer P, Blum HE. Antiviral activities of penciclovir and famciclovir on duck hepatitis B virus in vitro and in vivo. *Antivir Ther* 1996; 1(3):141-146.

- Ogata N, Miller RH, Ishak KG, Purcell RH. The complete nucleotide sequence of a pre-core mutant of hepatitis B virus implicated in fulminant hepatitis and its biological characterization in chimpanzees. *Virology* 1993; 194(1):263-276.
- Okochi K, Mayumi M, Haguino Y, Saito N. Evaluation of frequency of Australia antigen in blood donors of Tokyo by means of immune adherence hemagglutination technique. *Vox Sang* 1970; 19(3):332-337.
- Okochi K, Murakami S. Observations on Australia antigen in Japanese. *Vox Sang* 1968; 15(5):374-385.
- Okochi K, Murakami S. Observations on Australia antigen in Japanese. *Vox Sang* 1968; 15:374-85. *Vox Sang* 1993; 65(1):75.
- Papatheodoridis GV, Petraki K, Cholongitas E, Kanta E, Ketikoglou I, Manesis EK. Impact of interferon-alpha therapy on liver fibrosis progression in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Viral Hepat* 2005; 12(2):199-206.
- Pasquetto V, Wieland SF, Uprichard SL, Tripodi M, Chisari FV. Cytokine-sensitive replication of hepatitis B virus in immortalized mouse hepatocyte cultures. *J Virol* 2002; 76(11):5646-5653.
- Peek SF, Cote PJ, Jacob JR, Toshkov IA, Hornbuckle WE, Baldwin BH et al. Antiviral activity of clevudine [L-FMAU, (1-(2-fluoro-5-methyl-beta, L-arabinofuranosyl) uracil)] against woodchuck hepatitis virus replication and gene expression in chronically infected woodchucks (*Marmota monax*). *Hepatology* 2001; 33(1):254-266.
- Pinzani M. Novel insights into the biology and physiology of the Ito cell. *Pharmacol Ther* 1995; 66(2):387-412.
- Pride MW, Bailey CR, Muchmore E, Thanavala Y. Evaluation of B and T-cell responses in chimpanzees immunized with Hepagene, a hepatitis B vaccine containing pre-S1, pre-S2 gene products. *Vaccine* 1998; 16(6):543-550.
- Pugh JC, Di Q, Mason WS, Simmons H. Susceptibility to duck hepatitis B virus infection is associated with the presence of cell surface receptor sites that efficiently bind viral particles. *J Virol* 1995; 69(8):4814-4822.
- Pugh JC, Summers JW. Infection and uptake of duck hepatitis B virus by duck hepatocytes maintained in the presence of dimethyl sulfoxide. *Virology* 1989; 172(2):564-572.
- Rabe B, Vlachou A, Pante N, Helenius A, Kann M. Nuclear import of hepatitis B virus capsids and release of the viral genome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(17):9849-9854.
- Raney AK, Zhang P, McLachlan A. Regulation of transcription from the hepatitis B virus large surface antigen promoter by hepatocyte nuclear factor 3. *J Virol* 1995; 69(6):3265-3272.
- Rigg RJ, Schaller H. Duck hepatitis B virus infection of hepatocytes is not dependent on low pH. *J Virol* 1992; 66(5):2829-2836.
- Rizzetto M, Tassopoulos NC, Goldin RD, Esteban R, Santantonio T, Heathcote EJ et al. Extended lamivudine treatment in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2005; 42(2):173-179.
- Robinson WS. DNA and DNA polymerase in the core of the Dane particle of hepatitis B. *Am J Med Sci* 1975; 270(1):151-159.
- Robinson WS. DNA and DNA polymerase of a virus-like particle in hepatitis B. *Dev Biol Stand* 1975; 30:23-37.
- Robinson WS, Clayton DA, Greenman RL. DNA of a human hepatitis B virus candidate. *J Virol* 1974; 14(2):384-391.
- Robinson WS, Greenman RL. DNA polymerase in the core of the human hepatitis B virus candidate. *J Virol* 1974; 13(6):1231-1236.
- Robinson WS, Lutwick LI. The virus of hepatitis, type B (first of two parts). *N Engl J Med* 1976; 295(21):1168-1175.

- Robinson WS, Lutwick LI. The virus of hepatitis, type B. (Second of two parts). *N Engl J Med* 1976; 295(22):1232-1236.
- Rockey DC. Antifibrotic therapy in chronic liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3(2):95-107.
- Sallberg M, Hughes J, Javadian A, Ronlov G, Hultgren C, Townsend K et al. Genetic immunization of chimpanzees chronically infected with the hepatitis B virus, using a recombinant retroviral vector encoding the hepatitis B virus core antigen. *Hum Gene Ther* 1998; 9(12):1719-1729.
- Schaller H, Fischer M. Transcriptional control of hepadnavirus gene expression. *Curr Top Microbiol Immunol* 1991; 168:21-39.
- Schildgen O, Fiedler M, Dahmen U, Li J, Lohrengel B, Lu M et al. Fluctuation of the cytokine expression in the liver during the chronic woodchuck hepatitis virus (WHV) infection is not related to viral load. *Immunol Lett* 2006; 102(1):31-37.
- Schildgen O, Roggendorf M, Lu M. Identification of a glycosylation site in the woodchuck hepatitis virus preS2 protein and its role in protein trafficking. *J Gen Virol* 2004; 85(Pt 4):787-793.
- Schmitt S, Glebe D, Alving K, Tolle TK, Linder M, Geyer H et al. Analysis of the pre-. *J Biol Chem* 1999; 274(17):11945-11957.
- Schmitt S, Glebe D, Tolle TK, Lochnit G, Linder D, Geyer R et al. Structure of pre-. *J Gen Virol* 2004; 85(Pt 7):2045-2053.
- Schultz U, Chisari FV. Recombinant duck interferon gamma inhibits duck hepatitis B virus replication in primary hepatocytes. *J Virol* 1999; 73(4):3162-3168.
- Schultz U, Summers J, Staeheli P, Chisari FV. Elimination of duck hepatitis B virus RNA-containing capsids in duck interferon-alpha-treated hepatocytes. *J Virol* 1999; 73(7):5459-5465.
- Seeger C, Baldwin B, Hornbuckle WE, Yeager AE, Tennant BC, Cote P et al. Woodchuck hepatitis virus is a more efficient oncogenic agent than ground squirrel hepatitis virus in a common host. *J Virol* 1991; 65(4):1673-1679.
- Seeger C, Ganem D, Varmus HE. Biochemical and genetic evidence for the hepatitis B virus replication strategy. *Science* 1986; 232(4749):477-484.
- Seeger C, Marion PL, Ganem D, Varmus HE. In vitro recombinants of ground squirrel and woodchuck hepatitis viral DNAs produce infectious virus in squirrels. *J Virol* 1987; 61(10):3241-3247.
- Seeger C, Zoulim F, Mason WS. Hepadnaviruses. In: Knipe DM, et al., editors. *Fields Virology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007: 2977-3029.
- Seifer M, Hamatake RK, Colonno RJ, Standing DN. In vitro inhibition of hepadnavirus polymerases by the triphosphates of BMS-200475 and lobucavir. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42(12):3200-3208.
- Seigneres B, Aguesse-Germon S, Pichoud C, Vuillermoz I, Jamard C, Trepo C et al. Duck hepatitis B virus polymerase gene mutants associated with resistance to lamivudine have a decreased replication capacity in vitro and in vivo. *J Hepatol* 2001; 34(1):114-122.
- Starkman SE, MacDonald DM, Lewis JC, Holmes EC, Simmonds P. Geographic and species association of hepatitis B virus genotypes in non-human primates. *Virology* 2003; 314(1):381-393.
- Su JJ, Qin GZ, Yan RQ, Huang DR, Yang C, Lotlikar PD. The expression of insulin-like growth factor II, hepatitis B virus X antigen and p21 in experimental hepatocarcinogenesis in tree shrews. *Ann Acad Med Singapore* 1999; 28(1):62-66.
- Summers J, O'Connell A, Millman I. Genome of hepatitis B virus: restriction enzyme cleavage and structure of DNA extracted from Dane particles. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; 72(11):4597-4601.

- Summers J, Smolec JM, Snyder R. A virus similar to human hepatitis B virus associated with hepatitis and hepatoma in woodchucks. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1978; 75(9):4533-4537.
- Sureau C, Eichberg JW, Hubbard GB, Romet-Lemonne JL, Essex M. A molecularly cloned hepatitis B virus produced in vitro is infectious in a chimpanzee. *J Virol* 1988; 62(8):3064-3067.
- Testut P, Renard CA, Terradillos O, Vitvitski-Trepo L, Tekaia F, Degott C et al. A new hepadnavirus endemic in arctic ground squirrels in Alaska. *J Virol* 1996; 70(7):4210-4219.
- Thimme R, Wieland S, Steiger C, Ghayeb J, Reimann KA, Purcell RH et al. CD8(+) T cells mediate viral clearance and disease pathogenesis during acute hepatitis B virus infection. *J Virol* 2003; 77(1):68-76.
- Thornton SM, Walker S, Zuckerman JN. Management of hepatitis B virus infections in two gibbons and a western lowland gorilla in a zoological collection. *Vet Rec* 2001; 149(4):113-115.
- Tsui LV, Guidotti LG, Ishikawa T, Chisari FV. Posttranscriptional clearance of hepatitis B virus RNA by cytotoxic T lymphocyte-activated hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92(26):12398-12402.
- Tuttleman JS, Pugh JC, Summers JW. In vitro experimental infection of primary duck hepatocyte cultures with duck hepatitis B virus. *J Virol* 1986; 58(1):17-25.
- Urban S, Gripon P. Inhibition of duck hepatitis B virus infection by a myristoylated pre-S peptide of the large viral surface protein. *J Virol* 2002; 76(4):1986-1990.
- Verschoor EJ, Warren KS, Langenhuijzen S, Heriyanto, Swan RA, Heeney JL. Analysis of two genomic variants of orang-utan hepadnavirus and their relationship to other primate hepatitis B-like viruses. *J Gen Virol* 2001; 82(Pt 4):893-897.
- Wahl M, Iwarson S, Snoy P, Gerety RJ. Failure of hepatitis B immune globulin to protect against exp infection in chimpanzees. *J Hepatol* 1989; 9(2):198-203.
- Wang GH, Seeger C. The reverse transcriptase of hepatitis B virus acts as a protein primer for viral DNA synthesis. *Cell* 1992; 71(4):663-670.
- Warren KS, Heeney JL, Swan RA, Heriyanto, Verschoor EJ. A new group of hepadnaviruses naturally infecting orangutans (*Pongo pygmaeus*). *J Virol* 1999; 73(9):7860-7865.
- Watts NR, Conway JF, Cheng N, Stahl SJ, Belnap DM, Steven AC et al. The morphogenic linker peptide of HBV capsid protein forms a mobile array on the interior surface. *EMBO J* 2002; 21(5):876-884.
- Weber M, Bronsema V, Bartos H, Bosserhoff A, Bartenschlager R, Schaller H. Hepadnavirus P protein utilizes a tyrosine residue in the TP domain to prime reverse transcription. *J Virol* 1994; 68(5):2994-2999.
- Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, Wursthorn K, Petersen J, Lau G et al. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology* 2004; 126(7):1750-1758.
- Wieland S, Thimme R, Purcell RH, Chisari FV. Genomic analysis of the host response to hepatitis B virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101(17):6669-6674.
- Will H, Darai G, Deinhardt F, Schellekens H, Schaller H. Hepatitis B after infection of a chimpanzee with cloned HBV DNA. *Dev Biol Stand* 1983; 54:131-133.
- Will H, Reiser W, Weimer T, Pfaff E, Buscher M, Sprengel R et al. Replication strategy of human hepatitis B virus. *J Virol* 1987; 61(3):904-911.
- Xin W, Wang JH. Treatment of duck hepatitis B virus by antisense poly-2'-O-(2,4-dinitrophenyl)-oligoribonucleotides. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev* 1998; 8(6):459-468.

- Yan RQ, Su JJ, Huang DR, Gan YC, Yang C, Huang GH. Human hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. I. Experimental infection of tree shrews with hepatitis B virus. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; 122(5):283-288.
- Yan RQ, Su JJ, Huang DR, Gan YC, Yang C, Huang GH. Human hepatitis B virus and hepatocellular carcinoma. II. Experimental induction of hepatocellular carcinoma in tree shrews exposed to hepatitis B virus and aflatoxin B1. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; 122(5):289-295.
- Yang H, Qi X, Sabogal A, Miller M, Xiong S, Delaney WE. Cross-resistance testing of next-generation nucleoside and nucleotide analogues against lamivudine-resistant HBV. *Antivir Ther* 2005; 10(5):625-633.
- Yoshida EM, Ramji A, Chatur N, Davis JE, Owen DA. Regression of cirrhosis associated with hepatitis B e (HBe) antigen-negative chronic hepatitis B infection with prolonged lamivudine therapy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16(3):355-358.
- Zhang Z, Torii N, Hu Z, Jacob J, Liang TJ. X-deficient woodchuck hepatitis virus mutants behave like attenuated viruses and induce protective immunity in vivo. *J Clin Invest* 2001; 108(10):1523-1531.
- Zoulim F. In vitro models for studying hepatitis B virus drug resistance. *Semin Liver Dis* 2006; 26(2):171-180.
- Zoulim F, Saputelli J, Seeger C. Woodchuck hepatitis virus X protein is required for viral infection in vivo. *J Virol* 1994; 68(3):2026-2030.
- Zoulim F, Seeger C. Reverse transcription in hepatitis B viruses is primed by a tyrosine residue of the polymerase. *J Virol* 1994; 68(1):6-13.
- Zuckerman AJ, Scalise G, Mazaheri MR, Kremastinou J, Howard CR, Sorensen K. Transmission of hepatitis B to the rhesus monkey. *Dev Biol Stand* 1975; 30:236-239.
- Zuckerman AJ, Thornton A, Howard CR, Tsiquaye KN, Jones DM, Brambell MR. Hepatitis B outbreak among chimpanzees at the London Zoo. *Lancet* 1978; 2(8091):652-654.

Capitolul 6: VHC - Virusologie

Bernd Kupfer

Istoric

Virusul hepatitei C (VHC) reprezintă o cauză majoră a bolii hepatice progresive, la nivel mondial fiind responsabil pentru aproximativ 170 milioane de cazuri de infecție la om. Infecția cu VHC se cronicizează în peste 80% din cazuri, principalele complicații ale infecției cu VHC fiind fibroza hepatică severă și ciroza, 30-50% dintre cei cu ciroza dezvoltând carcinom hepatocelular (Tong 1995; Poynard 1997).

Până în 1975, fuseseră identificate numai două tipuri de virusuri hepatice, “virusul hepatitei infectioase” (virusul hepatitei A, VHA) și “virusul hepatitei serice” (virusul hepatitei B, VHB). Cu toate acestea, alte virusuri fuseseră excluse de la etiologia a 65% din hepatitele post-transfuzionale. Astfel, aceste hepatite au fost denumite “hepatite non-A, non-B” (HNANB) (Feinstone 1975). Inocularea cimpanzeilor (*Pan troglodytes*) cu produse de sânge provenite de la oameni cu hepatite NANB a dus la creșteri persistente ale transaminazelor serice și a indicat faptul că un agent infecțios era responsabil de această afecțiune (Alter 1978; Hollinger 1978).

Prin urmare, s-a demonstrat că agentul HNANB putea fi inactivat de cloroform (Feinstone 1983). De altfel, se raportase că agentul infecțios putea trece prin filtre membranare de 80 nm (Bradley 1985). Toate acestea au sugerat că agentul etiologic al HNANB ar putea fi un virus mic anvelopat cu un înveliș lipidic. Lipsa unui sistem de culturi celulare potrivit pentru cultivarea agentului HNANB și disponibilitatea limitată a cimpanzeilor, au împiedicat timp de mai mulți ani caracterizarea agentului etiologic al HNANB. În 1989, cu ajutorul unei strategii noi de clonare a acizilor nucleici proveniți din plasma cimpanzeilor infectați, a fost caracterizat genomul principalului agent etiologic al HNANB (Choo 1989). Clona ADNc 5-1-1 codifica epitopi imunogeni care interacționau cu serul provenit de la indivizi infectați cu HNANB (Choo 1989; Kuo 1989). Virusul infecțios care era principalul agent etiologic al HNANB a fost astfel denumit virusul hepatitei C (VHC).

Taxonomie și genotipuri

VHC este un virus mic, anvelopat, cu ARN simplu spiralat de aproximativ 9.6 kb, cu polaritate pozitivă. Face parte din familia *Flaviviridae*. Această familie de virusuri cuprinde trei genuri, flavivirus, pestivirus, and hepacivirus. Pana acum au fost identificați și clasificați numai doi membri ai genului hepacivirus, VHC și virusul GB-B (VGB-B), un virus încă neclasificat care a fost descoperit odată cu virusul GB-A (VGB-A) la un chirurg cu hepatită activă (Thiel 2005; Ohba 1996; Simons 1995). Cu toate acestea, gazda naturală a virusurilor GB-B și GB-C este reprezentată de maimuțele din speciile *Saguinus* (tamarinii). Analizele secvențelor virale și compartirile filogenetice susțin apartenența VHC la un alt gen, distinct de genul flavivirus sau pestivirus (Choo 1991).

ARN polimeraza VHC predispusă la erori, împreună cu rata înaltă de replicare a virusului sunt responsabile de diversitatea mare a VHC. De altminteri, gradul de

diversitate al izolatelor VHC la acelasi individ creste semnificativ cu timpul, fapt care duce la aparitia diferitelor cvazispecii (Bukh 1995).

Compararea secventelor nucleotidice a VHC derivate de la indivizi apartinand unor arii geografice diferite, a dus la evidentierea a 6 genotipuri majore a VHC cu un numar mare de subtipuri in cadrul fiecarui genotip (Simmonds 2004; Simmonds 2005). Divergenta de secventa este de 20% la genotipuri si 30% la subtipuri. Genotipurile VHC 1, 2, 4, si 5 se regasesc in Africa sub-Sahariana in timp ce genotipurile 3 si 6 sunt detectate in Asia de Sud Est. Astfel se poate presupune ca aceste arii geografice reprezinta originile diferitelor genotipuri VHC. Aparitia diferitelor genotipuri VHC in America de Nord si Europa si alte tari non-tropicale pare sa reprezinte epidemii mai recente introduse din zonele originar endemice pentru VHC (Simmonds 2001; Ndjomou 2003). In afara aspectelor epidemiologice detectia genotipurilor VHC joaca un rol important in initierea tratamentului anti-VHC deoarece raspunsul la terapie variaza semnificativ in functie de genotip, e.g., genotipul 1 este cel mai rezistent la combinatia terapeutica curenta: interferon alfa pegylat si ribavirina (Manns 2001; Fried 2002).

Structura virala

Analiza structurala a virionilor VHC este foarte limitata datorita faptului ca virusul este dificil de cultivat in culturi celulare, fapt necesar producerii unui numar suficient de virioni pentru microscopia electronica. De altfel, particulele virale obtinute din ser se asociaza cu lipoproteinele de densitate joasa din ser (Thomssen 1992), fapt care ingreuneaza izolarea prin centrifugare a virionilor din serul/plasma subiectilor infectati. Vizualizarea particulelor VHC virus-like prin microscopie electronica a fost rar posibila (Kaito 1994; Shimizu 1996a; Prince 1996) si a reprezentat un subiect controversat vizand realitatea structurilor vizualizate. Totusi, aceste studii sugereaza ca VHC are un diametru de 55 pana la 65 nm si confirma supozitiile de marime ale agentului HCV prin ultrafiltrabilitate (Bradley 1985). Se pare ca in sangele indivizilor infectati exista forme variete ale virionilor VHC: virioni legati de lipoproteinele de densitate foarte joasa (VLDL), virioni legati de lipoproteinele de densitate joasa (LDL), virioni legati de imunoglobuline, si virioni liberi circulanti (Bradley 1991; Thomssen 1992; Thomssen 1993; Agnello 1999; Andre 2002). Motivul stransei asocieri intre o portiune majora a virionilor circulanti cu LDL si VLDL remane necunoscut. O posibila explicatie este faptul ca VHC intra teoretic in hepatocit prin receptorul LDL (Agnello 1999; Nahmias 2006). De altfel, se presupune ca asocierea cu LDL si/sau VLDL protejeaza virusul impotriva neutralizarii de catre anticorpii specifici anti-VHC.

Designul si optimizarea repliconilor genomici si subgenomici VHC in linia celulara de hepatom uman Huh-7, a oferit pentru prima data posibilitatea investigarii replicarii ARN-ului VHC intr-o maniera standardizata (Lohmann 1999; Ikeda 2002; Blight 2002). Totusi, in ciuda expresiei virale inalte nu se produc particule virale infectioase astfel ca metoda nu poate fi utilizata pentru analiza structurala a virionilor liberi.

Recent, au fost izolate in culturi celulare particule infectioase VHC folosindu-se sistemele recombinante (Heller 2005; Lindenbach 2005; Wakita 2005; Zhong 2005; Yu 2007). Chiar si in aceste sisteme in vitro, productia limitata a particulelor virale

impiedica analiza structurala tridimensională (Yu 2007). De curind, s-a demonstrat prin crio-electronmicroscopie (cryoEM) și microscopie electronică de transmisie cu colorație negativă, ca virionii VHC, izolați în culturi celulare, au formă sferică și diametrul de 50-55nm (Heller 2005; Wakita 2005; Yu 2007), confirmându-se rezultatele anterioare privitoare la dimensiunea presupuselor particule VHC native din plasma persoanelor infectate (Prince 1996). Suprafața externă a anvelopei virale pare a fi netedă. Așadar, dimensiunea și morfologia sunt foarte asemănătoare cu a altor membri ai familiei Flaviviridae, ca de exemplu cu a virusului Dengue sau cu a virusului West Nile (Yu 2007). Modificând un sistem baculovirus (Jeong 2004; Qiao 2004), aceiași autori au reușit să producă o cantitate mare de particule asemănătoare VHC (VHC-LP) în celulele vector (Yu 2007). Rar analiza acestora, cu ajutorul crio-electronmicroscopiei, a demonstrat că proteina E1 este situată la exteriorul membranei acestora.

Folosindu-se modelul tridimensional al particulelor asemănătoare VHC (VHC-LP) împreună cu comparația genomică între VHC și flavivirusuri, s-a presupus că 90 de copii ale unui grup de 2 heterodimeri ai proteinelor E1 și E2 formează învelișul extern al virionilor cu diametrul de cca 50 nm (Yu 2007). Acest înveliș extern înconjoară stratul bilipidic care conține nucleocapsida virală, alcătuită din proteine core(C) (Wakita 2005), o structură sferică cu diametrul de 30-35nm. (Takahashi 1992).

Organizarea genomică

VHC are un ARN simplu spiralat cu polaritate pozitivă, cu greutatea moleculară de 9,4kb. Similar altor virusuri ARN cu polaritate pozitivă și virusul hepatitic C își folosește ARN-ul ca și ARNm (ARN mesager), în procesul de traducere a proteinelor virale. Genomul VHC conține un singur cadru deschis de citire (ORF) care codifică un polipeptid format din 3000 aminoacizi (Figure 1). În timpul replicării virale poliproteina este clivată de enzime virale și celulare în trei proteine structurale (core, E1, E2) și șapte proteine nestructurale (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B). A fost descrisă o proteină suplimentară, proteina F (frameshift) sau ARF (cadru de citire alternativ) [alternate reading frame], ca fiind rezultatul translatației într-un cadru de citire alternativ a regiunii core (Xu 2001; Walewski 2001; Varaklioti 2002; Branch 2005). Detectia anticorpilor anti F în serul pacienților infectați cu VHC, indică faptul că proteina se exprimă în timpul infecției in vivo (Walewski 2001; Komurian-Pradel 2004).

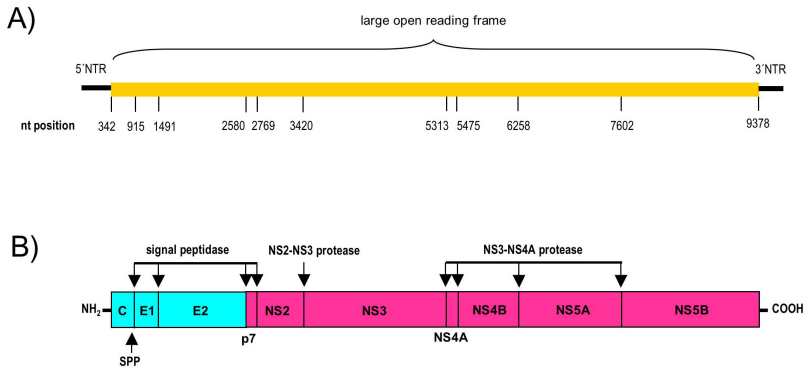


Figura 1. Organizarea genomică și procesarea poliproteinei

A) Pozițiile nucleotidice corespunzătoare VHC, tulpina H77, genotipul 1a, nr. de acces NC_004102.nt, nucleotid, NTR, regiune netradusă. B) Situațiile de tăiere din structura poliproteinei precursore pentru peptidazele semnal celulare, peptidazele semnal proteice și de asemenea pentru proteazele virale NS2-NS3 și NS3-NS4A.

Genele structurale situate la capatul 5' al cadrului deschis de citire, codifică proteina core și proteinele anvelopei E1 și E2, sunt urmate de regiuni care codifică proteinele nestructurale (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A și NS5B) (Figure 1). Proteinele structurale sunt părți importante ale virionilor, în timp ce proteinele nestructurale nu se asociază cu virionii, dar sunt implicate în replicarea și morfogeneza virală.

ORF-ul este marginit de regiunile netraduse 5' și 3'(NTR, numite, de asemenea, regiuni noncodante), conține secvențe nucleotidice importante în reglarea replicării virale. Ambele regiuni netraduse conțin regiuni înalt conservate, comparativ cu regiunile traduse ale genomului, ceea ce le face candidate pentru îmbunătățirea tehnicilor de biologie moleculară și pentru folosirea lor ca ținte pentru agenți terapeutici antivirali și pentru vaccinurile anti-VHC.

Regiunea 5' necodată este formată din 341 nucleotide și are o structură secundară complexă cu 4 domenii distincte (I-IV) (Fukushi 1994; Honda 1999). Domeniile de început I și II ale regiunii 5' netraduse, cuprind primele 125 nucleotide, s-a demonstrat că sunt esențiale replicării virale (Friebe 2001; Kim 2002). Domeniile II-IV formează situsul intern de intrare în ribozomi (IRES) care intervine în legarea de ribozomi și în inițierea traducerii (Tsukiyama-Kohara 1992; Wang 1993).

Regiunea 3' netradusă este formată din trei domenii diferite funcțional: o regiune variabilă, un tract poli U/UC cu lungime variabilă și coada X care are o structură înalt conservată (Tanaka 1995; Kolykhalov 1996; Blight 1997). Regiunea variabilă, formată din aproximativ 40 nucleotide, nu este esențială replicării virale, deși înălțarea sa duce la o scădere semnificativă a eficienței replicării (Yanagi 1999; Friebe 2002). Lungimea regiunii poli U/UC variază de la 30 la 80 nucleotide în funcție de tulpina de VHC (Kolykhalov 1996). În cultura de celule, s-a stabilit că lungimea minimă a acestei regiuni este de cca 26 nucleotide homouridinice (Friebe

2002). Nucleotidul înalt conservat 98, coada X, este compus din trei bucle (stem-loops) (SL1-SL3) (Tanaka 1996; Ito 1997; Blight 1997), deleția sau substitutia nucleotidică, în această zonă, este letală (Yanagi 1999; Kolykhalov 2000; Friebe 2002; Yi 2003). A fost descrisă o interacțiune, numită “kissing-loop”, între SL2 și o porțiune complementară a regiunii traduse NS5B (Friebe 2005). Această interacțiune induce o structură terciară genomului VHC, esențială replicării virusului în cultura de celule (Friebe 2005; You 2008).

Ambele regiuni netraduse par a lucra împreună la o interacțiune cu raza lungă de acțiune ARN-ARN, ce poate da naștere unei circularizări temporare a genomului. (Song 2006).

Gene și proteine

Așa cum a fost descris mai sus, traducerea poliproteinei precursoră VHC este inițiată de câteva domenii ale regiunilor noncodante. Procesarea și post-translațională a poliproteinei, ducă la obținerea a 10 proteine virale mature. Proteinele de la capatul N-terminal: C, E1, E2, și p7 sunt procesate de o peptidază seminală celulară (SP) (Hijikata 1991). Proteina core imatură rezultată conține secvența seminală E1 la capatul C-terminal. Următoarea clivare a proteinei core imature, de către o peptidază seminală, da naștere la proteine core mature (McLauchlan 2002).

Proteinele nestructurale NS2-NS5B ale poliproteinei sunt procesate de către două proteaze virale (NS2-NS3 și NS3), jonctiunea NS2-NS3 este clivată de cistin proteaza NS2-NS3 (Santolini 1995) și restul proteinelor funcționale sunt clivate de serin proteaza NS3 (Bartenschlager 1993; Eckart 1993; Grakoui 1993a; Tomei 1993).

Pozițiile următoare ale nucleotidelor și aminoacizilor virali corespund tulpinei H77 a VHC, genotip 1b, nr. de acces NC_004102. Anumiți parametrii ce caracterizează proteinele VHC sunt sumarizați în tabelul 1.

Proteina	Nr aa	Poziția aa în secvența de referință	Greutatea moleculară a proteinei
Core - immature	191	1-191	23 kd
Core - mature	174	1-174	21 kd
F-protein or ARF-protein	126-161		~ 16-17 kd
E1	192	192-383	35 kd
E2	363	384-746	70 kd
p7	63	747-809	7 kd
NS2	217	810-1026	21 kd
NS3	631	1027-1657	70 kd
NS4A	54	1658-1711	4 kd
NS4B	261	1712-1972	27 kd
NS5A	448	1973-2420	56 kd
NS5B	591	2421-3011	66 kd

Tabel 1. Revizuirea dimensiunii particulelor VHC.

aa, aminoacid; greutatea moleculară; kd, kilodalton; secvența de referință (tulpina VHC H77; număr de acces NC_004102).

Core. Secventa codificata core incepe la codonul AUG, pozitia nucleotidica 342 a genomului tulpinii H7, acest codon fiind initiator al traducerii poliproteinei virale . In timpul traducerii, poliproteina este transferata in reticulul endoplasmic, unde proteina core (191aa) este clivata de o peptidaza semnal celulara (SP). Capatul C-terminal al precursorului rezultat contine secventa semnal pentru translocarea in reticulul endoplasmic a domeniului E1 (aa 174-191). Aceasta regiune proteica este procesata, in plus, peptid-peptidaza semnal intramembranara ducand la inlaturarea secventei semnal E1 (Hüssy 1996; McLauchlan 2002; Weihofen 2002).

Proteina core multifunctionala are o greutate de 21kD. In vivo, se crede ca moleculele core mature ar forma multimeri localizati in principal, pe membrana reticulului endoplasmic (Matsumoto 1996). Acestia au functie structurala pentru ca formeaza capsida virala care contine genomul viral. In plus, proteina core are si functii regulatorii: asamblarea particulei virale, legarea ARN-ului viral, modularea traducerii genomului viral (Ait-Goughoulte 2006; Santolini 1994). Pe langa acestea, analiza expresiei proteice indica faptul ca proteina core poate fi implicata in mai multe reactii celulare: semnalizarea celulara, apoptoza, metabolismul lipidic si carcinogeneza (Tellinghuisen 2002). In orice caz, aceste descoperiri preliminare trebuie studiate mai mult.

E1 si E2. Dupa regiunea core, genomul VHC codifica doua glicoproteine ale anvelopei, E1 (gp35; 192 aa) si E2 (gp70; 363 aa). Amandoua glicoproteinele sunt clivate din poliproteina precursora, de catre o peptidaza semnal celulara, in timpul traducerii in reticulul endoplasmic. In interiorul reticulului endoplasmic, glicoproteinele E1 si E2 trec printr-o glicozilare N-linkata posttranslationala (Duvet 2002). E1 contine 5 situsuri de glicozilare, iar E2 este alcatuit din 11 situsuri.

E1 si E2 sunt proteine transmembranare de tip I, contin un domeniu hidrofilic mare de cca 160-334aa si un domeniu mic transmembranar de 30aa. Domeniul transmembranar este responsabil de atasarea si mentinerea legaturii intre proteinele anvelopei si reticulul endoplasmic (Cocquerel 1998; Duvet 1998; Cocquerel 1999; Cocquerel 2001). In plus, s-a aratat ca aceleasi domenii contribuie la formarea heterodimerilor E1-E2 (Op de Beeck 2000). Complexul E1-E2 este implicat in adsorbtiia virusului la presupusii sai receptori: tetraspanina CD81 si un receptor lipoproteic cu densitate scazuta, ce determina fuziunea anvelopei virale cu membrana celulei gazda (Agnello 1999; Flint 1999; Wunschmann 2000). Cu toate acestea, mecanismul exact prin care virusul intra in celula gazda nu este cunoscut in totalitate. Alti factori celulari sunt implicati in intrarea virusului, acestia includ receptorul scavenger B tip I (SR-BI) (Scarselli 2002; Kapadia 2007), lectinele L-SIGN si DC-SIGN (Gardner 2003; Lozach 2003; Pöhlmann 2003), si heparan sulfatul (Barth 2003).

Doua regiuni hipervariabile au fost identificate in E2. Aceste regiuni numite, regiunea hipervariabila 1 si 2 (HVR1 si HVR2) difera prin mai mult de 80% in secventa lor de aa (Weiner 1991; Kato 2001). Primii 27 aa ai domeniului E2 formeaza HVR1, in timp ce HVR2 este alcatuita din 7aa (pozitia 91-97). Variabilitatea crescuta acestor domenii reflecta expunerea acestora la anticorpii specifici anti VHC. De fapt, HVR2 s-a demonstrat a fi cea mai importanta tinta pentru anticorpii neutralizanti (Farci 1996; Shimizu 1996b). Oricum, combinarea mutatiilor in genomul viral sub presiunea raspunsului imun umoral, duce la

eludarea raspunsului imun virale prin alterarea epitopilor. Aceasta inseamna ca prepararea vaccinului inductor de anticorpi neutralizanti este o continua provocare.

Proteina p7. Proteina p7 este mica (63 aa) si este localizata intre E2 si NS2. In timpul traducerii, peptidaza semnal celulara cliveaza jonctiunile E2-p7 si p7-NS2. Proteina functionala p7 este o proteina membranara, localizata in reticulul endoplasmic unde formeaza un canal ionic (Haqshenas 2007; Pavlovic 2003; Griffin 2003). Proteina p7 nu este indispensabila replicarii, virionii care nu exprima gena p7 se replica eficient, (Lohmann 1999; Blight 2000) totusi, s-a sugerat ca p7 are un rol esential in formarea virionilor infectiosi (Sakai 2003; Haqshenas 2007).

NS2. NS2 (p21, 217aa), impreuna cu portiunea N-terminala a proteinei NS3, formeaza cistin proteaza NS2-3 care va cliva poliproteina precursora intre NS2 si NS3 (Grakoui 1993b; Santolini 1995). Capatul N-terminal al proteinei NS2 este rezultatul separarii sub actiunea peptidazelor semnal celulare a legaturii intre p7 si NS2. In plus, dupa separarea de NS3, domeniul proteazic al NS2 pare a avea un rol important in fazele timpurii ale morfogenezei (Jones 2007).

NS3. NS3 (p70,631aa) este clivata la capatul N-terminal de proteaza NS2-NS3 . Capatul N-terminal (189 aa) al proteinei NS3 are o activitate serin proteazica . Oricum, pentru o buna activitate proteazica, domeniul NS3 necesita o portiune a proteinei NS4A (Faila 1994; Bartenschlager 1995; Lin 1995; Tanji 1995; Tomei 1996). NS3 impreuna cu portiunea din NS4A sunt responsabile de separarea poliproteinei precursora ramasa neclivata . Functia proteazica a NS3 este esentiala infectivitatii virale si reprezinta o tinta promitatoare pentru terapiile antivirale aflate in studiu.

Portiunea C-terminala a NS3 (442 aa) are activitate ATP-azica/helicazica, de exemplu , catalizeaza legarea si desprinderea genomului VHC in timpul replicarii virale (Jin 1995; Kim 1995). Descoperiri recente demonstreaza ca si alte proteine functionale ale VHC, de exemplu polimeraza virala NS5B, pot interactiona cu helicaza NS3 (Jennings 2008). Aceste interactiuni mai trebuiesc studiate pentru o mai buna intelegere a mecanismelor replicarii virale.

NS4A. NS4A (p4) este un polipeptid format din 54aa, care actioneaza ca si cofactor pentru serin proteaza NS3 (Faila 1994; Bartenschlager 1995; Lin 1995; Tanji 1995; Tomei 1996). In plus, aceasta mica proteina este implicata in legarea domeniului NS3 la reticulul endoplasmic, rezultand o crestere semnificativa a stabilitatii NS3 (Wölk 2000).

NS4B. NS4B (p27) contine 217 aa, este o proteina membranara localizata in reticulul endoplasmic. Domeniul N-terminal al proteinei NS4B are caracter amfipatic si va mentine proteina atasata de reticulul endoplasmic. Regiunea NS4B este esentiala replicarii virale (Elazar 2004; Gretton 2005) si de aceea este o tinta interesanta in dezvoltarea terapiilor antivirale sau a vaccinurilor. In plus, a fost identificat si un nucleotid central de legare (aa 129-134) (Einav 2004). Cu toate

acestea, functia proteinei NS4B este inca necunoscuta, s-a demonstrat ca aceasta ar forma o retea membranara care ar servi replicarii virale (Egger 2002).

NS5A. Proteina NS5A (p56; 458 aa) este o fosfoproteina membranara care pare ca detine functii multiple in replicarea virala, este fosforilata de diferite protein-kinaze celulare, indicandu-se rolul esential, dar inca nedescifrat, in replicarea virusului. In plus, s-a descoperit ca NS5A se asociaza cu alte proteine celulare (MacDonald 2004) ceea ce face dificila determinarea exacta a functiei sale. NS5A contine o regiune alcatuita din 40 aa, numita regiune ce determina sensibilitate la IFN alfa (ISDR) care are un rol cheie in raspunsul la terapia cu IFN alfa (Enomoto 1995; Enomoto 1996). Un numar crescut de mutatii in regiunea ISDR se reflecta si in obtinerea raspunsului virusologic sustinut la terapia cu IFN alfa.

NS5B. NS5B (p66; 591 aa) reprezinta ARN polimeraza-ARN dependenta (Behrens 1996). Domeniul hidrofobic din regiunea C-terminala (21aa), se insereaza in membrana reticulului endoplasmic, in timp ce situsurile active ale polimerazei sunt localizate in citoplasma (Schmidt-Mende 2001).

Domeniile citoplasmaticice ale polimerazei virale formeaza structura tipica de "mana-dreapt", cu subdomeniile: "palma", "degete", "police" (Ago 1999; Bressanelli 1999; Lesburg 1999). Subdomeniile polimerazei virale "degete" si "police" sunt unite si formeaza un loc inchis, activ, cu rol in legarea nucleotidelor trifosforice, deosebindu-se de polimerazele ADN-ului si ARN-ului mamiferelor . Aceasta structura unica face din NS5B o tinta atractiva pentru dezvoltarea medicamentelor antivirale .

Folosind genomul ARN VHC ca matrita, NS5B initiaza sinteza catenei negative ARN, pe care polimeraza virala va sintetiza catena pozitiva.

La fel ca si alte polimeraze ARN dependente, NS5B este o enzima predispusa la incorporari nucleotidice gresite, cu o rata de 10^{-3} per nucleotid per generatie. Spre deosebire de polimerazele celulare, ARN polimeraza virala nu dispune de un mecanism de corectie al incorporarilor gresite. Replicarea virala crescuta, impreuna cu proprietatile ARN polimerazei virale, duc la heterogenitate genomica ridicata.

Proteina F. Suplimentar fata de cele 10 proteine VHC, s-a descris si proteina F (frameshift) sau ARF (cadru de citire alternativ) sau core+1 (Walewski 2001; Xu 2001; Varaklioti 2002). S-a indicat ca proteina F este rezultatul schimbului ribozomal -2/+1 intre codonii 8 si 11 din regiunea core. Regiunea ARF variaza de la 126-161aa, in functie de genotip. *In vitro*, s-a demonstrat ca durata de viata a proteinei citoplasmaticice ARF este scurta (Roussel 2003), initial aceasta este localizata in reticulul endoplasmic (Xu 2003). Determinarea anticorpilor anti-F in plasma persoanelor infectate, arata ca pe parcursul infectiei in vivo, proteina se exprima (Walewski 2001; Komurian-Pradel 2004). Cu toate acestea, functiile proteinei ARF in ciclul viral, raman sa fie elucidate.

Ciclul replicativ al virusului

Ciclul replicativ al virusului hepatitic C a fost dificil de investigat din cauza absentei unui model animal si a unor sisteme de replicare in vitro. Descoperirea recenta a unor astfel de sisteme a oferit posibilitatea analizei detaliate a etapelor replicarii virale.

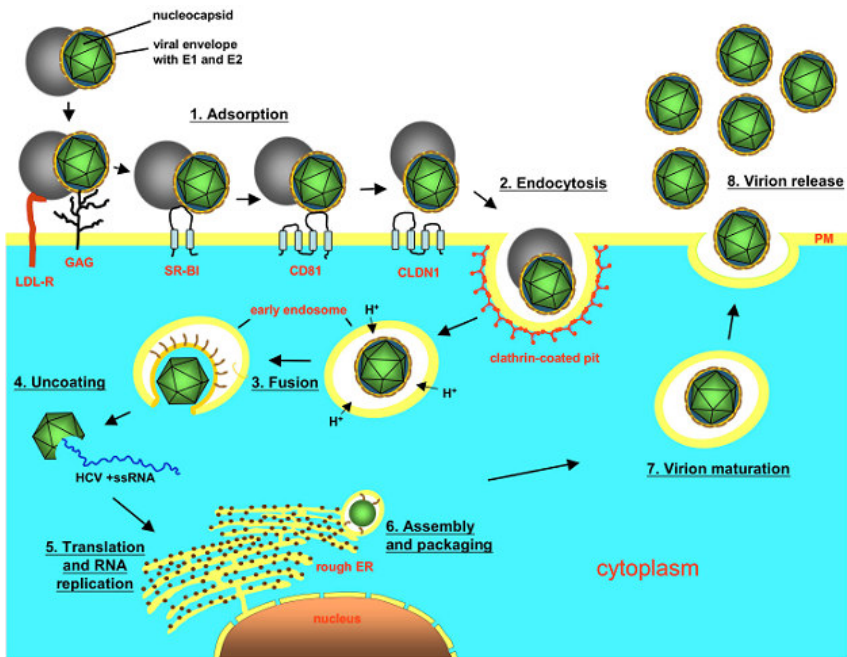


Figura 2. Modelul ciclului replicativ al VHC.

Componentele celulare sunt marcate cu rosu. Pentru o ilustrare detaliata a tradatiei virale si a replicarii ARN, vezi Pawlowsky 2007. Abrevieri: VHC +ssRNA, ARN VHC monocatenar cu polaritate pozitiva; reticul endoplasmic rugos; PM, membrana plasmatica. Pentru alte abrevieri vezi textul.

Adsorbția și internalizarea

Candidatul cel mai potrivit pentru a îndeplini funcția de receptor al VHC este tetraspanina CD81 (Pileri 1998). CD81 este o moleculă de 25kD, ubicuitară, exprimată pe suprafața unui număr mare de celule, inclusiv a hepatocitelor și a limfocitelor. Atasarea experimentală a anticorpilor anti-CD81 de CD81 inhibă intrarea VHC în celulele Huh-7 și în celulele hepatocitare umane primare (Hsu 2003; Bartosch 2003a; Cormier 2004; McKeating 2004; Zhang 2004; Lindenbach 2005; Wakita 2005). În plus, folosind molecule specifice de ARNs, pentru transformarea genei funcționale CD81 într-o genă silențioasă, s-a confirmat importanța acestui receptor în etapa de intrare a virusului (Bartosch 2003b; Cormier 2004; Zhang 2004; Akazawa 2007). Expresia CD81 în liniile celulare lipsite

anterior de acest receptor le face permissive intrării VHC în celula (Zhang 2004; Lavillette 2005; Akazawa 2007). Totuși, studii recente au arătat că CD81 singur nu este suficient în etapa de intrare a virusului și că sunt necesari co-factori, de exemplu receptorul scavenger tip I (SR-BI) (Bartosch 2003b; Hsu 2003; Scarselli 2002, Kapadia 2007). Se pare că CD81 este implicat și într-o etapă post-adsorbție (Cormier 2004; Koutsoudakis 2006; Bertaud 2006). Aceste descoperiri împreună cu identificarea unor factori gazda implicați în intrarea virusului în celulă, au fost folosiți pentru descrierea etapelor timpurii ale infecției cu VHC (Helle 2008).

Adsorbția virusului la celula țintă reprezintă primul pas al fazei de eclipsă. Este posibil ca legarea de celulă țintă să fie inițiată de interacțiunea dintre glicoproteina anvelopei E2 și de glicozaminoglicanul heparan sulfat, prezent pe suprafața celulei gazda (Germi 2002; Barth 2003; Basu 2004; Heo 2004). În plus, se crede că VHC inițiază infecția hepatocitelor prin intermediul receptorului LDL (Agnello 1999; Monazahian 1999; Wünschmann 2000; Nahmias 2006; Molina 2007), proces posibil mediat de către VLDL sau LDL. Acești receptori sunt asociați virusului în plasma persoanelor infectate cu VHC (Bradley 1991; Thomssen 1992; Thomssen 1993). După legarea inițială, glicoproteina E2 interacționează cu SR-BI în culturile celulare (Scarselli 2002). SR-BI este o proteină exprimată pe suprafața majorității celulelor animale. Acționează ca un receptor pentru LDL și pentru HDL (Acton 1994; Acton 1996) evidențiind rolul lor în infectivitatea virală. Mecanisme alternative de splicing ale transcriptului SR-BI duc la exprimarea unei izoforme secundare a receptorului SR-BII, care, de asemenea poate fi implicat în etapa de intrare a virusului în celulă țintă. (Webb 1998) (Grove 2007). După cum se întâmplă în toate etapele intrării virale, mecanismele exacte ale interacțiunii între E2 și SR-BI rămân necunoscute. Anumite studii sugerează că legarea virusului la SR-BI este absolut necesară interacțiunii simultane sau ulterioare a virusului cu CD81 (Kapadia 2007; Zeisel 2007). Modul de intrare a virusului în celulă țintă se realizează în etape, acest proces este și mai complex din momentul identificării unui factor celular numit claudin-1 (CLDN1) (Evans 2007). CLDN1 este o proteină integrală membranară care formează un schelet de joncțiuni strânse și care este înalt exprimată la nivel hepatic (Furuse 1998). Testele de inhibiție arată că implicarea CLDN1 apare după interacțiunea dintre virus și receptorul CD81 (Evans 2007). Rezultate recente sugerează că proteina CLDN1 acționează ca și un component ce permite transferul intercelular al virusului VHC, independent de receptorul CD81 (Timpe 2007). De curând s-au raportat alți doi membri ai familiei claudin: claudin 6 și claudin 9, care ar putea avea un rol important în infecția VHC (Zheng 2007; Meertens 2008).

După legarea de diferiți factori ai gazdei are loc internalizarea VHC, într-o manieră dependentă de pH, ceea ce sugerează endocitoză mediată de clatrina (Bartosch 2003b; Hsu 2003; Blanchard 2006; Codran 2006). (Blanchard 2006; Meertens 2006, Lavillette 2007). Mediul acid endozomal probabil declanșează fuziunea glicoproteinelor E1-E2 cu membrana endozomală.

În concluzie, adsorbția virusului hepatitic C și intrarea virusului în celulă țintă sunt procese complexe, incomplet cunoscute încă. Cu toate că au fost identificați câțiva factori ai celulei gazda care probabil interacționează cu glicoproteinele anvelopei virale, mecanismul precis de interacțiune trebuie investigat mai detaliat. (Evans 2007). Unele linii celulare nu sunt susceptibile la infecția cu VHC, cu toate că

exprima SR-BI, CD81 si CLDN1, sugerand ca si alti factori celulari sunt implicati in etapa de intrare a virusului.

Traducerea proteinelor virale si procesele post translationale

Rezultatul fuziunii anvelopei virale cu membrana endozomala este reprezentat de eliberarea in citoplasma celulara a genomului viral. Asa cum a fost descris anterior, ARN VHC are doua regiuni netraduse la capete, regiunea 5' netradusa fiind formata din patru domenii distincte I-IV. Domeniile II-IV formeaza un situs intern de intrare ribozomala (IRES), implicat in legarea de ribozomi si care ulterior va initia traducerea (Fukushi 1994; Honda 1999; Tsukiyama-Kohara 1992; Wang 1993). IRES se leaga la subunitatea ribozomala 40S, care prezinta factorii eucariotici de initiere 2 si 3 (Eif2 si Eif3), GTP si ARNt initiator, rezultand complexul preinitiator 48S. (Spahn 2001; Otto 2002; Sizova 1998; reviewed in Hellen 1999).

Ulterior, subunitatea ribozomala 60S impreuna cu 48S formeaza complexul activ translational necesar sintezei in reticulul endoplasmic a poliproteinei VHC. ARN-ul viral contine un ORF mare care codifica poliproteina precursora. In urma clivajului posttranslational se vor forma 10 proteine virale functionale Core, E1, E2, p7, NS2-NS5B. Proteina virala F (sau proteina ARF) rezulta dintr-un cadru alternativ de citire, in primii codoni ai regiunii codante core (Walewski 2001; Xu 2001; Varaklioti 2002). In afara de multi factori celulari care sunt descrisi ca fiind implicati in translatarea ARN-ului viral, numeroase proteine virale si regiuni genomice interfera sau inhiba sinteza proteinelor virale (Zhang 2002; Kato 2002; Wang 2005; Kou 2006; Bradrick 2006; Song 2006).

Poliproteina precursora este procesata de cel putin 4 peptidaze diferite. Peptidaza celulara semnal (SP) separa proteinele virale de la capatul N-terminal: core, E1, E2, si p7 (Hijikata 1991), in timp ce peptidaza peptidica semnal (SPP) este responsabila de clivajul secventei semnal E1 de la capatul C-terminal al proteinei core imature, rezultand proteina core matura (McLauchlan 2002). Proteinele E1 si E2 din lumenul reticulului endoplasmic sunt N-glicozilate, E1 contine 5 posibile situsuri de glicozilare, iar E2 contine 11 situsuri (Duvet 2002).

Pe langa cele doua proteaze celulare, VHC codifica si doua enzime virale responsabile de separarea proteinelor non-structurale NS2-NS5 din poliproteina precursora. Cistin-proteaza NS2-NS3 zinc dependenta, continind proteina NS2 si portiunea N-terminala a NS3, cliveaza jonctiunea dintre NS2 si NS3 (Santolini 1995), in timp ce serin proteaza NS3 separa restul proteinelor functionale (Bartenschlager 1993; Eckart 1993; Grakoui 1993a; Tomei 1993). Totusi pentru activitatea sa peptidazica NS3 necesita ca si co-factor pe NS4A (Failla 1994; Tanji 1995; Bartenschlager 1995; Lin 1995; Tomei 1996).

Replicarea ARN VHC.

Procesul complex al replicarii virale este putin cunoscut. Enzima cheie a replicarii virale este NS5B o ARN polimeraza ARN-dependenta (Behrens 1996). In plus, diferiti factori celulari si virali fac parte din complexul replicativ viral. Un component viral important in formarea complexului replicativ pare a fi NS4B care formeaza unei panze membranare derivate din reticulul endoplasmic si care contine

majoritatea proteinelor nestructurale (Egger 2002). Acesta panza membranara poate servi ca platforma pentru urmatorii pasi ai replicarii virale, ARN polimeraza ARN dependenta utilizeaza ARNss genomic cu polaritate pozitiva ca matrita pentru sinteza unui intermediar replicativ cu polaritate negativa. Pentru a facilita sinteza catenei negative a ARN-ului, helicaza NS3 ajuta la desfacerea unor structuri secundare in matrita de ARN. (Jin 1995; Kim 1995). Impreuna cu helicaza NS3, noile molecule ARN antisens sunt folosite ca si matrite pentru sinteza numeroaselor catene pozitive ale ARN-ului. Ulterior, ARN-ul pozitiv rezultat poate fi folosit ca ARN genomic in virionii progeni si ca ARNm pentru traducerea poliproteinei.

Asamblarea si eliberarea.

Dupa sinteza proteinelor virale, a glicoproteinelor si a genomului viral, urmeaza asamblarea lor in vederea obtinerii de virioni infectiosi. Asa cum se desfasoara toate etapele ciclului replicativ viral, asamblarea este o procedura multistadiala ce necesita majoritatea componentelor virale si o serie de factori celulari. Cercetarea proceselor de asamblare si de eliberare a particulelor virale este la inceput deoarece recent s-au dezvoltat modelele in vitro pentru productia si eliberarea virala. In prealabil, s-a raportat ca moleculele proteinei core pot sa se autoasambleze si in vitro, rezultand particule asemanatoare nucleocapsidei. Date recente sugereaza ca asamblarea virala are loc in reticulul endoplasmic (Gastaminza 2008) si aceste molecule lipidice sunt implicate in formarea particulei virale (Moradpour 1996; Barba 1997; Miyanari 2007; Shavinskaya 2007; Appel 2008). Se presupune ca particulele lipidice legate de moleculele proteinei core, atrag proteinele virale non-structurale si complexul replicativ ARN (Miyanari 2007). In afara de proteina core, moleculele lipidice se asociaza si cu proteina NS5A, avand un rol cheie in formarea particulelor virale infectioase (Appel 2008). Aceleasi particule lipidice asociate membranei sunt localizate si in vecinatatea moleculelor E2. De asemenea, particulele sferice asemanatoare virusului pot fi vazute foarte aproape de moleculele lipidice. Folosind anticorpi specifici, s-a observat ca particulele asemanatoare virusului contin proteina core si glicoproteina E2, sugerand faptul ca aceste structuri pot reprezenta particulele infectioase VHC (Miyanari 2007). Totusi, mecanismul precis al formarii si eliberarii particulelor infectioase nu este inca cunoscut.

Sisteme model pentru cercetarea VHC

Pentru o perioada lunga de timp, studiile asupra VHC au fost restrictionate din cauza lipsei modelelor animale si a sistemelor de cultivare eficiente. Dezvoltarea primului replicon, dupa 10 ani de la identificarea VHC, a oferit oportunitatea investigarii intr-o maniera standardizata a biologiei moleculare a infectiei cu VHC. (Lohmann 1999). Utilizand ARN total derivat din tesutul hepatic provenit de la o persoana cu infectie cronica VHC, genotip 1b, s-a realizat amplificarea si clonarea intregii secvente ORF a VHC in doua fragmente suprapuse. Secventele terminale netraduse au fost amplificate si clonate separat si toate fragmentele au fost asamblate intr-o secventa completa. Transfectia experimentală in vitro, cu transcripti derivati din clone intregi, a esuat neobtinandu-se replicare virala. Din aceasta cauza, s-au generat doi ampliconi diferiti formati din 5'IRES, gena neomicin fosfotransferaza care determina rezistenta la neomicina, IRES provenit

dintr-un picornavirus, virusul encefalo-miocarditei porcine (EMCV) si din secventa NS2-3' netradusa, respectiv NS3-3' netradusa (figura 3)

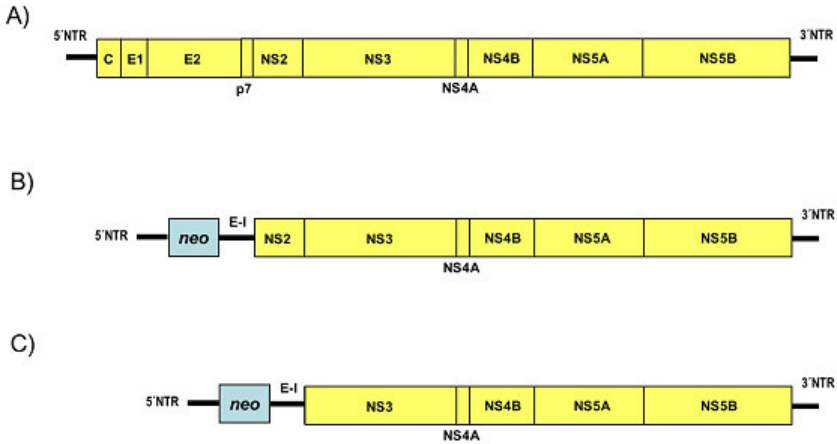


Figura 3. Structura repliconilor subgenomici (Lohmann 1999).

Figura ilustreaza informatia genetica a transcriptilor folositi pentru transfectia in vitro a liniei Huh-7. A) Un transcript intreg provenit dintr-un ficat transplantat de la un pacient cu infectie cronica. B) Repliconul subgenomic lipsit de genele structurale si de secventa codificata p7. C) Repliconul subgenomic lipsit de genele C, E1, E2, p7, neomicin fosfotransferaza, E-1, IRES provenit din virusul encefalomiocardic (EMCV).

Transcriptii obtinuti in vitro, din aceste componente lipsite de regiunile genomice care codifica proteinele structurale, au fost utilizati la transfectia liniei celulare Huh-7 (Lohmann 1999). Transcriptii sunt bicistronici, de exemplu, primul cistron contine situsul intern de intrare in ribozomi al virusului hepatitic C, care permite traducerea genei neomicin fosfotransferazei utilizata pentru selectia eficienta a celulelor transfectate, si al doilea cistron contine situsul intern de intrare in ribozomi al *virusului encefalo-miocarditei porcine* care directioneaza traducerea proteinelor specifice VHC. Numai anumite clone ale liniei Huh-7 pot replica ARN-ul specific repliconului, dar in titruri de 10^8 copii catene pozitive de ARN per microgram din ARN-ul total. In plus, toate proteinele VHC codificate sunt detectate predominant in citoplasma celulelor transfectate Huh-7. Dezvoltarea acestui replicon reprezinta un punct crucial in cercetarea replicarii ARN VHC si in analiza proteinelor virale.

In ultimii ani, metodologia a fost imbunatatita pentru a permite o eficienta semnificativ crescuta a replicarii virale (Blight 2000; Lohmann 2001; Krieger 2001). Aceasta s-a obtinut prin utilizarea unor repliconi ce contin mutatii punctiforme sau deletii la nivelul genelor NS. Ulterior au dus la obtinerea de repliconi VHC completi, de exemplu, repliconi care sa contina informatia genetica si pentru proteinele structurale Core, E1 si E2 (Pietschmann 2002; Blight 2002), ceea ce ofera posibilitatea investigarii influentei proteinelor structurale asupra replicarii virale si a analizei localizarii intracelulare a acestor proteine. Totusi, prin

folosirea acestei metodologii, nu s-a obtinut modelul asamblarea si al eliberarea virionilor.

Un moment important a fost constituit de obtinerea unui amplicon subgenomic VHC, genotipul 2a, tulpina JFH-1(Kato 2003), care provine de la un pacient japonez cu hepatita fulminanta. (Kato 2001). Acesti repliconi au avut o replicare semnificativ mai eficienta comparativ cu cei anteriori. In plus, au putut fi transfectate eficient linile celulare HepG2 sau HeLa, diferite de Huh-7, cu transcripti rezultati din repliconul tulpinei JFH-1 (Date 2004; Kato 2005).

Transfectarea liniei Huh-7 si a celulelor “netratate” Huh-7.5 cu ampliconi intregi ai tulpinei JFH-1, duc pentru prima data la obtinerea de virioni infectiosi.(Zhong 2005; Wakita 2005). Constructia unei himere cu regiunile Core-NS2 (genotype 2a), derivate din tulpina J6 si restul secventelor ramase din tulpina JFH-1, duc la cresterea infectivitatii. In plus a fost dezvoltata o strategie alternativa de producere a particulelor infectioase (Heller 2005), astfel un construct VHC (genotype 1b) a fost plasat intre doi ribozomi intr-o plasmida care contine un promotor cu sensibilitate la tetraciclina. Linia celulara Huh-7 a fost transfectata cu aceste plasmide, rezultand o replicare virala eficienta cu un titru de $>10^7$ copii/ml in supernatantul culturii celulare.

Dezvoltarea unor culturi celulare care sa permita obtinerea unor virioni VHC infectiosi, a reprezentat un progres major in cercetarea VHC din moment ce acum putem investiga intreg ciclul replicativ viral. Aceste studii vor ajuta la o mai buna intelegere a patogenzei VHC si vor accelera descoperirea unor compusi antivirali specifici.

Referinte

- Acton SL, Scherer PE, Lodish HF, et al. Expression cloning of SR-BI, a CD36-related class B scavenger receptor. *J Biol Chem* 1994, 269:21003-21009.
- Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, et al. Identification of scavenger receptor BI as a high-density lipoprotein receptor. *Science* 1996, 271:518-520.
- Agnello V, Abel G, Elfahal M, et al. Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low-density lipoprotein receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999, 96:12766-12771.
- Ago H, Adashi T, Yoshida A, et al. Crystal structure of the RNA-dependent RNA polymerase of hepatitis C virus. *Structure* 1999, 7:417-1426.
- Ait-Goughoulte M, Hourieux C, Patient R, et al. Core protein cleavage by signal peptide peptidase is required for hepatitis C virus-like particle assembly. *J Gen Virol* 2006, 87:855-860.
- Akazawa D, Date T, Morikawa K, et al. CD81 expression is important for the permissiveness of Huh7 cell clones for heterogeneous hepatitis C virus infection. *J Virol* 81:5036-5045.
- Alter HJ, Holland PV, Purcell RH, et al. Transmissible agent in non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 1978, 1:459-463.
- Andre P, Komurian-Pradel F, Deforges S, et al. Characterization of low- and very-low-density hepatitis C virus RNA-containing particles. *J Virol* 2002, 76:69619-6928.
- Appel N, Zayas M, Miller S, et al. Essential role of domain III of nonstructural protein 5A for hepatitis C virus infectious particle assembly. *PLoS Pathog* 4(3): e1000035.

- Barba G, Harper F, Harada T, et al. Hepatitis C virus core protein shows a cytoplasmic localization and associates to cellular lipid storage droplets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997, 94:1200–1205.
- Bartenschlager R, Ahlborn-Laake L, Mous J, et al. Nonstructural protein 3 of hepatitis C virus encodes a serine-type proteinase required for cleavage at the NS3/4 and NS4/5 junctions. *J Virol* 1993, 67:3835–3844.
- Bartenschlager R, Lohmann V, Wilkinson T, et al. Complex formation between the NS3 serine-type proteinase of the hepatitis C virus and NS4A and its importance for polyprotein maturation. *J Virol* 1995, 69:7519–7528.
- Barth H, Schäfer C, Adah MI, et al. Cellular binding of hepatitis C virus envelope glycoprotein E2 requires cell surface heparan sulphate. *J Biol Chem* 2003, 278:41003-41012.
- Bartosch B, Dubuisson J, Cosset FL. Infectious hepatitis C virus pseudoparticles containing functional E1-E2 envelope protein complexes. *J Exp Med* 2003a, 197:633-642.
- Bartosch B, Vitelli A, Granier C, et al. Cell entry of hepatitis C virus requires a set of co-receptors that include CD81 and SR-B1 scavenger receptor. *J Biol Chem* 2003b, 278:41624-41630.
- Behrens SE, Tomei L, DeFrancesco R. Identification and properties of the RNA-dependent RNA polymerase of hepatitis C virus. *EMBO J* 1996, 15:12-22.
- Bertaux C, Dragic T. Different domains of CD81 mediate distinct stages of hepatitis C virus pseudoparticle entry. *J Virol* 2006, 80:4940-4948.
- Blanchard E, Belouzard S, Goueslain L, et al. Hepatitis C virus entry depends on clathrin-mediated endocytosis. *J Virol* 2006, 80:6964-6972.
- Blight KJ and Rice CM. Secondary structure determination of the conserved 98-base sequence at the 3' terminus of hepatitis C virus genome RNA. *J Virol* 1997, 71:7345-7452.
- Blight KJ, Kolykhalov AA, Rice CM. Efficient initiation of HCV RNA replication in cell culture. *Science* 2000, 290:1972-1974.
- Blight KJ, McKeating JA, Rice CM. Highly permissive cell lines for subgenomic and genomic hepatitis C virus RNA replication. *J Virol* 2002, 76:13001-13014.
- Bradley DW, McCaustland KA, Cook EH, et al. Post-transfusion non-A, non-B hepatitis in chimpanzees: physiochemical evidence that the tubule-forming agent is a small, enveloped virus. *Gastro* 1985, 88:773-779.
- Bradley D, McCaustland K, Krawczynski K, et al. Hepatitis C virus: buoyant density of the factor VIII-derived isolate in sucrose. *J Med Virol* 1991, 34:206-208.
- Bradrick SS, Walters RW, Gromeier M. The hepatitis C virus 3'-untranslated region or a poly(A) tract promote efficient translation subsequent to the initiation phase. *Nucleic Acids Res* 2006, 34:1293–1303.
- Branch AD, Stump DD, Gutierrez JA et al. The hepatitis virus alternate reading frame (ARF) and its family of novel products: the alternate reading frame protein/F-protein, the double-frameshift protein, and others. *Semin Liv Dis* 2005, 25-105-117.
- Bressanelli S, Tomei L, Rousset A, et al. Crystal structure of the RNA-dependent RNA polymerase of hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, 96:13034-13039.
- Bukh J, Miller RH, Purcell RH. Biology and genetic heterogeneity of hepatitis C virus. *Clin Exp Rheumatol* 1995, Suppl 13:S3-7.
- Choo QL, Kuo G, Weiner AJ, et al. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989, 244:359-362.
- Choo QL, Richman KH, Han JH, et al. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991, 88:2451-2455.
- Cocquerel L, Meunier JC, Pillez A, et al. A retention signal necessary and sufficient for endoplasmic reticulum localization maps to the transmembrane domain of hepatitis C virus glycoprotein E2. *J Virol* 1998, 72:2183-2191.

- Cocquerel L, Duvet S, Meunier JC, et al. The transmembrane domain of hepatitis C virus glycoprotein E1 is a signal for static retention in the endoplasmic reticulum. *J Virol* 1999, 73:2641-2649.
- Cocquerel L, Meunier JC, Op de Beeck A, et al. Coexpression of hepatitis C virus envelope proteins E1 and E2 in *cix* improves the stability of membrane insertion of E2. *J Gen Virol* 2001, 82:1629-1635.
- Codran A, Royer C, Jaeck D, et al. Entry of hepatitis C virus pseudotypes into primary human hepatocytes by clathrin-dependent endocytosis. *J Gen Virol* 2006, 87:2583-2593.
- Cormier EG, Tsamis F, Kajumo F, et al. CD81 is an entry coreceptor for hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004, 101:7270-7274.
- Date T, Kato T, Miyamoto M, et al. Genotype 2a hepatitis C virus subgenomic replicon can replicate in HepG2 and IMY-N9 cells. *J Biol Chem* 2004, 279:22371-22376.
- Duvet S, Cocquerel L, Pillez A, et al. Hepatitis C virus glycoprotein complex localization in the endoplasmic reticulum involves a determinant for retention and not retrieval. *J Biol Chem* 1998, 273:32088-32095.
- Duvet S, Op de Beeck A, Cocquerel L, et al. Glycosylation of the hepatitis C virus envelope protein E1 occurs posttranslationally in a mannosylphosphoryldolichol-deficient CHO mutant cell line. *Glycobiology* 2002, 12:95-101.
- Eckart MR, Selby M, Maisiarz F, et al. The hepatitis C virus encodes a serine protease involved in processing of the putative non-structural proteins from the viral polyprotein precursor. *Biochem Biophys Res Commun* 1993, 192:399-406.
- Egger D, Wölk , Gosert R, et al. Expression of hepatitis C virus proteins induce distinct membrane alterations including candidate viral replication complex. *J Virol* 2002, 76:5974-5984.
- Einav S, Elazar M, Danieli T, et al. A nucleotide binding motif in hepatitis C virus (HCV) NS4B mediates HCV RNA replication. *J Virol* 2004, 78:11288-11295.
- Elazar M, Liu P, Rice CM, et al. An N-terminal amphipathic helix in hepatitis C virus (HCV) NS4B mediates membrane association, correct localization of replication complex proteins, and HCV RNA replication. *J Virol* 2004, 78:11393-11400.
- Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, et al. Comparison of full-length sequences of interferon-sensitive and resistant hepatitis C virus 1b. Sensitivity to interferon is conferred by amino acid substitutions in the NS5A region. *J Clin Invest* 1995, 96:224-230.
- Enomoto N, Sakuma I, Asahina Y, et al. Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. *N Engl J Med* 1996, 334:77-81.
- Evans MJ, von Hahn T, Tscherne DM, et al. Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry. *Nature* 2007, 446:801-805.
- Failla C, Tomei L, DeFrancesco R. Both NS3 and NS4A are required for proteolytic processing of hepatitis C virus nonstructural proteins. *J Virol* 1994, 68:3753-3760.
- Farci P, Shimoda A, Wong D, et al. Prevention of hepatitis C virus infection in chimpanzees by hyperimmune serum against the hypervariable region 1 of the envelope 2 protein. *Proc Nat. Acad Sci USA* 1996, 93:15394-15399.
- Feinstone SM, Kapikian AZ, Purcell RH, et al. Transfusion-associated hepatitis not due to viral hepatitis type A or B. *N Engl J Med* 1975, 292:767-770.
- Feinstone SM, Mihaik KB, Purcell AH, et al. Inactivation of hepatitis B virus and non-A, non-B hepatitis by chloroform. *Infect Immun* 1983, 41:767-770.
- Flint M, Maidens C, Loomis-Price LD, et al. Characterization of hepatitis C virus E2 glycoprotein interaction with a putative cellular receptor, CD81. *J Virol* 1999, 73:6235-6244.
- Friebe P, Lohmann V, Krieger N, et al. Sequences in the 5' nontranslated region of hepatitis C virus required for RNA replication. *J Virol* 2001, 75:12047-12057.

- Friebe P and Bartenschlager R. Genetic analysis of sequences in the 3' nontranslated region of hepatitis C virus that are important for RNA replication. *J Virol* 2002, 76:5326-5338.
- Friebe P, Boudet J, Simorre JP, et al. Kissing-loop interaction in the 3' end of the hepatitis C virus genome essential of RNA replication. *J Virol* 2005, 79:380-392.
- Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR, et al. Peginterferon Alfa-2a plus Ribavirin for Chronic Hepatitis C Virus Infection. *N Engl J Med* 2002, 347:975-982.
- Fukushi S, Katayama K, Kurihara C, et al. Complete 5' noncoding region is necessary for the efficient internal initiation of hepatitis C virus RNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1994, 199:425-432.
- Furuse M, Fujita K, Hiiiragi T, et al. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *J Cell Biol* 1998, 141:1539-1550.
- Gardner JP, Durso RJ, Arrigale RR, et al. L-SIGN (CD209L) is a liver-specific capture receptor for hepatitis C virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, 100:4498-4503.
- Gastaminza P, Cheng G, Wieland S, et al. Cellular determinants of hepatitis C virus assembly, maturation, degradation, and secretion. *J Virol* 2008, 82:2120-2129.
- Germi R, Crance JM, Garin D, et al. Cellular glycosaminoglycans and low density lipoprotein receptor are involved in hepatitis C virus adsorption. *J Med Virol* 68:206-215.
- Grakoui A, McCourt DW, Wychowski C, et al. Characterization of hepatitis C virus-encoded serine proteinase: determination of proteinase-dependent polyprotein cleavage sites. *J Virol* 1993a, 67:2832-2843.
- Grakoui A, McCourt DW, Wychowski C, et al. A second hepatitis C virus-encoded proteinase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993b, 90:10583-10587.
- Gretton SN, Taylor AI, McLauchlan J. Mobility of the hepatitis C virus NS4B protein on the endoplasmic reticulum membrane and membrane-associated foci. *J Gen Virol* 2005, 86:1415-1421.
- Griffin SD, Beales LP, Clarke DS, et al. The p7 protein of hepatitis C virus forms an ion channel that is blocked by the antiviral drug, Amantadine. *FEBS Lett* 2003, 535:34-38.
- Grove J, Huby T, Stamataki Z, et al. Scavenger receptor BI and BII expression levels modulate hepatitis C virus infectivity. *J Virol* 2007, 81: 3162-3169.
- Haqshenas G, Mackenzie JM, Dong X, et al. Hepatitis C virus p7 protein is localized in the endoplasmic reticulum when it is encoded by a replication-competent genome. *J Gen Virol* 2007, 88:134-142.
- Helle F, Dubuisson J. Hepatitis C virus entry into host cells. *Cell Mol Life Sci* 2008, 65:100-112.
- Hellen CU, Pestova TV. Translation of hepatitis C virus RNA. *J Viral Hepat* 1999, 6:79-87.
- Heller TS, Saito J, Auerbach T, et al. An in vitro model of hepatitis C virion production. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 (2005), pp. 2579-2583.
- Heo TH, Chang JH, Lee JW, et al. Incomplete humoral immunity against hepatitis C virus is linked with distinct recognition of putative multiple receptors by E2 envelope glycoprotein. *J Immunol* 2004, 173:446-455.
- Hollinger FB, Gitnick GL, Aach RD, et al. Non-A, non-B hepatitis transmission in chimpanzees: a project of the Transfusion-transmitted Viruses Study Group. *Intervirology* 1978, 10:60-68.
- Honda M, Beard MR, Ping LH, et al. A phylogenetically conserved stem-loop structure at the 5' border of the internal ribosome entry site of hepatitis C virus is required for cap-independent viral translation. *J Virol* 1999, 73:1165-1174.
- Hsu M, Zhang J, Flint M, et al. Hepatitis C virus glycoproteins mediate pH-dependent cell entry of pseudotyped retroviral particles. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, 100:7271-7276.

- Hüssy P, Langen H, Mous J, et al. Hepatitis C virus core protein: carboxy-terminal boundaries of two processed species suggest cleavage by a signal peptide peptidase. *Virology* 1996, 224:93-104.
- Ito T and Lai MMC. Determination of the secondary structure of and cellular protein binding to the 3'-untranslated region of the hepatitis C virus RNA genome. *J Virol* 1997, 71:8698-8706.
- Jennings TA, Chen Y, Sikora D, et al. RNA unwinding activity of the hepatitis C virus NS3 helicase is modulated by the NS5B polymerase. *Biochemistry* 2008, 47:1126-1135.
- Jeong SH, Qiao M, Nascimbeni M, et al. Immunization with hepatitis C virus-like particles induces humoral and cellular immune responses in nonhuman primates. *J Virol* 2004, 78:6995-7003.
- Jin L and Peterson DL. Expression, isolation, and characterization of the hepatitis C virus AT-Pase/RNA helicase. *Arch Biochem Biophys* 1995, 323:47-53.
- Jones CT, Murray CL, Eastman DK, et al. Hepatitis C virus p7 and NS2 proteins are essential for production of infectious virus. *J Virol* 2007, 81:8374-8383.
- Kaito M, Watanabe S, Tsukiyama-Kohara K, et al. Hepatitis C virus particle detected by immunoelectron microscopy study. *J Gen Virol* 1994, 75:1755-1760.
- Kapadia SB, Barth H, Baumert T, et al. Initiation of hepatitis C virus infection is dependent on cholesterol and cooperativity between CD81 and scavenger receptor B type I. *J Virol* 2007, 81:374-383.
- Kato J, Kato N, Yoshida H, et al. Hepatitis C virus NS4A and NS4B proteins suppress translation in vivo. *J Med Virol* 2002, 66:187-199.
- Kato N. Molecular virology of hepatitis C virus. *Acta Med Okayama* 2001, 55:133-159.
- Kato T, Furusaka A, Miyamoto M, et al. Sequence analysis of hepatitis C virus isolated from a fulminant hepatitis patient. *J Med Virol* 2001, 64:334-339.
- Kato T, Date T, Miyamoto M, et al. Efficient replication of the genotype 2a hepatitis C virus subgenomic replicon. *Gastroenterology* 2003, 125:1808-1817.
- Kato T, Date T, Miyamoto M, et al. Nonhepatic cell lines HeLa and 293 support efficient replication of hepatitis C virus genotype 2a subgenomic replicon. *J Virol* 2005, 79:592-596.
- Kim DW, Gwack Y, Han JH, et al. C-terminal domain of the hepatitis C virus NS3 protein contains an RNA helicase activity. *Biochem Biophys Res Commun* 1995, 215:160-166.
- Kim YK, Kim CS, Lee SH, et al. Domains I and II in the 5' nontranslated region of the HCV genome are required for RNA replication. *Biochem Biophys Res Commun* 2002, 290:105-112.
- Kolykhalov AA, Feinstone SM, Rice SM. Identification of a highly conserved sequence element at the 3' terminus of hepatitis C virus genome RNA. *J Virol* 1996, 70:3363-3371.
- Kolykhalov AA, Mihalik K, Feinstone SM, et al. Hepatitis C virus-encoded enzymatic activities and conserved RNA elements in the 3' nontranslated region are essential for virus replication in vivo. *J Virol* 2000, 74:2046-2051.
- Komurian-Pradel F, Rajoharison A, Berland JL, et al. Antigenic relevance of F protein in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2004, 40:900-909.
- Kou YH, Chou SM, Wang YM, et al. Hepatitis C virus NS4A inhibits cap-dependent and the viral IRES-mediated translation through interacting with eukaryotic elongation factor 1A. *J Biomed Sci* 2006, 13:861-874.
- Koutsoudakis G, Kaul A, Steinmann E, et al. Characterization of the early steps of hepatitis C virus infection by using luciferase reporter viruses. *J Virol* 2006, 80:5308-5320.
- Krieger N, Lohmann V, Bartenschlager R. Enhancement of hepatitis C virus RNA replication by cell culture-adaptive mutations. *J Virol* 2001, 75:4614-4624.

- Kuo G, Choo QL, Alter HJ, et al. An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B hepatitis. *Science* 1989, 244:362-364.
- Lavillette D, Tarr AW, Voisset C, et al. Characterization of host-range and cell entry properties of the major genotypes and subtypes of hepatitis C virus. *Hepatology* 2005, 41:265-274.
- Lavillette D, Pécheur EI, Donot P, et al. Characterization of fusion determinants points to the involvement of three discrete regions of both E1 and E2 glycoproteins in the membrane fusion process of hepatitis C virus. *J Virol* 2007, 81:8752-8765.
- Lesburg CA, Cable MB, Ferrari E, et al. Crystal structure of the RNA-dependent RNA polymerase from hepatitis C virus reveals a fully encircled active site. *Nat Struct Biol* 1999, 6:937-943.
- Lin C, Thomson JA, Rice CM. A central region in the hepatitis C virus NS4A protein allows formation of an active NS3-NS4A serine proteinase complex in vivo and in vitro. *J Virol* 1995, 69:4373-4380.
- Lindenbach BD, Evans MJ, Syder AJ, et al. Complete replication of hepatitis C virus in cell culture. *Science* 309 (2005), pp. 623-626.
- Lohmann V, Körner F, Koch JO, et al. Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 1999, 285:110-113.
- Lohmann V, Körner F, Dobierzewska A, et al. Mutations in hepatitis C virus RNAs conferring cell culture adaptation. *J Virol* 2001, 75:1437-1449.
- Lozach PY, Lortat-Jacob H, de Lacroix de Lavalette A, et al. DC-SIGN and L-SIGN are high affinity binding receptors for hepatitis C virus glycoprotein E2. *J Biol Chem* 2003, 278:20358-20366.
- Manns MP, McHutchinson JG, Gordon SC, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001, 358:958-965.
- Matsumoto M, Hwang SB, Jeng KS, et al. Homotypic interaction and multimerization of hepatitis C virus core protein. *Virology* 1996, 218:43-51.
- McKeating JA, Zhang LQ, Logvinoff C, et al. Diverse hepatitis C virus glycoproteins mediate viral infection in a CD81-dependent manner. *J Virol* 2004, 78:8496-8505.
- McLauchlan J, Lemberg MK, Hope G, et al. Intramembrane proteolysis promotes trafficking of hepatitis C virus core protein to lipid droplets. *EMBO J* 2002, 21:3980-3988.
- Meertens L, Bertaux C, Cukierman L, et al. The tight junction proteins claudin-1, -6, and -9 are entry cofactors for hepatitis C virus. *J Virol* 2008, 82:3555-3560.
- Miyanari Y, Atsuzawa K, Usuda N, et al. The lipid droplet is an important organelle for hepatitis C virus production. *Nat Cell Biol* 2007, 9:961-969.
- Molina S, Castet V, Fournier-Wirth C, et al. The low-density lipoprotein receptor plays a role in the infection of primary human hepatocytes by hepatitis C virus. *J Hepatol* 2007, 46:411-419.
- Monazahian M, Böhme I, Bonk S, et al. Low-density lipoprotein receptor as a candidate receptor for hepatitis C virus. *J Med Virol* 1999, 57:223-229.
- Moradpour D, Englert C, Wakita T, et al. Characterization of cell lines allowing tightly regulated expression of hepatitis C virus core protein. *Virology* 1996, 222:52-63.
- Nahmias Y, Casali M, Barbe L, et al. Liver endothelial cells promote LDL-R expression and the uptake of HCV-like particles in primary rat and human hepatocytes. *Hepatology* 2006, 43:257-265.
- Ndjomou J, Pybus OG, Matz B. Phylogenetic analysis of hepatitis C virus isolates indicates a unique pattern of endemic infection in Cameroon. *J Gen Virol* 2003, 84:2333-2341.

- Ohba K, Mizokami M, Lau JYN, et al. Evolutionary relationship of hepatitis C, pesti-, flavi-, plantviruses, and newly discovered GB hepatitis agents. *FEBS Lett* 1996, 378:232-234.
- Op de Beeck A, Montserret R, Duvet S, et al. The transmembrane domains of hepatitis C virus envelope glycoprotein E1 and E2 play a major role in heterodimerization. *J Biol Chem* 2000, 275:31428-31437.
- Otto GA, Lukavsky PJ, Lancaster AM, et al. Ribosomal proteins mediate the hepatitis C virus IRES-HeLa 40S interaction. *RNA* 2002, 8:913-923.
- Pavlovic D, Neville DC, Argaud O, et al. The hepatitis C virus p7 protein forms an ion channel that is inhibited by long-alkyl-chain iminosugar derivatives. *Proc Nat. Acad Sci USA* 2003, 100:6104-6108.
- Pawlotsky JM, CVHEalier S, McHutchinson JG. The hepatitis C virus life cycle as a target for new antiviral therapies. *Gastroenterology* 2007, 132:1979-1998.
- Pietschmann T, Lohmann V, Kaul A, et al. Persistent and transient replication of full-length hepatitis C virus genomes in cell culture. *J Virol* 2002, 76:4008-4021.
- Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, et al. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 1998, 282:938-941.
- Pöhlmann S, Zhang J, Baribaud F, et al. Hepatitis C virus glycoproteins interact with DC-SIGN and DC-SIGNR. *J Virol* 2003, 77:4070-4080.
- Poynard T, Bedossa P, Opolon P et al. Natural history of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Lancet* 1997, 349:825-833.
- Prince AM, Huima-Byron T, Parker TS, et al. Visualization of hepatitis C virions and putative defective interfering particles isolated from low-density lipoproteins. *J Viral Hepat* 1996, 3:11-17.
- Qiao M, Ashok M, Bernard KA, et al. Induction of sterilizing immunity against West Nile virus (WNV) by immunization with WNV-like particles produced in insect cells. *J Infect Dis* 2004, 190:2104-2108.
- Roussel J, Pillez A, Montpellier C, et al. Characterization of the expression of the hepatitis C virus F protein. *J Gen Virol* 2003, 84:1751-1759.
- Sakai A, Claire MS, Faulk K, et al. The p7 polypeptide of hepatitis C virus is critical for infectivity and contains functionally important genotype-specific sequences. *Proc Nat. Acad Sci USA* 2003, 100:11646-11651.
- Santolini E, Migliaccio G, La Monica N. Biosynthesis and biochemical properties of the hepatitis C virus core protein. *J Virol* 1994, 68:3631-3641.
- Santolini E, Pacini L, Fipaldini C, et al. The NS2 protein of hepatitis C virus is a transmembrane polypeptide. *J Virol* 1995, 69:7461-7471.
- Scarselli E, Ansuini H, Cerino R, et al. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J* 2002, 21:5017-5025.
- Schmidt-Mende J, Bieck E, Hugle T, et al. Determinants for membrane association of the hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase. *J Biol Chem* 2001, 276:44052-44063.
- Shavinskaya A, Boulant S, Penin F, et al. The lipid droplet binding domain of hepatitis C virus core protein is a major determinant for efficient virus assembly. *J Biol Chem* 2007, 282:37158-37169.
- Shimizu YK, Feinstone SM, Kohara M, et al. Hepatitis C virus: detection of intracellular virus particles by electron microscopy. *Hepatology* 1996a, 23:205-209.
- Shimizu YK, Igarashi H, Kiyohara T, et al. A hyperimmune serum against a synthetic peptide corresponding to the hypervariable region 1 of hepatitis C virus can prevent viral infection in cell cultures. *Virology* 1996b, 223:409-412.
- Simmonds P. The origin and evolution of hepatitis viruses in humans. *J Gen Virol* 2001, 82:693-712.

- Simmonds P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus – 15 years on. *J Gen Virol* 2004, 85:3173-3188.
- Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005, 42:962-973.
- Simons JN, Leary TP, Dawson GJ, et al. Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis. *Nat Med* 1995, 1:564-569.
- Sizova DV, Kolupaeva VG, Pestova TV, et al. Specific interaction of eukaryotic translation initiation factor 3 with the 5' nontranslated regions of hepatitis C virus and classical swine fever virus RNAs. *J Virol* 1998, 72:4775-4782.
- Song Y, Friebe P, Tzima E, et al. The hepatitis C virus RNA 3'-untranslated region strongly enhances translation directed by the internal ribosome entry site. *J Virol* 2006, 80:1579-11588.
- Spahn CM, Kieft JS, Grassucci RA, et al. Hepatitis C virus IRES RNA-induced changes in the conformation of the 40s ribosomal subunit. *Science* 2001, 291:1959-1962.
- Takahashi K, Kishimoto S, Yoshizawa H, et al. p26 protein and 33-nm particle associated with nucleocapsid of hepatitis C virus recovered from the circulation of infected hosts. *Virology* 1992, 191:431-434.
- Tanaka T, Kato N, Cho MJ, et al. A novel sequence found at the 3' terminus of hepatitis C virus genome. *Biochem Biophys Res* 1995, 215:744-749.
- Tanaka T, Kato N, Cho MJ, et al. Structure of the 3' terminus of the hepatitis C virus genome. *J Virol* 1996, 70:3307-3312.
- Tanji Y, Hijikata M, Satoh S, et al. Hepatitis C virus-encoded nonstructural protein NS4A has versatile functions in viral protein processing. *J Virol* 1995, 69:1575-1581.
- Thiel HJ, Collett MS, Gould EA et al. Family Flaviviridae. In: Fauquet CM, Mayo MA, Maniloff J et al., eds. *Virus Taxonomy:VIIIth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. San Diego: Academic Press; 2005:979-996.
- Thomssen R, Bonk S, Propfe C, et al. Association of hepatitis C virus in human sera with lipoprotein. *Med Microbiol Immunol* 1992, 181:293-300.
- Thomssen R, Bonk S, Thiele A. Density heterogeneities of hepatitis C virus in human sera due to the binding of beta-lipoproteins and immunoglobulins. *Med Microbiol Immunol* 1993, 182:329-334.
- Timpe JM, Stamataki Z, Jennings A, et al. Hepatitis C virus cell-cell transmission in hepatoma cells in the presence of neutralizing antibodies. *Hepatology* 2007, 47:17-24.
- Tomei L, Failla C, Santolini E, et al. NS3 is a Serine protease required for processing of hepatitis C virus polyprotein. *J Virol* 1993, 67:4017-4026.
- Tomei L, Failla C, Vitale RL, et al. A central hydrophobic domain of the hepatitis C virus NS4A protein is necessary and sufficient for the activation of the NS3 protease. *J Gen Virol* 1996, 77:1065-1070.
- Tong MJ, el-Farra NS, Reikes AR et al. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med* 1995, 332:1463-1466.
- Tsukiyama-Kohara K, Iizuka N, Kohara M, et al. Internal ribosome entry site within hepatitis C virus RNA. *J Virol* 1992, 66:1476-1483.
- Varaklioti A, Vassilaki N, Georgopoulou U, et al. Alternate translation occurs within the core coding region of the hepatitis C viral genome. *J Biol Chem* 2002, 277:17713-17721.
- Wakita T, Pietschmann T, Kato T, et al. Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nat Med* 2005, 11:791-796.
- Walewski JL, Keller TR, Stump DD, et al. Evidence for a new hepatitis C virus antigen encoded in an overlapping reading frame. *RNA* 2001, 7:710-721.

- Wang C, Sarnow P, Siddiqui A. Translation of human hepatitis C virus RNA in cultured cells is mediated by an internal ribosome-binding mechanism. *J Virol* 1993, 67:3338-3344.
- Wang H, Shen XT, Ye R, et al. Roles of the polypyrimidine tract and 3' noncoding region of hepatitis C virus RNA in the internal ribosome entry site-mediated translation. *Arch Virol* 2005, 150:1085-1099.
- Webb NR, Connell PM, Graf GA, et al. SR-BII, an isoform of the scavenger receptor BI containing an alternate cytoplasmic tail, mediates lipid transfer between high-density lipoprotein and cells. *J Biol Chem* 1998, 273:15241-15248.
- Weihofen A, Binns K, Lemberg MK, et al. Identification of signal peptide peptidase, a presenilin-type aspartic protease. *Science* 2002, 296:2215-2218.
- Weiner AJ, Brauer MJ, Rosenblatt J, et al. Variable and hypervariable domains are found in the regions of HCV corresponding to the flavivirus envelope and NS1 proteins and the pestivirus envelope glycoproteins. *Virology* 1991, 180:842-848.
- Wölk B, Sansonno D, Kräusslich HG, et al. Subcellular localization, stability, and trans-cleavage competence of the hepatitis C virus NS3-NS4A complex expressed in tetracycline-regulated cell lines. *J Virol* 2000, 74:2293-2304.
- Wünschmann S, Medh JD, Klinzmann D, et al. Characterization of hepatitis C virus (HCV) and HCV E2 interactions with CD81 and the low-density lipoprotein receptor. *J Virol* 2000, 74:10055-10062.
- Xu Z, Choi J, Yen TS, et al. Synthesis of a novel hepatitis C virus protein by ribosomal frameshift. *EMBO J* 2001, 20:3840-3848.
- Xu Z, Choi J, Lu W, et al. Hepatitis C virus F protein is a short-lived protein associated with the endoplasmic reticulum. *J Virol* 2003, 77:1578-1583.
- Yanagi M, St Claire M, Emerson SU. In vivo analysis of the 3' untranslated region of the hepatitis C virus after in vitro mutagenesis of an infectious cDNA clone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999, 96:2291-2295.
- Yi M and Lemon SM. 3' Nontranslated RNA signals required for replication of hepatitis C virus RNA. *J Virol* 2003, 77:3557-3568.
- Yi M, Villanueva RA, Thomas DL, et al. Production of infectious genotype 1a hepatitis C virus (Hutchinson strain) in cultured hepatoma cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006, 103:2310-2315.
- You S and Rice CM. 3' RNA elements in hepatitis C virus replication: kissing partners and long poly(U). *J Virol* 2008, 82:184-195.
- Yu X, Qiao M, Atanasov I, et al. Cryo-electron microscopy and three-dimensional reconstructions of hepatitis C virus particles. *Virology* 2007, 367:126-134.
- Zeisel MB, Koutsoudakis G, Schnober EK, et al. Scavenger receptor class B type I is a key host factor for hepatitis C virus infection required for an entry step closely linked to CD81. *Hepatology* 2007, 46:1722-1731.
- Zhang J, Yamada O, Yoshida H, et al. Autogenous translational inhibition of core protein: implication for switch from translation to RNA replication in hepatitis C virus. *Virology* 2002, 293:141-150.
- Zhang LQ, Randall G, Higginbottom A, et al. CD81 is required for hepatitis C virus glycoprotein-mediated viral infection. *J Virol* 2004, 78:1448-1455.
- Zheng A, Yuan F, Li Y, et al. Claudin-6 and claudin-9 function as additional coreceptors for hepatitis C virus. *J Virol* 2007, 81:12465-12471.
- Zhong J, Gastaminza P, Cheng G, et al. Robust hepatitis C virus infection in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, 102:9294-9299.

Capitolul 7: Profilaxia si vaccinarea in hepatitele virale

Heiner Wedemeyer

Introducere

In ultimele decenii, intelegerea biologiei si modului de transmitere a virusurilor hepatitice s-a imbunatatit semnificativ. Din fericire, incidenta infectiilor cu aceste virusuri a scazut considerabil in majoritatea zonelor globului. Vaccinuri profilactice sunt in prezent disponibile doar pentru infectiile cu virusul hepatitic A si virusul hepatitic B. In ciuda unei activitati enorme de cercetare clinica si fundamentala pentru dezvoltarea unui vaccin impotriva hepatitei C, este foarte putin probabil ca un astfel de vaccin profilactic sau terapeutic, sa fie aprobat in urmatoorii 5-7 ani. Un trial de faza a II a pentru un vaccin antiVHE a aratat rezultate promitatoare; totusi, finalizarea acestui vaccin nu se va realiza in viitorul apropiat. Asadar, profilaxia pentru VHC, VHD (pentru pacientii cu infectii cronice cu VHB) si VHE trebuie sa se realizeze evitand toate caile posibile de expunere la virusurile hepatitice respective, cai ce au fost discutate in detaliu in capitolele 1-4.

Profilaxia infectiilor cu virusuri hepatitice

Hepatita A si E

Virusurile hepatitice A si E sunt de obicei transmise pe cale orala, prin ingestia alimentelor sau apei contaminate. Astfel, precautiile speciale sunt necesare in cazul in care persoane ce provin din zone cu endemicitate scazuta, ca Europa de Vest si SUA, calatoresc in tari cu o inalta prevalenta a infectiilor cu VHA si VHE. Trebuie sa amintim ca hepatita E poate de asemenea sa fie o zoonoza. In Germania, un studiu caz-control recent a aratat ca 32% din toate infectiile cu VHE raportate sunt autohtone, nefiind asociate cu calatoriile in tari endemice (Wichmann 2008). La acesti pacienti consumul de maruntaie si carne de porc mistret este asociat cu infectia cu VHE. Aceasta observatie poate avea implicatii semnificative pentru pacientii imunosupresati atata timp cat cazuri de hepatita cronica E cu dezvoltarea fibrozei avansate au fost descrise la pacientii dupa transplant de organe (Kamar 2008). Virusul hepatitic E a fost identificat frecvent in carnea de porc; fermierii danezi prezinta o prevalenta inalta a anticorpilor VHE. Important, infectia zoonotica cu VHE este de obicei produsa de virusul hepatitic E genotip 3, in timp ce genotipul 1 poate fi intalnit in cazurile de hepatita E asociate calatoriilor in zone endemice (de import). VHA si VHE sunt de asemenea transmise prin transfuzii de sange, desi aceste cazuri sunt foarte rare.

Hepatita B si D

Inainte de introducerea in anii '70 a testarii tuturor produselor de sange pentru Ag HBs, virusul hepatitic B si virusul hepatitic D erau transmise frecvent prin transfuzii de sange. De atunci, transmiterea verticala si cea sexuala au devenit cele mai frecvente cai de infectie cu VHB. Procedurile medicale inca reprezinta o

posibila sursa de transmitere a VHB si de aceea, aplicarea stricta si cu atentie a masurilor igienice standard pentru toate interventiile medicale este absolut obligatorie, nu numai in zonele endemice, dar si in tarile Vestice. Aceasta observatie este valabila in special pentru persoanele imunocompromise care sunt inalt susceptibile la infectia cu VHB, un virus cu o infectivitate foarte inalta (Wedemeyer 1998). Mai mult decat atat, pacientii imunosupresati prezinta risc pentru reactivarea infectiei oculte cu VHB, dupa vindecarea serologica in urma unei hepatite B. Tratamentele cu doze mari de steroizi si rituximab au fost identificate ca factori de risc majori pentru reactivarea VHB (Lalazar 2007). Dupa punerea unui nou diagnostic de infectie cu VHB, toti membrii familiei pacientului trebuie testati pentru statusul lor imun impotriva virusului hepatitic B. Vaccinarea imediata este recomandata pentru toti contactii anti-HBc-negativi ai pacientului. Indivizii AgHBs-pozitivi ar trebui sa aiba contacte sexuale protejate, in cazul in care nu se cunoaste daca partenerul a fost vaccinat.

Hepatita C

Mai putin de 1% din indivizii care sunt expusi la virusul hepatitic C prin intepare cu ace contaminate dezvolta infectie acuta cu VHC. La Scoala Medicala Hannover, pe o perioada de 6 ani nu a aparut nici o seroconversie VHC dupa 166 de expuneri profesionale la sange anti-VHC pozitiv (2000-2005). Studii anterioare publicate la mijlocul anilor '90 au sugerat rate mai mari ale transmiterii VHC prin intepare accidentala cu ace contaminate. Totusi, studii mai recente si cu o amploare mai mare au raportat rate semnificativ mai scazute de hepatita acuta C dupa lezarea cu ace contaminate. S-a realizat recent o revizie sistematica a literaturii, identificand 22 de studii ce raporteaza un total de 6956 de leziuni cu ace contaminate cu VHC; doar 52 de indivizi (0.75%) au fost infectati. Riscul de infectie acuta cu VHC a fost mai mic in Europa - 0.42% comparativ cu Asia de Est - 1.5% (Kubitschke 2007). Prin urmare, riscul de achizitie al infectiei cu VHC dupa inteparea accidentala cu un ac contaminat este mai mic decat cel raportat in mod frecvent. Diferentele in intreaga lume, in ceea ce priveste ratele seroconversiei VHC, pot sugera ca factorii genetici sunt implicati in asigurarea unui anumit nivel de rezistenta naturala impotriva VHC. Factorii asociati cu un risc mai mare de transmitere a VHC par a fi: nivelul viremiei VHC la pacientul index, cantitatea de fluid transmisa si durata intre contaminarea respectivului ac si inteparea accidentala. In Figura 1 sunt sugerate procedurile care ar trebui urmate dupa lezarea cu un ac contaminat.

Relatiile sexuale cu persoane infectate cu VHC au fost clar identificate, ca un risc pentru infectia cu VHC, deoarece in jur de 10-20% din pacientii cu hepatita acuta C le-au raportat ca un potential factor de risc (Tabel 1). Totusi, exista dovezi clare ca riscul achizitiei sexuale a VHC este extrem de scazut la indivizii cu relatii stabile care evita leziunile. Studiile de cohorta incluzand >500 de persoane infectate cu VHC, urmariti pe perioade mai mari de 4 ani, nu au putut identifica nici un caz de transmitere VHC confirmata. Astfel, ghidurile de orientare nu recomanda in general utilizarea prezervativului in cazul relatiilor monogame. Totusi, aceasta afirmatie nu este valabila pentru barbatii homosexuali HIV-pozitivi. Recent, in cadrul acestui grup au fost descrise mai multe focare de hepatita acuta C (Fox 2008; Low 2008). Transmiterea a survenit la cei cu mai multi parteneri sexuali, comportament sexual

cu risc inalt (in special, fisting?) si la utilizarea de droguri pe cale nazala sau anala (Turner 2006).

Screening-ul pentru anti-VHC general al femeilor insarcinate nu este recomandat, datorita prevalentei scazute a virusului hepatitic C in majoritatea tarilor Europei si datorita unei rate de transmitere verticala a VHC relativ scazuta (1-6%). Interesant, transmiterea verticala poate fi mai mare in cazul fetelor decat pentru baieti (European Pediatric Hepatitis C Virus Network 2005). Ratele de transmitere pot fi mai mari in cazul femeilor infectate cu HIV, de aceea femeile insarcinate HIV- pozitive ar trebui testate pentru hepatita C. Alti factori care pot fi asociati cu rate mai mari de transmitere sunt reprezentati de: nivelul viremiei VHC, utilizarea de catre mama a drogurilor in administrare intravenoasa si HLA-urile specifice ale copilului. Operatia de cezariana nu este recomandata mamelor ARN VHC pozitive, deoarece nu exista dovezi clare ca aceasta procedura reduce ratele de transmitere. Copiii nascuti de mame infectate cu VHC ar trebui testati pentru ARN VHC dupa 1 luna, in timp ce anticorpii anti-VHC materni pot fi detectati mai multe luni dupa nastere. Mamele cu hepatita cronica C pot sa-si alapteze copiii, atata timp cat sunt HIV-negative si nu utilizeaza droguri intravenos (European Pediatric Hepatitis C Virus Network 2001).

Recent, un grup spaniol de studiu al hepatitei C acute a identificat internarea in spital, ca fiind un factor de risc semnificativ pentru achizitionarea infectiei cu VHC in aceasta tara (Martinez-Bauer 2008). Informatiile sunt in concordanta cu alte rapoarte din Italia (Santantonio 2006) si SUA (Corey 2006). S-au raportat recent datele din studiile germane Hep-Net despre hepatita acuta cu VHC si s-au gasit 38 de cazuri (15% din intreaga cohorta) de pacienti cu infectie acuta cu VHC; acesti pacienti au declarat procedurile medicale ca fiind cel mai probabil factor de risc pentru infectarea cu VHC (Deterding 2008). Majoritatea acestora (30 de cazuri) au fost internati in spital pentru interventii chirurgicale; alte proceduri invazive, inclusiv tratamentele stomatologice, au fost prezente doar in 4 cazuri. Procedurile medicale au fost semnificativ mai frecvent cauza probabila a infectiei la pacientii cu varsta peste 30 de ani (statistic 0.002), dar neasociate cu severitatea bolii sau cu timpul de la expunere la debutul simptomelor. Astfel, tratamentele medicale per se reprezinta un factor de risc semnificativ pentru infectia cu VHC – chiar si in tarile dezvoltate. Respectarea stricta a masurilor de precautie universale este absolut necesara.

Vaccinarea impotriva hepatitei A

Primul vaccin activ impotriva VHA a fost aprobat in anul 1995. Vaccinurile inactivate disponibile in prezent sunt realizate cu virus cultivat pe fibroblaste umane sau pe celule diploide umane (Nothdurft 2008). Sunt recomandate doua doze de vaccin; cea de-a doua ar trebui administrata intre 6 si 18 luni dupa prima doza. Toate vaccinurile sunt inalt imunogene si practic, toate persoanele sanatoase vaccinate dezvolta anticorpi protectori anti-VHA. La copii si adulti s-au obtinut raspunsuri similare la vaccin; de asemenea, nu s-au observat diferente regionale relevante in ceea ce priveste raspunsul la vaccinarea pentru VHA. Raspunsurile cele mai slabe la vaccin s-au inregistrat la copii mici, care au primit o schema de vaccinare la 0, 1 si 2 luni (Hammit 2008). Pacientii cu boala hepatica cronica nu raspund la vaccinare, dar pot prezenta titruri mai mici anti-VHA (Keeffe 1998). Din

anul 1996 este disponibil un vaccin combinat impotriva VHA si VHB. Acest vaccin trebuie administrat in 3 doze la 0, 1 si 6 luni. Utilizand vaccinul combinat VHA/VHB, mai mult de 80% din indivizii sanatosi au anticorpi VHA detectabili din ziua 21, iar daca se aplica un program de vaccinare accelerat la 0, 7 si 21 de zile, toti subiectii in studiu sunt imuni impotriva VHA la 2 luni (Kallinowski 2003).

Vaccinurile impotriva VHA sunt foarte bine tolerate si nici o reactie adversa serioasa nu a fost legata de administrarea acestora (Nothdurft 2008). Vaccinul poate fi administrat in siguranta impreuna cu alte vaccinuri sau imunoglobuline, fara a compromite dezvoltarea anticorpilor protectori.

Vaccinarea este recomandata pentru diferite grupuri de indivizi, incluzand persoanele neimunizate care intentioneaza sa calatoreasca in tari endemice, personalul medical, barbatii homosexuali, persoanele aflate in contact cu pacienti cu hepatita A si indivizii cu boli hepatice cronice. Unele studii, au sugerat ca pacientii cu hepatita cronica C prezinta un risc mai mare de a dezvolta hepatita A fulminanta (Vento 1998); totusi, aceasta observatie nu a fost confirmata (Deterding 2006). Punerea in aplicare a unui program de vaccinare in copilarie, a condus la un declin semnificativ si impresionant al infectiilor cu VHA in mai multe tari, justificand eforturile ce se fac in continuare pentru a controla raspandirea VHA in tarile endemice (Hendrickx 2008). Majoritatea studiilor au aratat, de asemenea, ca vaccinarea VHA este eficienta din punct de vedere al costului (Rein 2008; Hollinger 2007).

Recent, au fost publicate studii de monitorizare pe termen lung a eficientei vaccinarii cu VHA. Interesant, titrurile VHA au scazut brusc in timpul primului an dupa vaccinare, dar au ramas detectabile la aproape toti indivizii pentru cel putin 10 ani de la vaccinare. Bazandu-se pe aceste studii, s-a estimat ca anticorpii protectori anti-VHA ar trebui sa persiste cel putin 27 de ani dupa vaccinarea copiilor sau adultilor tineri (Hammit 2008).

Vaccinarea impotriva hepatitei B

Vaccinul pentru hepatita B este primul vaccin capabil sa reduca incidenta cancerului. In Taiwan, s-a observat un declin semnificativ al cazurilor de carcinom hepatocelular la copii, dupa implementarea programului de vaccinare universala impotriva VHB (Chang 1997). Acest studiu de referinta a evidentiat utilitatea vaccinarii universale impotriva VHB in tarile endemice. Exista discutii controversate cu privire la raportul cost-eficienta al vaccinarii universale impotriva VHB in zonele cu endemie joasa - UK, Olanda sau Scandinavia (Zuckerman 2007). In anul 1992, Organizatia Mondiala a Sanatatii a recomandat vaccinarea generala, in toate zonele, impotriva hepatitei B. Pe termen lung, hepatita B poate fi eradicata prin implementarea acestei recomandari in intreaga lume, oamenii fiind singura gazda relevanta epidemiologic pentru VHB. Pana la sfarsitul anului 2006, 164 de tari au introdus vaccinul impotriva hepatitei B in programul lor national de imunizare a copiilor (www.who.int; accesat 12 noiembrie 2008).

Primul vaccin impotriva hepatitei B derivat din plasma a fost aprobat de FDA in anul 1981. Vaccinurile recombinante, constand din AgHBs produs din drojdie, au devenit disponibile in anul 1986. In SUA, doua vaccinuri recombinante sunt aprobate (Recombivax® si Engerix-B®), in timp ce, in alte tari sunt utilizate

vaccinuri suplimentare. Vaccinurile sunt administrate in 3 doze, conform unei scheme de vaccinare la 0, 1 si 6 luni.

Cine ar trebui vaccinat? (Ghidul german (Cornberg 2007))

- Persoanele cu risc inalt pentru hepatita B, care lucreaza in unitati sanitare inclusiv stagiarii, studentii, personalul pentru curatenie;
- Personalul din institutiile psihiatrice sau din institutiile de asistenta sociala pentru pacienti cu leziuni cerebrale sau afectiuni psihice; alte persoane la risc, prin contact cu sangele unor indivizi posibil infectati (ex.: persoane care acorda profesional sau voluntar primul ajutor, angajatii serviciului de ambulanta, ofiterii de politie, lucratorii sociali si personalul din inchisoare, care are contact cu toxicomani;
- Pacienti cu boli hepatice cronice, pacienti dializati, pacienti cu frecvente transfuzii de sange sau derivate din sange (ex.: hemofilicii), pacienti aflati inainte de interventii chirurgicale ample (ex.: inaintea operatiilor ce necesita protezare cardio-respiratorie. Caracterul de urgenta al operatiei si dorinta pacientului de a fi vaccinat sunt de importanta primordiala);
- Persoane cu boli hepatice cronice inclusiv bolile cronice cu implicarea ficatului, precum si persoanele HIV-pozitive fara markeri VHB;
- Persoane care prezinta risc de contact cu purtatori de AgHBs din familie sau cu care au in comun locuinta, partenerii sexuali ai purtatorilor de AgHBs;
- Pacientii din institutiile psihiatrice sau rezidentii din institutiile de asistenta sociala pentru persoane cu leziuni cerebrale, precum si persoanele din aziluri;
- Grupuri speciale cu risc inalt (ex.: barbati homosexuali activi, utilizatorii de droguri in mod frecvent, prostituatele, prizonierii condamnati pe termen lung);
- Persoane cu risc de a avea contact cu purtatori de AgHBs in institutii (gradinite, case de copii, case de ingrijire medicala, clase de scoala, grupuri pentru ingrijire ambulatorie);
- Persoane care calatoresc in regiuni cu o prevalenta inalta a hepatitei B, pentru o perioada indelungata de timp sau care vin in contact direct apropiat cu populatia locala;
- Persoane care au fost ranite cu articole posibil contaminate, ex. ace pentru acupunctura (vezi profilaxia post-expunere);
- Copii nascuti de mame AgHBs-pozitive sau cu status AgHBs necunoscut (independent de greutatea la nastere) (vezi profilaxia post-expunere);

Testarea de rutina pentru contacte anterioare cu hepatita B nu este necesara inainte de vaccinare, doar daca persoana apartine unui grup de risc si este posibil sa fi achizitionat inainte hepatita B. Testarea pre-vaccin nu are raport cost-eficienta bun

in cadrul populatiilor cu prevalenta anti-HBc sub 20%. Vaccinarea unui individ AgHBs-pozitiv poate fi realizata fara nici un pericol, ramanand ineficienta.

Eficienta vaccinarii impotriva hepatitei B

Un raspuns bun la vaccinarea pentru VHB este reprezentat de dezvoltarea anticorpilor anti-HBs, care sunt detectabili la 90-95% din indivizi la o luna dupa o schema completa de vaccinare (Wedemeyer 2007; Coates 2001). Raspunsurile sunt mai reduse la persoanele in varsta si la persoanele imunocompromise, ca de exemplu, persoanele cu transplant de organ, pacientii care primesc hemodializa si persoanele infectate cu HIV. In cazul in care nu exista un raspuns la vaccin, alte trei doze de vaccin ar trebui administrate si doza acestuia ar trebui crescuta. Alte posibilitati pentru a creste imunogenitatea vaccinului VHB sunt reprezentate de administrarea intradermica si co-administrarea de adjuvanti si citokine (Cornberg 2007). Raspunsul la vaccinare ar trebui controlat la indivizii cu risc inalt, ca de exemplu, angajatii din domeniul sanatatii si persoanele imunocompromise. Unele ghiduri, recomanda de asemenea testarea persoanelor in varsta dupa vaccinari, deoarece raspunsul la vaccin este mai slab la aceste persoane (Wolters 2003).

Profilaxia post-expunere

Persoanele neimunizate care au fost in contact cu materiale contaminate-VHB (ex.: ace) sau care au avut relatii sexuale cu o persoana infectata cu VHB ar trebui sa se supuna imunizarii active-pasive (imunizare activa plus imunoglobuline specifice antiVHB) cat de repede posibil – de preferinta in primele 48 de ore de la expunerea la VHB. Indivizii anterior vaccinati, dar care au un titru anti-HBs <10 UI/L ar trebui de asemenea sa fie vaccinati atat activ cat si pasiv; daca titrul anti-HBs >100 UI/L nu este necesara nici o actiune; vaccinarea activa singura este suficienta pentru persoanele cu titruri intermediare anti-HBs, intre 10 si 100 UI/L (Cornberg 2007).

Siguranta vaccinului pentru VHB

Cateva sute de milioane de persoane au fost vaccinate impotriva hepatitei B vaccinul fiind in general foarte bine tolerat. Reactiile la locul de injectare in primele 1-3 zile si reactiile generale medii sunt frecvente, dar sunt pasager. Nu este clar daca exista o relatie directa intre vaccinare si modificarile neurologice inregistrate in apropierea vaccinarii, totusi in majoritatea cazurilor raportate evenimentele concomitente sunt mult mai probabil coincidente si nu sunt legate cauzal. Se discuta, de asemenea, posibilitatea ca vaccinarea pentru hepatita B sa induca scleroza multipla sau alte boli demielinizante (Geier 2001; Hernan 2004; Girard 2005), dar nu exista dovezi stiintifice care sa sustina aceasta relatie, studiile efectuate negasind o relatie de tip cauza-efect (Sadovnick 2000; Monteyne 2000; Ascherio 2001; Confavreux 2001; Institute of Medicine Report 2002; CDC 2004; Schattner 2005).

Cat timp asigura imunitate vaccinarea pentru hepatita B?

Cateva studii au fost publicate in ultimii ani urmarind eficacitatea pe termen lung a vaccinarii VHB. Dupa 10-15 ani, intre o treime si doua treimi dintre persoanele vaccinate si-au pierdut complet anticorpii anti-HBs si numai o minoritate au mentinut titruri > 100UI/L. Cu toate acestea in tarile cu endemicitate mica sau medie precum Italia, aceasta pierdere a imunitatii umorale nu a condus la o crestere a cazurilor de infectie cronica sau acuta VHB (Zanetti 2005).

In ce masura raspunsul celulelor B si T de memorie contribuie la protectia impotriva VHB in absenta anticorpilor anti HBs ramane sa fie determinat. Cu toate acestea in tarile cu endemicitate mare (de ex. Gambia) un important procent din nou-nascuti dezvolt anticorpi anti-HBc ceea ce indica infectie activa VHB (18%) si unii copii dezvolt hepatita cronica B (van der Sande 2007). Prin urmare persoanele aflate la risc pot primi imunizare booster daca au pierdut anticorpii HBs.

Preventia transmiterii verticale a VHB

Nou-nascutii din mame AgHBs pozitiv pot fi imunizati activ sau pasiv in primele 12 ore de la nastere. Imunizarea este foarte importanta deoarece rata transmiterii verticale a VHB poate fi astfel redusa de la 95% la 5% (Ranger-Rogez 2004). La mamele cu valori foarte mari ale viremiei, de >50 milioane UI/ml, se poate administra in plus terapie antivirala cu inhibitori ai polimerazei VHB (European Association For The Study Of The Liver 2008). Daca imunizarea activa/pasiva a fost efectuata nu este necesara operatia cezariana la nastere. Mamele cu nou-nascuti vaccinati pot alapta la san cu exceptia celor care au primit medicatie antivirala orala, care poate fi detectata in laptele matern.

Vaccinarea impotriva hepatitei C

Nu exista in acest moment nici un vaccin profilactic sau terapeutic impotriva hepatitei C. Cum reinfectia cu VHC dupa vindecare spontana sau indusa terapeutic a fost raportata frecvent, scopul vaccinarii urmareste acum nu atat sa previna infectia cu VHC cat sa moduleze raspunsul imun in asa fel incat sa reduca cronizarea infectiei.

Raspunsul specific al limfocitelor T joaca un rol important in evolutia naturala a infectiei cu VHC. Raspunsul limfocitelor T este mediat atat de limfocitele T-helper CD4+, cat si de limfocitele T-killer CD8+. Cateva studii au descoperit o relatie intre raspunsul specific VHC, puternic, multispecific si intretinut al limfocitelor CD4+ si CD8+ si rezolutia infectiei acute VHC. In timp ce limfocitele T CD4+ par sa ramana prezente cativa ani dupa vindecare, datele despre persistenta sau declinul in timp al limfocitelor T CD8+ VHC specifice sunt contradictorii. Unele studii au observat un raspuns specific durabil al limfocitelor T la pacientii VHC seronegativi expusi profesional la VHC, sau la cei care convietuiesc cu persoane VHC pozitive, dar care nu au devenit niciodata ARN VHC pozitivi. Aceste observatii sugereaza ca raspunsul specific VHC al limfocitelor T poate fi indus de expunerea subclinica si poate contribui la protectia fata de instalarea infectiei clinice cu VHC. Raspunsul limfocitelor T este de obicei mult mai scazut in hepatita cronica C, atat ca numeric cat si functional. Diferite mecanisme se afla in discutie ca fiind responsabile de aceasta functionare insuficienta a limfocitelor T, incluzand frecventa crescuta a

limfocitelor T reglatorii (T-regs), activitatea modificata a celulelor dendritice, cresterea moleculelor inhibitoare PD-1 la nivelul limfocitelor T si multe altele. Proteinele VHC pot sa contribuie direct sau indirect la scaderea functionarii diferitelor celule imune.

Motivul pentru care scaderea raspunsului imun umoral impotriva VHC contribuie la vindecarea spontana in hepatitele acute C este putin cunoscut. Nivelurile crescute ale anticorpilor neutralizanti la debutul infectiei sunt asociate cu clearance-ul viral (Rehermann 2005).

Pana in prezent au fost efectuate cateva studii de faza I fiecare privind vaccinarea cu peptide VHC, proteine VHC sau vectori recombinati cu expresia proteinelor VHC. Limfocitele T specifice VHC sau anticorpi anti VHC pot fi induse de aceste vaccinuri la pacienti sanatosi. Cu toate acestea va fi dificil de dovedit eficacitatea vaccinului, studiile pe cimpanzei relevand faptul ca este putin probabil ca vaccinul sa fie complet protector impotriva infectiilor VHC heterologe. Totusi o abordare rezonabila pare a fi producerea unui vaccin care sa nu confere protectie 100% impotriva infectiei acute, dar care sa previna evolutia spre infectie cronica. Aceasta abordare poate fi completata cu un tratament antiviral al hepatitei acute C. Este foarte putin probabil ca un vaccin impotriva hepatitei C sa fie introdus in practica in urmatoorii 5-7 ani.

Au fost efectuate unele studii privind vaccinarea terapeutica (Wedemeyer 2006; Klade 2008), care arata ca inducerea raspunsului specific VHC umoral sau celular este posibil chiar si la pacientii cu infectie cronica. Cu toate acestea, pana in prezent nici vaccinarea terapeutica, nici terapiile imunomodulatorii, precum tratamentul cu citokine (interferon gamma; IL-2; IL-10; IL-12) sau agonisti de receptori toll-like nu au aratat beneficii clinice semnificative la pacientii cu hepatita cronica C.

Vaccinarea impotriva hepatitei E

Un studiu de faza II realizat in Nepal a evidentiat o eficacitate de 95% pentru un vaccin impotriva HVE din proteine recombinante (Shrestha 2007), 2000 de soldati primind trei doze de vaccin sau placebo la 0, 1, 6 luni si au fost urmariti ulterior in medie 800 de zile. In afara reactiilor locale la locul injectarii, efectele adverse au fost similare in ambele grupuri, de semnalat insa ca 66 din cei 69 de subiecti care au facut hepatita E au fost din grupul placebo. Din pacate, din cunostintele noastre, nici un studiu de faza III nu este inca inceput pentru completarea dezvoltarii vaccinului, astfel ca nici un vaccin pentru HVE nu va fi disponibil in urmatoorii cativa ani. Pana atunci, masurile de igiena preventiva raman singura optiune in evitarea infectiei.

Referinte

- Ascherio, A., Zhang, S.M., Hernan, M.A., Olek, M.J., Coplan, P.M., Brodovicz, K., and Walker, A.M. (2001). Hepatitis B vaccination and the risk of multiple sclerosis. *N. Engl. J. Med.* 344, 327-332.
- CDC (2004). Recombinant Hepatitis B Vaccine and the Risk of Multiple Sclerosis. Electronic Citation www.cdc.gov/ncidod/diseases/hepatitis/b/hbv_ms.pdf.
- Chang, M.H., Chen, C.J., Lai, M.S., Hsu, H.M., Wu, T.C., Kong, M.S., Liang, D.C., Shau, W.Y., and Chen, D.S. (1997). Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of

- hepatocellular carcinoma in children. Taiwan Childhood Hepatoma Study Group. *N. Engl. J. Med.* 336, 1855-1859.
- Coates, T., Wilson, R., Patrick, G., Andre, F., and Watson, V. (2001). Hepatitis B vaccines: assessment of the seroprotective efficacy of two recombinant DNA vaccines. *Clin. Ther.* 23, 392-403.
- Confavreux, C., Suissa, S., Saddinger, P., Bourdes, V., and Vukusic, S. (2001). Vaccinations and the risk of relapse in multiple sclerosis. *Vaccines in Multiple Sclerosis Study Group. N. Engl. J. Med.* 344, 319-326.
- Corey, K.E., Ross, A.S., Wurcel, A., Schulze Zur, W.J., Kim, A.Y., Lauer, G.M., and Chung, R.T. (2006). Outcomes and treatment of acute hepatitis C virus infection in a United States population. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 4, 1278-1282.
- Cornberg, M., Protzer, U., Dollinger, M.M., Petersen, J., Wedemeyer, H., Berg, T., Jilg, W., Erhardt, A., Wirth, S., Schirmacher, P., Fleig, W.E., and Manns, M.P. (2007). Prophylaxis, diagnosis and therapy of hepatitis B virus (HBV) infection: the German guidelines for the management of HBV infection. *Z. Gastroenterol.* 45, 1281-1328.
- Deterding, K., Tegtmeyer, B., Cornberg, M., Hadem, J., Potthoff, A., Boker, K.H., Tillmann, H.L., Manns, M.P., and Wedemeyer, H. (2006). Hepatitis A virus infection suppresses hepatitis C virus replication and may lead to clearance of HCV. *J. Hepatol.* 45, 770-778.
- Deterding, K., Wiegand, J., Gruner, N., and Wedemeyer, H. (2008). Medical procedures as a risk factor for HCV infection in developed countries: Do we neglect a significant problem in medical care? *J. Hepatol.* 48, 1019-1020.
- European Association For The Study Of The Liver (2008). EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B. *J. Hepatol.*
- European Paediatric Hepatitis C Virus Network. (2001) Effects of mode of delivery and infant feeding on the risk of mother-to-child transmission of hepatitis C virus. *BJOG.* 108, 371-377.
- European Paediatric Hepatitis C Virus Network. (2005). A significant sex--but not elective cesarean section--effect on mother-to-child transmission of hepatitis C virus infection. *J. Infect. Dis.* 192, 1872-1879.
- Fox, J., Nastouli, E., Thomson, E., Muir, D., McClure, M., Weber, J., and Fidler, S. (2008). Increasing incidence of acute hepatitis C in individuals diagnosed with primary HIV in the United Kingdom. *AIDS* 22, 666-668.
- Geier, M.R. and Geier, D.A. (2001). Immunologic reactions and hepatitis B vaccine. *Ann. Intern. Med.* 134, 1155.
- Girard, M. (2005). Autoimmune hazards of hepatitis B vaccine. *Autoimmun. Rev.* 4, 96-100.
- Hammit, L.L., Bulkow, L., Hennessy, T.W., Zanis, C., Snowball, M., Williams, J.L., Bell, B.P., and McMahon, B.J. (2008). Persistence of antibody to hepatitis A virus 10 years after vaccination among children and adults. *J. Infect. Dis.* 198, 1776-1782.
- Hendrickx, G., Van Herck, K., Vorsters, A., Wiersma, S., Shapiro, C., Andrus, J.K., Roper, A.M., Shouval, D., Ward, W., and Van Damme, P. (2008). Has the time come to control hepatitis A globally? Matching prevention to the changing epidemiology. *J. Viral Hepat.* 15 Suppl 2, 1-15.
- Hernan, M.A., Jick, S.S., Olek, M.J., and Jick, H. (2004). Recombinant hepatitis B vaccine and the risk of multiple sclerosis: a prospective study. *Neurology* 63, 838-842.
- Hollinger, F.B., Bell, B., Levy-Bruhl, D., Shouval, D., Wiersma, S., and Van Damme, P. (2007). Hepatitis A and B vaccination and public health. *J. Viral Hepat.* 14 Suppl 1, 1-5.
- Institute of Medicine - Report (2002). Hepatitis B vaccine and demyelinating neurological disorders. Electronic Citation www.cdc.gov/nip/vaccine/hep/hepb/iom.htm.
- Kallinowski, B., Jilg, W., Buchholz, L., Stremmel, W., and Engler, S. (2003). Immunogenicity of an accelerated vaccination regime with a combined hepatitis a/b vaccine in patients with chronic hepatitis C. *Z. Gastroenterol.* 41, 983-990.

- Kamar,N., Selves,J., Mansuy,J.M., Ouezzani,L., Peron,J.M., Guitard,J., Cointault,O., Esposito,L., Abravanel,F., Danjoux,M., Durand,D., Vinel,J.P., Izopet,J., and Rostaing,L. (2008). Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N. Engl. J. Med.* 358, 811-817.
- Keeffe,E.B., Iwarson,S., McMahon,B.J., Lindsay,K.L., Koff,R.S., Manns,M., Baumgarten,R., Wiese,M., Fourneau,M., Safary,A., Clemens,R., and Krause,D.S. (1998). Safety and immunogenicity of hepatitis A vaccine in patients with chronic liver disease. *Hepatology* 27, 881-886.
- Klade,C.S., Wedemeyer,H., Berg,T., Hinrichsen,H., Cholewinska,G., Zeuzem,S., Blum,H., Buschle,M., Jelovcan,S., Buerger,V., Tauber,E., Frisch,J., and Manns,M.P. (2008). Therapeutic vaccination of chronic hepatitis C nonresponder patients with the peptide vaccine IC41. *Gastroenterology* 134, 1385-1395.
- Kubitschke, A., Bader.C, Tillmann, H. L., Manns, M. P., Kuhn, S., and Wedemeyer H. Injury with HCV-contaminated needles: What is the true rate of serconversion? *Internist (Berl)* . 2007.
- Ref Type: In Press
- Lalazar,G., Rund,D., and Shouval,D. (2007). Screening, prevention and treatment of viral hepatitis B reactivation in patients with haematological malignancies. *Br. J. Haematol.* 136, 699-712.
- Low,E., Vogel,M., Rockstroh,J., and Nelson,M. (2008). Acute Hepatitis C in HIV-Positive Individuals. *AIDS Rev.* 10, 245-253.
- Martinez-Bauer,E., Forns,X., Armelles,M., Planas,R., Sola,R., Vergara,M., Fabregas,S., Vega,R., Salmeron,J., Diago,M., Sanchez-Tapias,J.M., and Bruguera,M. (2008). Hospital admission is a relevant source of hepatitis C virus acquisition in Spain. *J. Hepatol.* 48, 20-27.
- Monteyne,P. and Andre,F.E. (2000). Is there a causal link between hepatitis B vaccination and multiple sclerosis? *Vaccine* 18, 1994-2001.
- Nothdurft,H.D. (2008). Hepatitis A vaccines. *Expert. Rev. Vaccines.* 7, 535-545.
- Pestka,J.M., Zeisel,M.B., Blaser,E., Schurmann,P., Bartosch,B., Cosset,F.L., Patel,A.H., Meisel,H., Baumert,J., Viazov,S., Rispeter,K., Blum,H.E., Roggendorf,M., and Baumert,T.F. (2007). Rapid induction of virus-neutralizing antibodies and viral clearance in a single-source outbreak of hepatitis C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 104, 6025-6030.
- Ranger-Rogez,S. and Denis,F. (2004). Hepatitis B mother-to-child transmission. *Expert. Rev. Anti. Infect. Ther.* 2, 133-145.
- Rehermann,B. and Nascimbeni,M. (2005). Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nature Reviews Immunology* 5, 215-229.
- Rein,D.B. and Weinbaum,C.M. (2008). The cost-effectiveness of using hepatitis A/B combined vaccine versus hepatitis B vaccine alone for high-risk heterosexuals. *Vaccine* 26, 5331-5333.
- Sadovnick,A.D. and Scheifele,D.W. (2000). School-based hepatitis B vaccination programme and adolescent multiple sclerosis. *Lancet* 355, 549-550.
- Santantonio,T., Medda,E., Ferrari,C., Fabris,P., Cariti,G., Massari,M., Babudieri,S., Toti,M., Francavilla,R., Ancarani,F., Antonucci,G., Scotto,G., Di,M., V, Pastore,G., and Stroffolini,T. (2006). Risk factors and outcome among a large patient cohort with community-acquired acute hepatitis C in Italy. *Clin. Infect. Dis.* 43, 1154-1159.
- Schattnr,A. (2005). Consequence or coincidence? The occurrence, pathogenesis and significance of autoimmune manifestations after viral vaccines. *Vaccine* 23, 3876-3886.
- Shrestha,M.P., Scott,R.M., Joshi,D.M., Mammen,M.P., Jr., Thapa,G.B., Thapa,N., Myint,K.S., Fourneau,M., Kuschner,R.A., Shrestha,S.K., David,M.P., Seriwatana,J.,

- Vaughn,D.W., Safary,A., Endy,T.P., and Innis,B.L. (2007). Safety and efficacy of a recombinant hepatitis E vaccine. *N. Engl. J. Med.* 356, 895-903.
- Turner,J.M., Rider,A.T., Imrie,J., Copas,A.J., Edwards,S.G., Dodds,J.P., and Stephenson,J.M. (2006). Behavioural predictors of subsequent hepatitis C diagnosis in a UK clinic sample of HIV positive men who have sex with men. *Sex Transm. Infect.* 82, 298-300.
- van der Sande,M.A., Waight,P.A., Mendy,M., Zaman,S., Kaye,S., Sam,O., Kahn,A., Jeffries,D., Akum,A.A., Hall,A.J., Bah,E., McConkey,S.J., Hainaut,P., and Whittle,H.C. (2007). Long-term protection against HBV chronic carriage of Gambian adolescents vaccinated in infancy and immune response in HBV booster trial in adolescence. *PLoS. ONE.* 2, e753.
- Vento,S., Garofano,T., Renzini,C., Cainelli,F., Casali,F., Ghironzi,G., Ferraro,T., and Concia,E. (1998). Fulminant hepatitis associated with hepatitis A virus superinfection in patients with chronic hepatitis C. *N. Engl. J. Med.* 338, 286-290.
- Wedemeyer,H., Cornberg,M., Protzer,U., Berg,T., and Dollinger,M.M. (2007). [German guidelines on diagnosis and therapy of hepatitis B]. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 132, 1775-1782.
- Wedemeyer,H., Pethig,K., Wagner,D., Flemming,P., Oppelt,P., Petzold,D.R., Haverich,A., Manns,M.P., and Boeker,K.H. (1998). Long-term outcome of chronic hepatitis B in heart transplant recipients. *Transplantation* 66, 1347-1353.
- Wedemeyer,H., Van Vlierberghe,H., Blum,H., Nevens,F., Gschwantler,M., Zeuzem,S., Roskams,T., Dincq,S., Vander,S.C., De Winter,H., Maertens,G., and Horsmans,Y. (2006). E1 therapeutic vaccination in patients with chronic HCV genotype 1 infection: Results of a 15 months, placebo-controlled trial. *J. Hepatol.*
- Wichmann,O., Schimanski,S., Koch,J., Kohler,M., Rothe,C., Plentz,A., Jilg,W., and Stark,K. (2008). Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. *J. Infect. Dis.* 198, 1732-1741.
- Wolters,B., Junge,U., Dziuba,S., and Roggendorf,M. (2003). Immunogenicity of combined hepatitis A and B vaccine in elderly persons. *Vaccine* 21, 3623-3628.
- Zanetti,A.R., Mariano,A., Romano,L., D'Amelio,R., Chironna,M., Coppola,R.C., Cuccia,M., Mangione,R., Marrone,F., Negrone,F.S., Parlato,A., Zamparo,E., Zotti,C., Stroppolini,T., and Mele,A. (2005). Long-term immunogenicity of hepatitis B vaccination and policy for booster: an Italian multicentre study. *Lancet* 366, 1379-1384.
- Zuckerman,J., van Hattum,J., Cafferkey,M., Gjorup,I., Hoel,T., Rummukainen,M.L., and Weil-and,O. (2007). Should hepatitis B vaccination be introduced into childhood immunisation programmes in northern Europe? *Lancet Infect. Dis.* 7, 410-419.

Partea 2

Hepatita B si D

Capitolul 8: Diagnosticul in hepatita B acuta si cronica

Oliver Schildgen

Introducere

In ultimii 30 de ani, diagnosticul de laborator al infectiilor virale a fost din ce in ce mai mult influentat de biologia moleculara, in parte si datorita progreselor tehnologice. Testele serologice si virusologice clasice au avansat si chiar au fost inlocuite de noi metode de detectie, tehnici bazate pe amplificarea genica precum PCR si NASBA.

In special pentru hepatita umana tip B aceste dezvoltari tehnologice au fost extrem de importante. Cum am mentionat in capitolul 6, in contrast cu alte virusuri, VHB este extrem de greu de cultivat ceea ce face sa nu poata fi izolat pe nici una din liniile celulare utilizate in mod obisnuit in diagnosticul de laborator. In plus, tehnicile vechi nu aveau sensibilitate atat de mare incat sa depisteze cantitati mici de virus in sange sau produse de sange, si in consecinta au esuat in evitarea transmiterii post-transfuzionale.

Obiectivele testelor de diagnostic in managementul infectiei VHB

Primul obiectiv in diagnosticul infectiei VHB este delimitarea unei infectii acute de una cronica. Ca procedura standard, pacientii cu infectie VHB diagnosticati pe baza simptomatologiei clinice si a nivelului crescut al alanil-aminotransferazei (ALT) trebuie testati pentru anticorpul antiHBc. Antigenul HBc este de obicei crescut in timpul infectiei acute, dar si cronice si este un semn clar al infectiei VHB. Dupa un rezultat pozitiv pentru anticorpul anti-HBc, trebuie cautati anticorpul anti- HBs. Prezenta simultana a celor doi markeri indica o infectie VHB trecuta si acum inactiva. In cazul in care anticorpul anti-Hbc sunt negativi si anticorpul anti-Hbs sunt pozitive, pacientul a fost vaccinat cu succes impotriva VHB. Bazandu-ne pe aceste teste serologice initiale, urmeaza alte investigatii pentru definirea statusului infectiei. Un pacient anti-HBc pozitiv, dar anti-HBs negativ poate fi infectat cronic cu un mutant pre-core VHB sau poate avea o tulpina salbatica VHB cu un nivel scazut al replicarii virale. In acest caz trebuie investigati un numar de parametri, si anume antigenul HBe (AgHBe), anticorpul anti-HBe, antigenul HBs(AgHBs), antigenul HBc (AgHBc), si in final, incarcatura virala cuantificata in echivalenti genomici pe ml de ser. AgHBe este normal exprimat numai in caz de infectie acuta si/sau infectie cronica cu replicare activa de virus. Din pacate, asa numitii mutanti pre-core prezinta replicare activa fara expresia AgHBe, in timp existand un risc mare de progresie catre ciroza si carcinom hepatocelular (HCC). Este demn de remarcat faptul ca la acesti pacienti seroconversia in sistemul HBe care se intalneste pana la 98% dintre subiecti, nu reprezinta un marker de vindecare cum este pentru tipul salbatic de virus.

Dupa ce screeningul serologic este complet si este diagnosticata o infectie VHB cu replicare activa de virus, se vor realiza si teste moleculare (mai scumpe) de

determinare a ADN VHB. In general nivelul ADN VHB este util pentru initierea tratamentului, in monitorizarea eficacitatii si aderenței la tratament, identificarea tulpinilor virale rezistente si a prezentei mutantelor VHB pre-core.

Testele moleculare in diagnosticul si managementul VHB

Utilitatea determinarii cantitative a ADN VHB

Multe societati stiintifice au realizat ghiduri pentru managementul pacientilor infectati cronic VHB (Cornberg 2007; de Franchis 2003; Keeffe 2006; Liaw 2005; Lok 2001; Lok 2004a; Lok 2004b). Toti recomanda o cuantificare initiala a incarcaturii virale si continuarea determinarilor pe perioada monitorizarii. Monitorizarea este considerata a fi impotanta in decizia de initiere a tratamentului sau in schimbarea regimului terapeutic al pacientului. In plus, metodele sensibile de cuantificare sunt necesare pentru detectarea valorilor scazute ale viremiei la pacientii infectati cu tulpini ce prezinta un risc crescut pentru dezvoltarea carcinomului hepatocelular cum sunt mutantele pre-core AgHBe negative.

Criteriul stabilit pentru infectia cronica VHB este incarcatura virala detectabila – masurata ca ADN viral in ser sau plasma – timp de minim 6 luni (de Franchis 2003; Keeffe 2006; Liaw 2005; Lok 2001; Lok 2004a; Lok 2004b). In acest caz, replierea este considerata a fi activa la un nivel mai mare de 20.000 IU/ml sau > 100.000 copii/ml (Cornberg 2007). De asemenea, in hepatitele cronice cu AgHBe-negativ, ADN VHB este singurul marker care trebuie sa fie monitorizat (Manesis 2003; Zacharakis 2005).

In plus, determinarea calitativa si cantitativa a ADN viral este importanta in monitorizarea hepatitelor oculte. Acestea caracterizeaza infectia VHB cu valori masurabile ale ADN in absenta HBsAg detectabil. Testarea pentru hepatita B oculta este recomandata daca (a) se observa o boala hepatica necunoscuta, (b) inaintea unei terapii imunosupresive, si (c) la donatorii de organe cu serologie VHB pozitiva (anticorpi HBc prezenti) (Conjeevaram 2001; Torbenson 2004; Torbenson 2002). Se recomanda ca incarcatura virala sa fie masurata la fiecare 3-6 luni in timpul terapiei anti VHB sau pentru monitorizarea infectiei cronice VHB (de Franchis 2003; Liaw 2005).

De altfel, masurarea incarcaturii virale dupa initierea terapiei este un instrument standard si de ajutor in identificarea non-responderilor (Schildgen 2004; Schildgen 2006; Sirma 2007; Volz 2007). Absenta raspunsului la terapie poate fi indusa de factori ce tin de gazda, rezistenta virala sau lipsa complianței (revizuit de Tillmann 2007). Pentru cuantificarea incarcaturii virale VHB, sunt disponibile cateva teste comerciale, fiecare cu avantaje si dezavantaje (revizuit de Valsamakis 2007).

Utilitatea genotiparii VHB

Genotiparea VHB, desi nu este o procedura standard in clinica, poate fi folositoare, in primul rand pentru ca genotipul viral poate influenta succesul terapeutic, pacientii cu infectie VHB genotip A avand o evolutie mult mai buna comparativ cu cei infectati cu genotip non-A. (Chen 2004; Colombo 2003; Enomoto 2006; Erhardt

2005; Flink 2006; Fung 2004; Guettouche 2005; Kao 2002; Kao 2003; Kao 2000; Kobayashi 2002; Liu 2002; Peters 2004; Sanchez-Tapias 2002; Zhang 1996).

In al doilea rand, genotiparea este cea mai simpla metoda pentru identificarea tulpinilor virale rezistente la analogii nucleozidici sau nucleotidici, aceasta putand orienta decizia de schimbare a terapiei, deoarece rezistenta incrucisata intre inhibitorii de polimeraza VHB joaca un rol important lipsa raspunsului terapeutic (Schildgen 2004; Schildgen 2006; Sirma 2007).

In al treilea rand, genotiparea joaca un rol important in stabilirea lantului epidemiologic in cazul infectiilor nosocomiale sau post-transfuzionale. Genotiparea poate fi realizata folosind metode "in-house" sau metode comerciale de secventiere a intregului genom viral. Recent a fost introdusa o tehnica comerciala PCR urmata de hibridizare Inno-LiPA care acopera mutatii genomice identificate in prealabil, dar sunt obligatorii actualizari repetate ale testului deoarece noi mutatii sunt identificate permanent; mutatiile nou-descoperite nu sunt mereu detectabile in testele comerciale, ceea ce le diferentiaza de metodele de secventiere nucleotidica a intregului genom (Hussain 2003; Hussain 2006; Osiowy 2003; Osiowy 2006). Totusi, Inno-LiPA are marele avantaj de a fi capabila sa depisteze infectiile mixte.

Utilitatea testarii rezistentei antivirale

Odata cu introducerea a tot mai multe medicamente antivirale in practica clinica, in ultima decada optiunea pentru tratamente noi si combinatii ale acestora a fost in crestere accelerata si continua. Ca efect advers al numarului de noi antivirale introduse in practica clinica, dezvoltarea de mutatii rezistente este, de asemenea, in crestere, si este de asteptat ca problema rezistentei antivirale observata la VHB sa devina la fel de complicata ca ceea ce se intampla in perioada actuala in tratamentul infectiei HIV. Prin genotipare mutatiile deja cunoscute pot fi identificate si asociate cu rezistenta, aparitia mutatiilor de rezistenta, cum sunt mutatiile la nivelul secventei YMDD a polimerazei virale, se accentueaza in timpul terapiei. Adevarata provocare pentru virusologi apare cand o mutatie necunoscuta este observata in cursul esecului terapeutic, in aceste cazuri trebuie estimat cat de mult aceasta alta mutatie inca neasociata cu rezistenta contribuie la lipsa de reusita a tratamentului.

In acest caz este nevoie sa se efectueze fenotipare in vitro folosita inasa intr-un numar mic de laboratoare VHB (vezi Capitolul 6), dar din pacate, mutatiile cunoscute pot fi detectate si clasificate prin metodele comerciale, in timp ce noile mutatii raman simple aspecte speculative; prin fenotipare aceste posibile mutatii importante pentru rezistenta raman nedetectabile si subestimate. In plus este probabil folositoare utilizarea noilor solutii din bazele de date electronice care pot ajuta la interpretarea rezultatelor secventierii.

Utilitatea testelor de detectare a mutatiilor core si pre-core

In prezent diagnosticul hepatitei B cronice cu AgHBe-negativ se bazeaza pe o evaluare combinata a markerilor de infectie, si anume: AgHBs pozitiv, AgHBe negativ si ADN viral detectabil, impreuna cu anticorpi anti-HBe pozitivi si evidentierea afectarii hepatice prin valori crescute ale enzimelor hepatice, teste non-invasive de apreciere a fibrozei hepatice sau prin examen histopatologic. Testele comerciale disponibile sunt: teste ce folosesc metode ca PCR, secventierea

nucleotidica si hibridizare, hibridizarea Inno-LiPA, precum si testul Affigene VHB mutant VL19 test (Olivero 2006; Qutub 2006).

Concluzii si directii viitoare

In viitor provocarea majora in diagnosticul infectiei VHB vor fi cresterea numarului de hepatite B cronice cu mutatii de rezistenta, al celor determinate de mutante care eludeaza raspunsul imun, al hepatitelor oculte si al hepatitelor B cronice cu Ag HBe-negativ. Noi instrumente, precum fenotipul virtual bazat pe interpretarea rezultatelor genotiparii intr-o baza de date internationala (cum deja exista pentru interpretarea rezistentei HIV) pot ajuta in interpretarea rezultatelor de laborator. Desi dezvoltarea rapida a acestor teste sofisticate poate ajuta decizia terapeutica si evita terapia neadecvata a infectiei VHB, dezavantajul acestora este reprezentat de costurile mari implicate.

Referinte

- Cornberg M, Protzer U, Dollinger MM, Petersen J, Wedemeyer H, Berg T, Jilg W, Erhardt A, Wirth S, Schirmacher P, Fleig WE, Manns MP. Prophylaxis, Diagnosis and Therapy of Hepatitis-B-Virus-(HBV) Infection: upgrade of the guideline. *Z Gastroenterol*. 2007; 45(6): 525-74.
- Chen, J. D., Liu, C. J., Lee, P. H., Chen, P. J., Lai, M. Y., Kao, J. H., and Chen, D. S. (2004). Hepatitis B genotypes correlate with tumor recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2(1), 64-71.
- Colombo, M., Rumi, M. G., and Ninno, E. D. (2003). Treatment of chronic hepatitis C in Europe. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 10(2), 168-71.
- Conjeevaram, H. S., and Lok, A. S. (2001). Occult hepatitis B virus infection: a hidden menace? *Hepatology* 34(1), 204-6.
- de Franchis, R., Hadengue, A., Lau, G., Lavanchy, D., Lok, A., McIntyre, N., Mele, A., Paumgartner, G., Pietrangelo, A., Rodes, J., Rosenberg, W., and Valla, D. (2003). EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. 13-14 September, 2002 Geneva, Switzerland. Consensus statement (long version). *J Hepatol* 39 Suppl 1, S3-25.
- EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. 13-14 September, 2002: Geneva, Switzerland. Consensus statement (short version). *J Hepatol* 38(4), 533-40.
- Enomoto, M., Tamori, A., and Nishiguchi, S. (2006). Hepatitis B virus genotypes and response to antiviral therapy. *Clin Lab* 52(1-2), 43-7.
- Erhardt, A., Blondin, D., Hauck, K., Sagir, A., Kohnle, T., Heintges, T., and Haussinger, D. (2005). Response to interferon alfa is hepatitis B virus genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D. *Gut* 54(7), 1009-13.
- Flink, H. J., van Zonneveld, M., Hansen, B. E., de Man, R. A., Schalm, S. W., and Janssen, H. L. (2006). Treatment with Peg-interferon alpha-2b for HBeAg-positive chronic hepatitis B: HBsAg loss is associated with HBV genotype. *Am J Gastroenterol* 101(2), 297-303.
- Fung, S. K., and Lok, A. S. (2004). Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection? *Hepatology* 40(4), 790-2.
- Guettouche, T., and Hnatyszyn, H. J. (2005). Chronic hepatitis B and viral genotype: the clinical significance of determining HBV genotypes. *Antivir Ther* 10(5), 593-604.
- Hussain, M., Chu, C. J., Sablon, E., and Lok, A. S. (2003). Rapid and sensitive assays for determination of hepatitis B virus (HBV) genotypes and detection of HBV precore and core promoter variants. *J Clin Microbiol* 41(8), 3699-705.

- Hussain, M., Fung, S., Libbrecht, E., Sablon, E., Cursaro, C., Andreone, P., and Lok, A. S. (2006). Sensitive line probe assay that simultaneously detects mutations conveying resistance to lamivudine and adefovir. *J Clin Microbiol* 44(3), 1094-7.
- Kao, J. H. (2002). Hepatitis B viral genotypes: clinical relevance and molecular characteristics. *J Gastroenterol Hepatol* 17(6), 643-50.
- Kao, J. H. (2003). Hepatitis B virus genotypes and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Intervirol* 46(6), 400-7.
- Kao, J. H., Wu, N. H., Chen, P. J., Lai, M. Y., and Chen, D. S. (2000). Hepatitis B genotypes and the response to interferon therapy. *J Hepatol* 33(6), 998-1002.
- Keeffe, E. B., Dieterich, D. T., Han, S. H., Jacobson, I. M., Martin, P., Schiff, E. R., Tobias, H., and Wright, T. L. (2006). A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States: an update. *Clin Gastroenterol Hepatol* 4(8), 936-62.
- Kobayashi, M., Arase, Y., Ikeda, K., Tsubota, A., Suzuki, Y., Saitoh, S., Kobayashi, M., Suzuki, F., Akuta, N., Someya, T., Matsuda, M., Sato, J., Takagi, K., Miyakawa, Y., and Kumada, H. (2002). Viral genotypes and response to interferon in patients with acute prolonged hepatitis B virus infection of adulthood in Japan. *J Med Virol* 68(4), 522-8.
- Liaw, Y. F., Leung, N., Guan, R., Lau, G. K., Merican, I., McCaughan, G., Gane, E., Kao, J. H., and Omata, M. (2005). Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2005 update. *Liver Int* 25(3), 472-89.
- Liu, C. J., Kao, J. H., Chen, P. J., Lai, M. Y., and Chen, D. S. (2002). Molecular epidemiology of hepatitis B viral serotypes and genotypes in taiwan. *J Biomed Sci* 9(2), 166-70.
- Lok, A. S., and McMahon, B. J. (2001). Chronic hepatitis B. *Hepatology* 34(6), 1225-41.
- Lok, A. S., and McMahon, B. J. (2004a). [AASLD Practice Guidelines. Chronic hepatitis B: update of therapeutic guidelines]. *From J Gastroenterol* 13(2), 150-4.
- Lok, A. S., and McMahon, B. J. (2004b). Chronic hepatitis B: update of recommendations. *Hepatology* 39(3), 857-61.
- Manesis, E. K., Papatheodoridis, G. V., Sevastianos, V., Cholongitas, E., Papaioannou, C., and Hadziyannis, S. J. (2003). Significance of hepatitis B viremia levels determined by a quantitative polymerase chain reaction assay in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B virus infection. *Am J Gastroenterol* 98(10), 2261-7.
- Olivero, A., Ciancio, A., Abate, M. L., Gaia, S., Smedile, A., and Rizzetto, M. (2006). Performance of sequence analysis, INNO-LiPA line probe assays and AFFIGENE assays in the detection of hepatitis B virus polymerase and precore/core promoter mutations. *J Viral Hepat* 13(6), 355-62.
- Osiowy, C., and Giles, E. (2003). Evaluation of the INNO-LiPA HBV genotyping assay for determination of hepatitis B virus genotype. *J Clin Microbiol* 41(12), 5473-7.
- Osiowy, C., Villeneuve, J. P., Heathcote, E. J., Giles, E., and Borlang, J. (2006). Detection of rtN236T and rtA181V/T mutations associated with resistance to adefovir dipivoxil in samples from patients with chronic hepatitis B virus infection by the INNO-LiPA HBV DR line probe assay (version 2). *J Clin Microbiol* 44(6), 1994-7.
- Peters, M. G., Hann Hw, H., Martin, P., Heathcote, E. J., Buggisch, P., Rubin, R., Bourliere, M., Kowdley, K., Trepo, C., Gray Df, D., Sullivan, M., Kleber, K., Ebrahimi, R., Xiong, S., and Brosgart, C. L. (2004). Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 126(1), 91-101.
- Qutub, M. O., Germer, J. J., Rebers, S. P., Mandrekar, J. N., Beld, M. G., and Yao, J. D. (2006). Simplified PCR protocols for INNO-LiPA HBV Genotyping and INNO-LiPA HBV PreCore assays. *J Clin Virol* 37(3), 218-21.

- Sanchez-Tapias, J. M., Costa, J., Mas, A., Bruguera, M., and Rodes, J. (2002). Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology* 123(6), 1848-56.
- Schildgen, O., Schewe, C. K., Vogel, M., Daumer, M., Kaiser, R., Weitner, L., Matz, B., and Rockstroh, J. K. (2004). Successful therapy of hepatitis B with tenofovir in HIV-infected patients failing previous adefovir and lamivudine treatment. *Aids* 18(17), 2325-7.
- Schildgen, O., Sirma, H., Funk, A., Olotu, C., Wend, U. C., Hartmann, H., Helm, M., Rockstroh, J. K., Willems, W. R., Will, H., and Gerlich, W. H. (2006). Variant of hepatitis B virus with primary resistance to adefovir. *N Engl J Med* 354(17), 1807-12.
- Sirma, H., Funk, A., Gerlich, W., and Schildgen, O. (2007). Does pre-treatment with lamivudine prime for adefovir resistance of hepatitis B virus infection? *J Antimicrob Chemother* 60(2), 448-9.
- Tillmann, H. L. (2007). Antiviral therapy and resistance with hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 13(1), 125-40.
- Torbenson, M., Kannangai, R., Astemborski, J., Strathdee, S. A., Vlahov, D., and Thomas, D. L. (2004). High prevalence of occult hepatitis B in Baltimore injection drug users. *Hepatology* 39(1), 51-7.
- Torbenson, M., and Thomas, D. L. (2002). Occult hepatitis B. *Lancet Infect Dis* 2(8), 479-86.
- Valsamakis, A. (2007). Molecular testing in the diagnosis and management of chronic hepatitis B. *Clin Microbiol Rev* 20(3), 426-39, tabel of contents.
- Volz, S., Schildgen, O., Muller, A., Tillmann, R. L., Eis-Hubinger, A. M., Kupfer, B., Bode, U., Lentze, M. L., and Simon, A. (2007). [The human bocavirus: pathogen in airway infections?]. *Dtsch Med Wochenschr* 132(28-29), 1529-33.
- Zacharakis, G. H., Koskinas, J., Kotsiou, S., Papoutselis, M., Tzara, F., Vafeiadis, N., Archimandritis, A. J., and Papoutselis, K. (2005). Natural history of chronic HBV infection: a cohort study with up to 12 years follow-up in North Greece (part of the Interreg I-II/EC-project). *J Med Virol* 77(2), 173-9.
- Zhang, X., Zoulim, F., Habersetzer, F., Xiong, S., and Trepo, C. (1996). Analysis of hepatitis B virus genotypes and pre-core region variability during interferon treatment of HBe antigen negative chronic hepatitis B. *J Med Virol* 48(1), 8-16

Capitolul 9: Tratamentul infectiei VHB - Terapia standard

Florian van Bömmel & Thomas Berg

Introducere

La nivel mondial exista peste 350 milioane de indivizi infectati cu VHB, ceea ce face ca hepatita B cronica sa ramana o problema majora de sanatate publica in ciua existentei unui vaccine profilactic.(EASL 2002). Persoanele cu infectie cronica prezinta un risc semnificativ crescut pentru complicatiile cu risc vital: decompensarea hepatica, ciroza hepatica si carcinomhepatocelular (CHC) (Beasley 1988). Studii recente au aratat ca prezenta unor nivele ADN VHB serice detectabile pe o perioada mai mare de 10 ani se coreleaza cu riscul dezvoltarii cirozei si CHC (Figura 1) (Iloeje 2006; Chen 2006). Prin urmare, obiectivul major al terapiei este supresia replicarii VHB pana la un nivel nedetectabil pentru testele sensibile de diagnostic.

Pentru tratamentul infectiei cronice cu VHB sunt aprobate doua clase de agenti: prima, analogii nucleozidici antivirali, inhibitori directi ai replicarii ADN-ului VHB si a doua, terapiile cu interferon α ce moduleaza atat raspunsul imun al gazdei cat si replicarea virala.

In ultimii ani a crescut numarul medicamentelor aprobate pentru tratamentul infectiei cronice cu VHB. In Europa sunt disponibile sapte medicamente pentru tratamentul hepatitei B cronice: interferon α -2a standard; α -2b; PEG-IFN α -2a; analogii nucleozidici lamivudina; telbivudina si entecavir si analogii nucleozidici aciclici adefovir si tenofovir. Alti analogi nucleotidici cu activitate antivirala impotriva VHB precum emtricitabina, clevudina, torcitabina, amdoxovir si alamifovir sunt in curs de evaluare clinica.

Datorita acestei multitudini de optiuni terapeutice, in majoritatea cazurilor, stoparea progresiei infectiei cu VHB si profilaxia complicatiilor pot fi rezolvate daca infectia este diagnosticata la timp si tratata eficient. Un rol important in managementul infectiei cu VHB il joaca diagnosticarea timpurie a hepatitei B cronice prin screeningul pentru prezenta AgHBs efectuat in randul grupelor cu risc crescut si la pacientii cu transaminaze crescute.

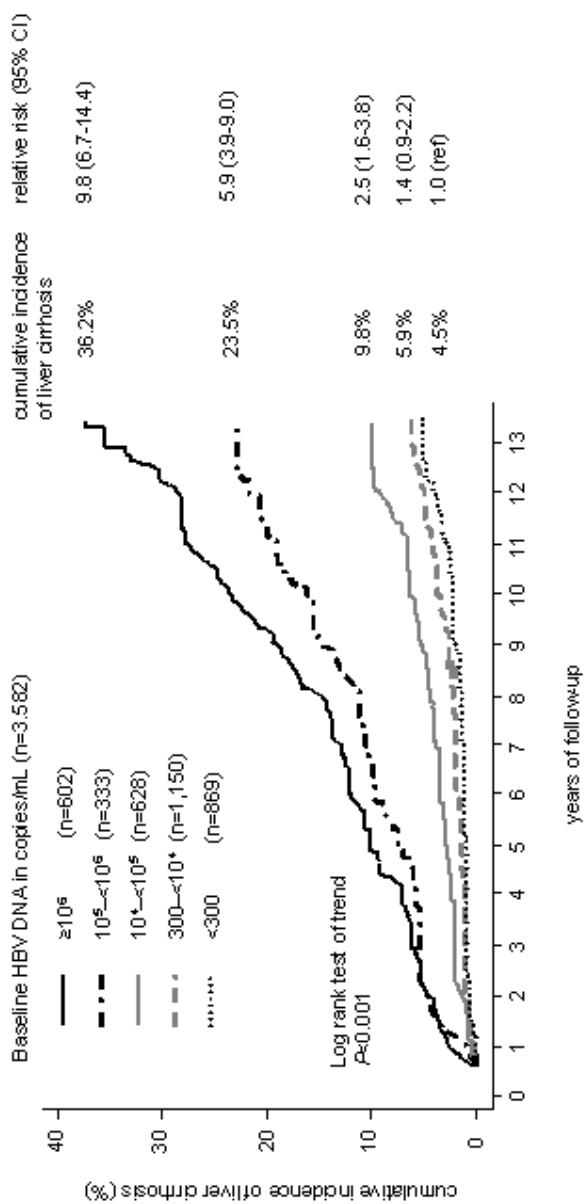


Figura 1. Incidența cumulativă a cirozei hepatice la pacienții infectați VHB și netratați pe o perioadă medie de 11.4 ani (studiul REVEAL). Incidența cirozei hepatice crește cu timpul în funcție de nivelul inițial al VHB (Cornberg 2007).

Obiectivele terapiei antivirale

Obiective finale al tratamentului

Scopul terapiei în hepatita B cronică este reducerea morbidității și mortalității asociate infecțiilor cu VHB precum insuficienței hepatice și carcinomului hepatocelular (CHC) și creșterea supraviețuirii. Pentru a evalua succesul terapiei trebuie utilizați markeri surrogat în timpul și după terminarea tratamentului ceea ce ridică problema valorii diferitelor parametrii (e.g., transaminaze, histologie hepatică, stadiul AgHBe și AgHBs, nivelul ADN VHB) ca predictorii timpurii ai rezultatelor favorabile pe termen lung pentru profilaxia complicațiilor asociate VHB.

În două studii recente a fost demonstrată o corelație stransă între nivelurile inițiale de ADN VHB și progresia bolii. În studiul REVEAL, timp de 11.4 ani, în Taiwan, 3774 de persoane infectate VHB și netratate, au fost urmărite (Iloeje 2006; Chen 2006). Nivelul inițial al ADN-ului VHB a fost cel mai bun marker predictiv pentru apariția cirozei și CHC (Figura 1). Modelele multivariate au arătat că riscul relativ de ciroză a crescut atunci când nivelul ADN-ului VHB a atins valori egale sau mai mari de 300 copii/mL independent de prezența/absența AgHBe. Riscul relativ a fost de 1.4 pentru pacienții cu o încărcătură virală cuprinsă în intervalul 300 - 1000 copii/mL și a crescut la 2.4 pentru pacienții cu 1000 - 10.000 copii/mL, 5.4 pentru pacienții cu 10.000 - 100.000 copii/mL și 6.7 pentru pacienții cu o încărcătură virală de peste 1 milion copii/mL. În plus, pacienții cu un număr mai mare sau egal cu 10^4 copiiADN/VHB/mL (≥ 2000 IU/ml) prezentau o incidență a cancerului hepatic de 3-15 ori mai mare comparativ cu cei cu mai puțin de 10^4 copiiADN/VHB/mL. Se poate astfel concluziona că supresia completă și de durată a replicării VHB reprezintă un marker surrogat fiabil pentru progresia clinică a bolii hepatice. În cadrul meta-analizei a 26 de studii prospective cu privire la eficacitatea tratamentului la pacienții infectați VHB, s-a arătat o corelație statistic semnificativă între nivelul încărcăturii virale din timpul terapiei și răspunsul histologic, biochimic și serologic (Mommeja-Marin 2003).

La pacienții AgHBe-pozitivi s-a arătat că seroconversia către anti-HBe reprezintă un marker surrogat fidel pentru prognosticul infecției cronice, în multe cazuri semnaland trecerea către statusul de purtător inactiv de AgHBs (Figura 2). La acești pacienți AgHBs rămâne detectabil dar replicarea VHB este controlată, cu niveluri scăzute sau chiar nedetectabile, și transaminazele sunt în general în limite normale. Monitorizarea pe termen lung a arătat totuși că seroconversia AgHBe nu este întotdeauna garanția remisiunii hepatitei cronice. La un procent de până la 30% dintre pacienți poate surveni o reactivare a bolii cu “sero-reversie” (de exemplu, pozitivarea AgHBe) sau o tranziție către o hepatită B cronică cu AgHBe-negativ dar cu niveluri crescute ale ADN-ului VHB (desori fluctuante). Prin urmare, seroconversia AgHBe trebuie privită ca un obiectiv final numai în corelație cu supresia completă și susținută (durabilă) a ADN-ului VHB.

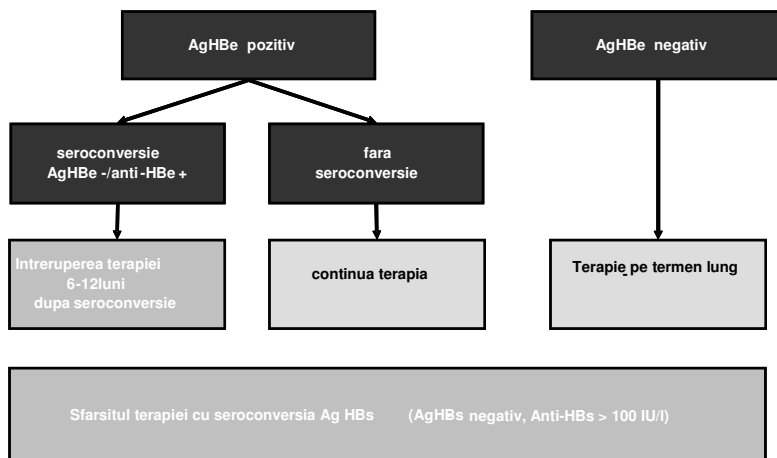


Figura 2. Deziderate terapeutice posibile in infectia cu VHB . Dupa seroconversia AgHBs sau AgHBs, tratamentul antiviral poate fi oprit. Cu toate acestea, se recomanda mentinerea tratamentului o perioada de 6-12 luni de la primul semn al seroconversiei AgHBs sau AgHBs.

In mod diferit, pentru pacientii infectati VHB cu AgHBs-negativ obiectivul final al terapiei este mai dificil de evaluat; supresia replicarii VHB si normalizarea transaminazelor reprezinta singurele moduri de evaluare a raspunsului la terapie. Totusi, nivelurile normale ale transaminazelor si supresia replicarii VHB nu garanteaza o remisie sustinuta. Dupa oprirea terapiei trebuie monitorizata durabilitatea raspunsului tinand cont de evolutia fluctuanta a hepatitei B cronice cu AgHBs negativ. Este binecunoscut faptul ca mentinerea unui nivel nedetectabil al ADN-ului VHB si a activitatii normale a transaminazelor sunt mai putin evidente la pacientii monitorizati timp mai indelungat.

Pierderea AgHBs sau seroconversia catre anti-HBs reprezinta scopul final al terapiei antivirale si semnaleaza vindecarea infectiei cronice. Pierderea AgHBs sau seroconversia catre anti-HBs se asociaza cu o vindecare completa si definitiva a hepatitei B cronice si cu un rezultat bun pe termen lung. Cu toate acestea, pierderea AgHBs sau seroconversia pot fi induse numai la un numar limitat de pacienti dupa un tratament de scurta durata (<5%). Interesant este faptul ca s-a demonstrat in studiile recente de monitorizare a pacientilor in terapie cu PEG-IFN α , precum si analogi nucleozidici, comparativ cu studiile pe termen lung, o crestere a ratei de clearance a AgHBs. Rata clearancelui seric al AgHBs in timpul terapiei cu analogi nucleozidici este probabil corelata cu durata perioadei in care replicarea VHB este scazuta. Prin urmare se pare ca odata cu cresterea duratei tratamentului, in viitor, se vor observa rate mai inalte ale clearancelui AgHBs/seroconversiei.

Cu toate acestea, datorita ciclului replicativ aparte al VHB, care implica ramanerea in nucleu a ADN-ului epizomal ccc, covalent circular complementar (ADNccc, ADN covalently closed circular), la toti pacientii cu infectie VHB persista in hepatocite, timp de zeci de ani dupa seroconversia AgHBs, o matrita celulara a genomului viral (Rehermann 1996). Prin urmare, se crede ca datorita persistentei

ADNccc nu este posibila eradicarea completa a VHB. Reactivarea infectiei VHB se poate produce in anumite circumstante din aceste rezervoare nucleare chiar si dupa zeci de ani de la disparitia AgHBs, de exemplu in timpul terapiei imunosupresive sau chimoterapiei, in special cu medicamente precum rituximab.

Criterii de evaluare a raspunsului la terapie:

Virusologice:

- Scadere sustinuta a ADN-ului VHB, pana la cel putin sub 10^4 copii/ml (2×10^3 IU/ml), ideal pana la mai putin de 300 copii/ml (60 IU/ml).
- Seroconversie sustinuta la antiHBe la pacientii AgHBe pozitivi
- ideal, eliminarea AgHBs

Biochimice:

- normalizarea sustinuta a nivelului transaminazelor

Histologice:

- reducerea stadiului de fibroza sau absenta progresiei
- reducerea activitatii inflamatoare

Efecte potentiale pe termen lung:

- evitarea cirozei, carcinomului hepatocelular (CHC), transplantului, si mortalitatii

Indicatiile terapiei antivirale

Hepatita B acuta

Hepatita acuta se vindeca spontan in 95-99% din cazuri. Efectul terapiei antivirale in hepatita B acuta nu a fost niciodata stabilit cu rigurozitate dar datorita ratei inalte de cazuri de vindecare spontana la adulti, nu este recomandata terapia cu medicamentele disponibile. Exista un singur studiu randomizat cu control placebo efectuat in India in care tratamentul cu lamivudina la pacienti cu hepatita acuta nu are nici un beneficiu fata de grupul placebo (Kumar 2007). Nu sunt disponibile date din Europa si SUA cu privire la terapia antivirala in hepatita B acuta cu functie hepatica compensata.

In mai multe cazuri insa s-a demonstrat ca tratamentul timpuriu cu lamivudina sau alti analogi nucleotidici in hepatita B fulminanta poate fi benefic reducand nevoia transplantului hepatic de urgenta (Tillmann 2006; Lisotti 2008). Terapia orala de urgenta pare justificata in cazurile cu disfunctie hepatica de sinteza pentru prevenirea insuficientei hepatice fulminante (scaderea valorilor TPZ, cresterea INR-ului).

Hepatita B cronică

Pacienții AgHB_s pozitivi, cu hepatita B cronică, pot fi considerați posibili candidați la terapia antivirală, în special în situațiile când există un nivel de replicare virală semnificativă. Conform normelor în vigoare din punct de vedere al indicației terapeutice nu mai este necesar să diferentiem între hepatita B cronică cu AgHB_e-pozitiv (tipul salbatic) și AgHB_e-negativ (mutantele precoce). Cu toate acestea, luând în considerare alegerea corectă a medicamentelor antivirale, statusul AgHB_s poate fi util.

În Tabelul 1 (Ghidul terapiei antivirale în infecția VHB, vezi <http://hepatologytextbook.com/link.php?id=1>) sunt prezentate recomandările diferitelor societăți naționale și internaționale. În trecut inițierea terapiei se stabilea pe baza activității histologice dovedite, însă astăzi nivelul ADN-ului VHB a devenit cel mai relevant și important mod de evaluare. Prin urmare majoritatea ghidurilor recent publicate recomandă terapia antivirală la pacienții cu niveluri ale ADN-ului VHB de peste 10.000 copii/mL (>2000 IU/mL), concomitent cu valori ale transaminazelor de două ori peste limita superioară a valorii normale, și fibroza hepatică semnificativă, demonstrată de histologia hepatică mai mare de A1/F1.

Biopsia hepatică este utilă în luarea deciziilor terapeutice la inițierea terapiei, întrucât da informații asupra progresiei leziunilor hepatice, și mai târziu, în schimbarea terapiei antivirale atunci când/dacă există esec terapeutic. Biopsia hepatică nu este totuși întotdeauna obligatorie deoarece majoritatea țărilor au ghiduri terapeutice pe baza cărora se face alegerea tratamentului optim - vezi tabelul 1 (Arkaca 2008; Buster 2008; Carosi 2008; Colle 2007; Cornberg 2007; EASL 2008; Juszczak 2008; Keefe 2007; Liaw 2008).

Terapia antivirală trebuie începută obligatoriu la pacienții cu ciroza hepatică sau fibroza marcată, însoțite de ADN VHB detectabil, o diagramă a indicațiilor terapeutice continuate de recentul ghid german privind tratamentul infecției VHB putând fi urmărită în figura 3 (Cornberg 2007); la pacienții cu ciroza decompensată (Child B sau C) PEG-IFN α este însă contraindicat.

Purtătorii “sanatoși” de Ag HB_sAg, caracterizați prin absența AgHB_e circulant (și anticorpi anti-HB_e prezenți), niveluri scăzute de ADN VHB (<10.000 copii/ml) nivel normal de transaminaze serice și histologie hepatică normală pot fi excluși de la inițierea terapiei antivirale. Diferențierea între purtătorii “sanatoși” de Ag HB_s și pacienții cu hepatita cronică AgHB_e-negativă este de obicei dificil de realizat, creșterea nivelului transaminazelor serice nefiind un parametru fiabil în aprecierea stadiului fibrozei și nici în prognosticul pe termen lung al pacienților cu hepatita cronică. Chiar și pacienții care prezintă creșteri usoare ale transaminazelor serice au un risc semnificativ de apariție a complicațiilor induse de infecția VHB (Lok 2000; Werle-Lapostolle 2004), de aceea este indicată determinarea nivelului încărcăturii virale VHB la intervale de 3-6 luni, care poate lua valori fluctuante. În plus, se poate folosi biopsia hepatică la pacienții la care încărcătura virală este scăzută, dar nivelul transaminazelor serice este crescut.

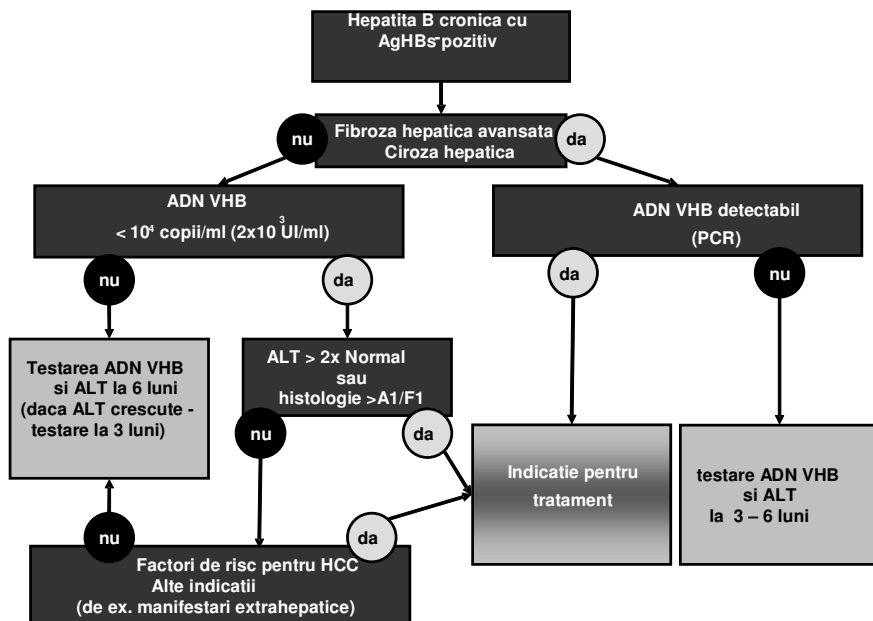


Figura 3. Abordarea indicațiilor terapeutice după ghidul german de tratament al infecției VHB.¹⁶ Tratamentul trebuie inițiat la pacienții cu încărcături virale mai mare de 10^4 copii ADN VHB/ml, asociată cu semne de evolutivitate precum transaminazemie crescută peste dublul normalului sau histologie hepatică cu activitate necro-inflamatorie și fibroză prezente ($> A1/F1$). De semnalat faptul că purtătorii asimptomatici care prezintă antecedente heredo-colaterale de HCC ar trebui tratați, chiar în lipsa simptomatologiei de afectare hepatică.

Există și o categorie de pacienți imunotoleranți pentru infecția VHB, care au în general sub 30 ani, și care prezintă încărcături virale ADN VHB înaltă și AgHBc plasmatic pozitiv, dar care prezintă histologie și transaminazemie normale, și care după majoritatea ghidurilor terapeutice nu au indicație de terapie imediată. Din contra, pacienții din această categorie, dar care prezintă risc crescut de dezvoltare a HCC – au antecedente heredo-colaterale de HCC sau provin din zone hiperendemice ca Asia ori Africa – ar trebui tratați neapărat. Acest lucru trebuie în continuare studiat, dar mai ales trebuie clarificat efectul administrării timpurii a terapiei antivirale asupra riscului de dezvoltare a HCC pe termen lung.

Indicațiile de terapie: sumar al recomandărilor ghidului german

- Toti pacienții cu hepatita cronică B sunt potențiali candidați pentru terapia antivirală, determinările principale care trebuie luate în considerare fiind: nivelul replicării virale (limita încărcăturii virale este de 10^4 copii ADN VHB/ml, corespunzător cu 2×10^3 UI/ml), gradul de inflamație și fibroza hepatică evaluate pe punctia-biopsie și nivelul transaminazelor serice

- Terapia antivirală este indicată în mod obligatoriu la pacienții cu leziuni de fibroză avansată sau ciroză hepatică, mai ales dacă au viremie detectabilă.
- Trebuie indicată terapie antivirală preventivă în situațiile care implică imunosupresie, ceea ce poate reactiva replicarea virală VHB, crescând astfel riscul de decompensare acută și ciroză.
- Alcoolul și consumul de droguri nu reprezintă contraindicații pentru tratamentul cu analogi nucleozidici.
- Sarcina reprezintă o contraindicație pentru orice terapie antivirală, și aceasta poate fi indicată doar în momentul în care beneficiul depășește riscul asociat medicației.
- În anumite cazuri terapia poate fi justificată de indicații particulare legate de aspecte ocupaționale și sociale sau de complicațiile extrahepatice ale infectiei VHB.

Opțiuni terapeutice în infecția VHB

Există două clase de medicamente utilizate până în prezent pentru tratarea infecției VHB: interferonul α (IFN α) - standard sau pegylat și inhibitorii polimerazei virale VHB, de tip analogi nucleozidici sau analogi nucleotidici aciclici.

Deși IFN α a fost o constantă multi ani în tratamentul infecției VHB, totuși numărul mare de reacții adverse pe care le produce limitează durata terapiei la 6-12 luni, maximum 24 luni. Toleranța față de analogii nucleozidici este mai bună, de aceea pot fi utilizați în terapia de lungă durată a infecției VHB, dar dezavantajul acestora este reprezentat de posibilitatea apariției de mutante virale rezistente la tratament. Posologia și denumirile comerciale pentru cele două forme de interferon (IFN α -2b și PEG-IFN α -2a) ca și pentru analogii nucleozidici (lamivudina, adefovir, telbivudine, entecavir și tenofovir) sunt listate în tabelul 2.

Tabel 2: Medicamente acceptate pentru tratamentul infecției VHB

Substanța activă	Denumire comercială	Doza	Durata
<i>Interferon-α</i>			
Interferon- α 2a standard	Roferon®	2.5-5 MIU/m ² suprafața corporală 3x /săptămână	4-6 luni
Interferon- α 2b standard	Intron A®	5-10 MIU 3x/săptămână	4-6 luni
Interferon- α 2a pegylat	Pegasys®	180 μ g/săptămână	48 săptămâni
<i>Analogi nucleozidici</i>			
Lamivudina	Zeffix®	100 mg/zi	a la long*
Telbivudina	Sebivo®	600 mg/zi	a la long*
Entecavir	Baraclude®	0,5 mg/zi 1 mg/zi la pacienții cu rezistență la lamivudina	a la long* a la long*
<i>Analogi nucleotidici</i>			
Adefovir dipivoxil	Hepsera®	10 mg/zi	a la long*
Tenofovir disoproxil fumarat	Viread®	245 mg/zi**	a la long*

* vezi figura 6

** 300 mg tenofovir disoproxil fumarat corespund la 245 mg tenofovir disoproxil

Eficacitatea medicamentelor - exprimata prin procentul de pacienti cu incarcare virala ADN VHB nedetectabila, normalizarea transaminazelor si seroconversie in sistemul antigenic HBe dupa un an de terapie este reprezentata in figura 4.

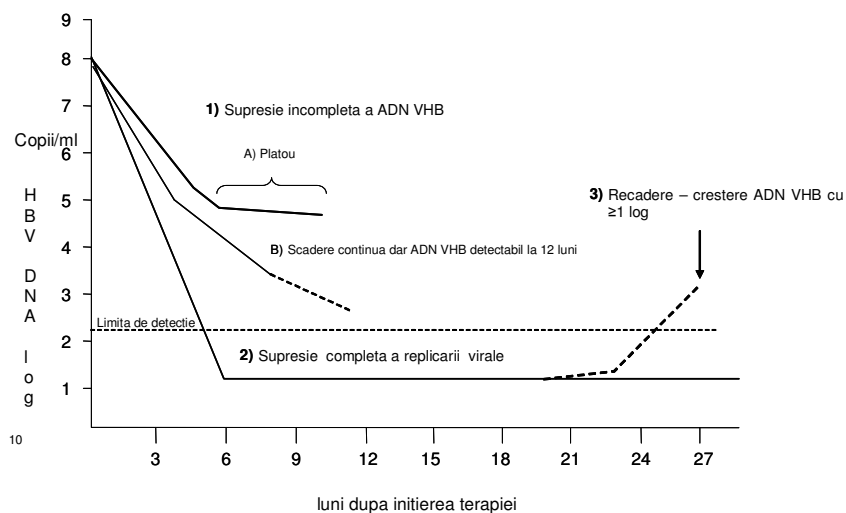


Figura 4. Tipuri de evolutie post terapie - exprimate prin supresia incarcaturii virale ADN VHB dupa un an de terapie, normalizarea transaminazelor si seroconversie in sistemul antigenic HBe (diferentele de evolutie nu sunt rezultatul unor studii comparative).

Interferonii

Interferonii reprezinta citokine produse natural, cu efecte antivirale, antitumorale si imunomodulatorii. Eficacitatea terapeutică a IFN α poate fi corelată frecvent cu apariția unei creșteri a ALT serice, cu un varf dublu ca valoare față de baseline și care precede de obicei apariția răspunsului virusologic.

Obiectivul principal al tratamentului cu interferon standard sau PEG-IFN este obținerea remisiei de lungă durată, cu atât mai mult cu cât durată terapiei nu poate depăși 12 luni. În general, remisia de lungă durată - definită prin apariția seroconversiei în sistemul antigenic HBe sau supresia replicării virale observată prin ADN VHB plasmatic nedetectabil - se obține la aproximativ 30% dintre pacienții corect tratați (Cooksley 2003). La acești pacienți-responder posibilitatea menținerii pe termen lung a clearance-ului Ag HBs este relativ crescută.

Utilizarea IFN Standard:

IFN α standard a fost aprobat pentru tratamentul hepatitei cronice B în anul 1992, fiind indicat în doze variind între 5 milioane unități (MIU) și 10 MIU de trei ori pe săptămână (sau la două zile). Utilizând o meta-analiză pentru determinarea efectului

terapiei asupra evoluției hepatitei cronice B cu Ag HBe pozitiv, s-a observat îmbunătățirea semnificativă a leziunilor hepatice la pacienții tratați cu IFN alpha standard față de cei netratați, remisia completă a fibrozei fiind cel mai frecvent asociată și cu clearance-ul antigenului HBs; în plus, la pacienții tratați s-a observat tendința de reducere a ratei de decompensare hepatică, de apariție a carcinomului hepatocelular și a decesului de cauze hepatice (Lau 2007).

Și la pacienții cu hepatita cronică B cu Ag HBe negativ s-a observat scăderea semnificativă a transaminazelor serice și a nivelului încărcăturii virale ADN VHB după terapia cu interferon alpha, dar rata de recăderi după întreruperea tratamentului – evidențiată prin creșterea ALT și a nivelului ADN VHB plasmatic - este mare (25-89%) (Hadziyannis 2006; Lok 2007). Rata de recăderi pare a fi crescută în cazul terapiei de scurtă durată (16 - 24 săptămâni) comparativ cu terapia mai îndelungată (12 - 24 luni) – un studiu retrospectiv privind efectul terapiei cu durată de 5 și, respectiv, 12 luni a arătat creșterea de 1.64 ori a ratei de răspuns terapeutic de lungă durată la pacienții tratați 12 luni (normalizarea ALT, ADN VHB $<1 \times 10^6$ copii/ml la 1-7 ani de la oprirea medicației), cu rate de răspuns virologic de 54% la sfârșitul terapiei, 24% la 1 an după, și 18% - la 7 ani după încheierea tratamentului (Hadziyannis 2006; Lok 2007).

Tot mai multe studii actuale atestă faptul că pacienții cu răspuns terapeutic de lungă durată prezintă un prognostic favorabil, cu progresie mai rară spre ciroza hepatică, deces de cauze hepatice sau dezvoltare de carcinom hepatocelular, față de pacienții netratați sau cu recăderi / lipsa de răspuns după terapia cu interferon alpha.

Utilizarea interferonului α pegylat (PEG-IFN)

Adiția unei molecule de polietilen-glicol (PEG) la structura IFN determină creșterea timpului de înjumătățire a produsului, putând fi administrat o dată pe săptămână, în multe țări interferonul standard fiind înlocuit pe scară largă în terapie cu PEG-IFN α . Există până în prezent două tipuri de PEG-IFN (PEG-IFN α -2a și PEG-IFN α -2b), doar PEG-IFN α -2a fiind folosit până acum în tratamentul infecției cronice VHB, administrat subcutanat în doză de 180 μ g / săptămână, timp de 48 săptămâni, atât la pacienții care prezintă Ag HBe pozitiv, cât și Ag HBe negativ. Siguranța administrării PEG-IFN este similară cu cea a IFN standard și o rată relativ crescută de recăderi pot apărea la terminarea terapiei (>50%). Prognosticul pe termen intermediar și lung după încheierea terapiei cu PEG-IFN nu este încă bine studiat; de asemenea, sunt în derulare studii prospective care să determine doza optimă de PEG-IFN α -2a (90 μ g vs. 180 μ g) și durata de administrare cu beneficiu terapeutic maxim.

Au fost realizate patru studii randomizate pe pacienți cu hepatita cronică B cu AgHBe pozitiv, tratați cu interferon pegylat alpha, care au realizat comparații între terapia PEG-IFN α și cea cu interferon standard, lamivudina, și/sau terapia combinată PEG-IFN alpha cu lamivudina, administrate pe perioade de 24, 48, 52 sau 60 săptămâni (Lok 2007). În faza aIII^a a studiului internațional de comparație a unei terapii de 48 de săptămâni cu PEG-IFN alpha-2a (180 μ g / săptămână) cu sau fără lamivudina (LAM), cu monoterapia cu lamivudina s-a observat că răspunsul favorabil la sfârșitul supravegherii definit prin seroconversia susținută a AgHBe la 72 săptămâni – a fost semnificativ mai mare la pacienții cu PEG-IFN α -2a fie în

mono, fie în biterapie cu LAM decât la cei tratați cu monoterapie LAM (32% și 27% vs. 19%) (Lau 2005).

Un alt studiu a implicat evaluarea eficacității și siguranței administrării medicamentelor utilizate în infecția cronică VHB, comparând tratamentul cu PEG-IFN α -2a (180 μ g săptămânal) plus placebo, PEG-IFN α -2a plus lamivudina (100 mg zilnic) și lamivudina în monoterapie la 177, 179 și respectiv, 181 de pacienți cu hepatita cronică B cu Ag Hbe negativ, tratați 48 de săptămâni și urmăriți în evoluție încă 24 de săptămâni după încheierea terapiei (Marcellin 2004). Studiul a demonstrat că după cele 24 săptămâni procentele de pacienți care prezentau normalizarea ALT seric și respectiv, o încărcătură virală ADN VHB sub 20.000 copii/ml au fost semnificativ mai mari pentru cei tratați cu PEG-IFN α -2a în monoterapie (59% și respectiv, 43%) sau cu PEG-IFN alfa-2a plus lamivudina (60% și 44%) decât pentru cei tratați doar cu lamivudina în monoterapie (44% și 29%). Ratele de supresie sustinută a replicării virale - cu nivel plasmatic de ADN VHB sub 400 copii/ml - au fost de 19% pentru terapia cu PEG-IFN α -2a în monoterapie, 20% pentru terapia combinată, și 7% pentru monoterapia cu lamivudina. Clearance-ul de Ag HBs a apărut la 12 pacienți aparținând grupurilor tratate cu PEG-IFN și la nici un pacient tratat cu lamivudina în monoterapie, dar răspunsul histologic nu a variat semnificativ între cele trei grupuri de studiu. La trei ani după încheierea terapiei, rata de seroconversie a AgHBs a crescut în timp, mai ales la pacienții tratați cu PEG-IFN cu până la 11% față de 2% la cei cu lamivudina în monoterapie (Gaspar 2004; Marcellin 2008).

Deși în toate studiile citate terapia combinată lamivudina plus PEG-IFN nu a demonstrat un beneficiu real evaluat la sfârșitul studiului, totuși s-a detectat o supresie mai intensă a ADN VHB în timpul administrării tratamentului (săptămâna 48) în cazul terapiei combinate vs. Monoterapia cu LAM sau cu PEG-IFN α , aceasta asociindu-se și cu o scădere a incidenței mutațiilor de rezistență la LAM (prezența mutantelor YMDD în 1% vs. 18% din cazuri la terminarea tratamentului). În concluzie nu e recomandată utilizarea strictă a unei combinații stabilite de lamivudina și PEG-IFN α , ci eventual tatonarea terapiei individualizată.

Analogii nucleoz(t)idici

Analogii nucleoz(t)idici inhibă replicarea virală prin blocarea situsului de legare al polimerazei virale și competiția cu substratul natural deoxiadenozin trifosfat (dATP) și prin blocarea elongației lanțului ADN după incorporarea în ADN viral. Totuși, mecanismele lor de acțiune pentru inhibarea sintezei ADN VHB variază foarte mult de la un agent la altul. Analogii nucleozidici și analogii nucleotidici aciclici reprezintă subclase diferite ale inhibitorilor reverstranscriptazei: în timp ce ambii au la bază purine și pirimidine, analogii nucleotidici aciclici posedă un inel de riboză aciclic, care conferă o mai mare capacitate de legare la polimeraza tulpinilor VHB rezistente (Figura 7).

Spre deosebire de strategiile de tratament bazate pe interferon cu o durată bine stabilită de 24-48 de săptămâni, durată tratamentul cu analogi nucleoz(t)idici nu este bine definită și necesită administrarea pe perioade lungi, cu scopul de a controla replicarea virală pe termen lung. Administrarea pe termen scurt, doar 48 de

saptamani, a acestor agenti anivirali este asociata in mod normal cu o recadere a nivelului viremiei.

Studiile asupra analogilor nucleoz(t)idici au demonstrat clar ca supresia viremiei VHB este asociata cu o scadere importanta a activitatii inflamatorii histologice si a fibrozei, inclusiv cu reversia partiala a stadiilor timpurii ale cirozei hepatice (Wursthorn 2006; Werle-Lapostolle 2004; Lok 2000). De asemenea, ratele de seroconversie-AgHBe cresc odata cu durata tratamentului (Liaw 2000; Lok 2000). Foarte important, controlul replicarii VHB pe termen lung cu analogi nucleoz(t)idici se asociaza cu o reducere a complicatiilor pe termen lung: carcinomul hepatocelular si ciroza hepatica. Exista de asemenea dovezi ca, inhibarea efectiva a replicarii VHB poate reduce ADNccc, posibil in paralel cu scaderea nivelului seric al AgHBs (Werle-Lapostolle 2004; Wursthorn 2006). Toate aceste observatii arata ca terapia antivirala pe termen lung poate conduce la un raspuns complet la un numar semnificativ de pacienti.

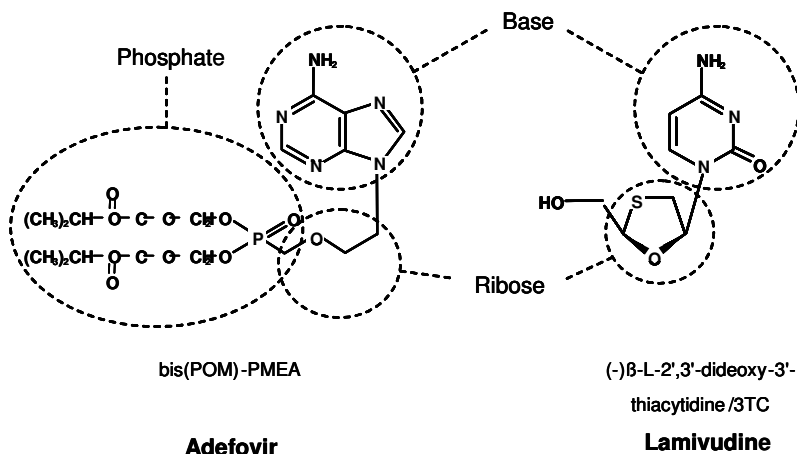


Figure 7. Structura chimica a analogului nucleozidic lamivudina si a analogului nucleotidic aciclic adefovir dipivoxil, ca un exemplu de inhibitori ai reverstranscriptazei virale derivati purinici si pirimidinici. Lamivudina este un analog al citozinei, in timp ce adefovirul este un analog al adeninei. In contrast cu lamivudina, adefovirul posedea un inel de riboza aciclic care ii confera o mai mare flexibilitate.

Un aspect important al tratamentului cu inhibitorii polimerazei VHB este reprezentat de preventia si managementul rezistentei VHB la acesti agenti antivirali. Rezistenta la analogii nucleoz(t)idici poate apare in timpul tratamentului suboptimal si conduce adesea la agravarea bolii hepatice. De aceea, pacientii naivi la analogi nucleoz(t)idici trebuie diferentiati de cei poliexperimentati. Deoarece profilurile de rezistenta a mai multor analogi nucleoz(t)idici se suprapun, existenta unor tratamente anterioare cu acesti agenti antivirali trebuie luata in considerare la schimbarea tratamentului.

Lamivudina

Lamivudina este un analog nucleozidic sintetic, aprobat pentru tratamentul hepatitei cronice B in anul 1998. Lamivudina este enantiomerul (-) al 2', 3'-dideoxi-3'-tiocitidinei. Forma fosforilata (3TC-TP) isi exercita actiunea terapeutica competitionand cu dCTP pentru incorporarea in lantul ADN viral nou sintetizat, blocand elongatia acestuia. Prin inhibarea activitatii ADN polimerazei, atat ADN-dependenta cat si ARN-dependenta, este intrerupta sinteza ambelor catene ale ADN VHB. Lamivudina se administreaza oral si doza recomandata pentru hepatita cronica B este de 100mg/zi. Aceasta doza a fost aleasa pe baza unui trial preliminar in care s-au administrat aleator unui numar de 32 de pacienti cate 25, 100 sau 300 mg lamivudina pe zi, timp de 12 saptamani (Dienstag 1995). In acest studiu, doza de 100 mg a fost mai eficienta decat cea de 25 mg si similara cu doza de 300 mg in ceea ce priveste reducerea nivelurilor AND VHB.

Tratamentul cu lamivudina pe termen lung este asociat cu reducerea progresiei bolii hepatice la pacientii cu fibroza hepatica avansata, demonstrand astfel efectul favorabil asupra evolutiei naturale a bolii (Liaw 2004). Totusi, in timp, utilizarea lamivudinei este insotita de o crestere constanta a ratelor rezistentei la antivirale, ajungand la pacientii AgHBe –pozitivi la aproximativ 70% dupa 5 ani de tratament (Mauss 2007). De aceea, in multe ghiduri lamivudina nu mai este considerata un agent de prima linie in tratamentul infectiei cronice cu VHB. Totusi, acest agent antiviral mai poate juca inca un rol in regimuri terapeutice combinate sau la pacienti cu hepatita cronica usoara, cu niveluri ale AND VHB scazute ($<10^5$ copii/mL) (Cornberg 2007). In 6 luni de tratament, un raspuns virusologic rapid si complet la lamivudina (<400 copii/mL) constituie o premisa pentru controlul pe termen lung al infectiei cu VHB, fara riscul dezvoltarii rezistentei.

Adefovir Dipivoxil

Adefovir dipivoxil a fost aprobat pentru tratamentul hepatitei cronice B in anul 2002 in SUA si 2003 in Europa. Este un precursor oral al adefovirului, un analog nucleotidic aciclic fosfonat al adenozei monofosfat, care in forma sa activa (adefovir difosfat) inhiba polimeraza ADN a VHB. Deoarece nucleotidul aciclic contine deja o grupare fosfat-like, sunt necesari doar doi pasi de fosforilare pentru a ajunge la forma activa. Acest medicament nu depinde de kinazele virale pentru a-si exercita actiunea antivirala. Adefovirul dipivoxil a fost prima substanta cu activitate simultana impotriva variantelor VHB salbatice, pre-core si rezistente la lamivudina si este activa in vitro si impotriva altor virusuri ADN, precum retrovirusurile (cu exceptia HIV). Doza de administrare de 10 mg/zi s-a stabilit in urma unui studiu, prin comparatie cu doza de 30 mg/zi; aceasta din urma a condus la o supresie mai puternica a AND VHB, dar si la cresterea nivelurilor de creatinina la unii pacienti. La doze de administrare mai mari, adefovirul produce sindromul Fanconi la un numar considerabil de pacienti (Hadziyannis 2003).

Adefovirul a fost primul nucleotid aciclic utilizat in mare masura pentru tratamentul infectiilor cu VHB rezistente la lamivudina. Totusi, eficienta antivirala a adefovirului este mai redusa comparativ cu alti agenti antivirali disponibili si se datoreaza probabil limitarii dozei de administrare, ca urmare a nefrotoxicitatii (Figure 5). Acest dezavantaj il face vulnerabil la rezistenta VHB (Hadziyannis

2006). Astazi, se prefera adaugarea adefovirului la terapia initiala in cazurile de rezistenta la LAM (Lampertico 2005). Ca urmare a aprobarii recente a tenofovirului, este probabil ca importanta adefovirului sa scada.

a) HBeAg-positive patients

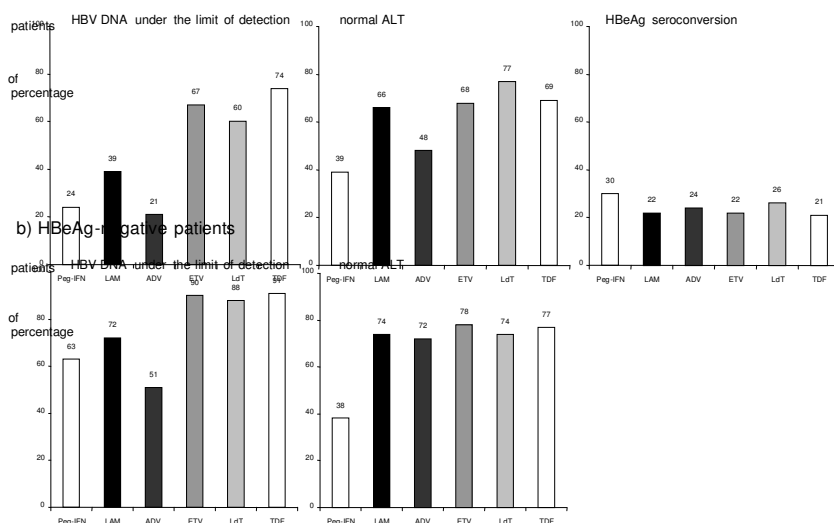


Figura 5. Reprezentare schematica a eficientei agentilor antivirali aprobati pentru tratamentul infectiei cu VHB dupa un an de supresie a AND VHB sub limita de detectie, normalizare a ALT si seroconversie a AgHBe. Diferentele in ceea ce priveste rezultatele studiilor trebuie interpretate tinand cont de faptul ca studiile au aplicat criterii diferite de selectie a pacientilor.

Telbivudina

Telbivudina este un analog timidinic activ impotriva VHB dar, cel puțin in vitro, nu este activ impotriva altor virusuri, incluzand HIV si VHC. Acest agent antiviral nu este mutagen, carcinogen, teratogen si nu produce toxicitate la nivel mitocondrial. Studii anterioare au aratat ca doza de siguranta pentru telbivudina este de 600 mg/zi. Totusi, cresterile CK au fost observate mai frecvent decat in grupul tratat cu lamivudina; de asemenea, neurotoxicitatea poate fi o problema cand telbivudina este administrata in combinatie cu PEG-IFN.

Telbivudina administrata intr-o doza de 600 mg/zi are o activitate antivirala mai mare decat lamivudina la 100 mg/zi sau adefovirul la 10 mg/zi (Figura 5) si mai multi pacienti ajung la pierderea AgHBe cu telbivudina in comparatie cu lamivudina (Lai 2006).

Totusi, rezistenta la telbivudina s-a instalat la un procent de pana la 21% din pacienti, dupa 2 ani de tratament (Lai 2006). Rezistenta a fost observata in mod predominant la pacientii care nu au obtinut niveluri nedetectabile ale ADN VHB dupa 24 de saptamani de tratament (Di Bisceglie 2006). Telbivudina ar trebui utilizata cu prudenta la pacientii AgHBe-pozitivi cu niveluri inalte ale ADN VHB

(>10⁹ copii/mL), deoarece riscul de răspuns virologic incomplet în săptămâna 24 este mai mare la acești pacienți. Mai mult, la toți pacienții tratamentul cu telbivudina ar trebui modificat atunci când nivelurile ADN VHB nu devin nedetectabile după 24 săptămâni de tratament (de aceea, se recomandă schimbarea cu un antiviral mai puternic sau adăugarea celui de-al doilea antiviral fără rezistență încrucișată). Telbivudina prezintă rezistență încrucișată la lamivudina și entecavir; în consecință, nu ar trebui utilizată la pacienții rezistenți la aceste antivirale.

Entecavir

Entecavirul, analog nucleozidic de ciclopentil guanozina, este un inhibitor selectiv al replicării VHB aprobat în anul 2006. Entecavirul blochează toți cei trei pași ai replicării virusului hepatitic B, în care este implicată polimeraza: în primul rând, base priming; în al doilea rând, reverstranscrierea ARN mesager pregenomic; în al treilea rând, sinteza catenei pozitive a ADN VHB. În comparație cu toți ceilalți analogi nucleoz(t)idici, entecavirul este mai eficient fosforilat de kinazele celulare la forma sa activă de trifosfat. Este un inhibitor puternic al tulpinilor VHB salbatice, dar este mai puțin eficient împotriva mutantelor VHB rezistente la lamivudina. De aceea, entecavirul se administrează într-o doză de 0,5 mg/zi pentru tratamentul pacienților naivi AgHBe-pozitivi și AgHBe-negativi și într-o doză de 1 mg/zi pentru pacienții care au avut anterior tratament cu lamivudina.

Pacienții naivi AgHBe-pozitivi aflați sub tratament cu entecavir au obținut niveluri nedetectabile ale ADN VHB într-un procent de 67% după un an și 74% după doi ani (Figure 5) (Sherman 2008; Gish 2007). Studiile pe termen lung asupra răspunsului pacienților la entecavir au demonstrat că, la aproape toți pacienții, acest răspuns poate fi menținut până la cinci ani. Deocamdată, rata rezistenței pe termen lung se estimează a fi de aproximativ 1% în primul an pentru pacienții fără tratamente anterioare (Tenny 2008).

Entecavirul este mai puțin eficient la pacienții rezistenți la lamivudina. Numai 19% din acești pacienți obțin niveluri nedetectabile ale ADN VHB după un an și 40% după doi ani, chiar în condițiile creșterii dozei de entecavir la 1 mg/zi (Sherman 2008; Gish 2007). Până la 45% din pacienții cu rezistență la lamivudina au dezvoltat rezistență la entecavir după 5 ani de tratament (Tenny 2008), fiind necesare doar una sau două mutații adiționale pentru apariția rezistenței încrucișate.

Tenofovir

Un prodrug al tenofovirului, tenofovir disoproxil fumarat (PMPA; (R)-9-(2-fosfonilmetoxipropil)) aparține grupului de compuși fosfonati aciclici (sau analogi nucleotidici). Tenofovirul (TDF) are activitate selectivă asupra retrovirusurilor și hepadnavirusurilor și este aprobat în prezent pentru tratamentul infecțiilor cu HIV și al hepatitei cronice B. În cazul tratamentului pacienților naivi, tenofovirul are o activitate puternică împotriva infecțiilor cu VHB, atât AgHBe-pozitive cât și AgHBe-negativ (Heathcote 2008; Marcellin 2008). Studii in vitro au demonstrat clar că tulpinile VHB rezistente la lamivudina (mutațiile rtM204I/V, rtL180M și rtL173M) rămân susceptibile la TDF (Lada 2004). Aceste observații sunt în concordanță cu studiile clinice care arată o eficiență înaltă a tenofovirului pentru infecțiile cu VHB rezistente la lamivudina, indiferent de felul mutațiilor ce mediază

aceasta rezistenta (Van Boemmel 2008, Manns 2008). Datorita posibilei rezistente incrucisate la adefovir, eficienta tenofovirului poate fi afectata; totusi, nu s-a observat o crestere a ADN VHB in timpul tratamentului cu tenofovir la pacientii cu esec anterior la adefovir (Berg 2008).

TDF este in general bine tolerat si, pana in prezent, pare a fi asociat cu efecte secundare severe. In cadrul unui trial clinic randomizat, la pacientii coinfectati VHB/HIV utilizarea tenofovirului a fost asociata cu un excelent profil de siguranta la nivel renal. Totusi, o usoara deteriorare a functiei renale si cazuri de insuficienta renala acuta si sindrom Fanconi au fost raportate la unii pacienti coinfectati VHB/HIV tratati cu TDF (Gallant 2005; Verhelst 2002; Creput 2003; Karras 2003; Peyriere 2004; Coca 2002). La acesti pacienti clearance-ul creatininei a fost semnificativ mai mare fata de cei expusi la alti agenti antivirali. De aceea, in timpul terapiei cu TDF se recomanda monitorizarea permanenta a functiei renale.

In prezent, sunt disponibile informatii despre o eficienta pe o perioada de doi ani a TDF-ului in cazul tratamentului pacientilor naivi AgHBe-pozitivi si AgHBe-negativi. TDF a prezentat o eficienta antivirala marcata cu rate ale raspunsului virusologic complet (AND VHB <400 copii/mL) ajungand aproape de 100% si 90% pentru pacientii AgHBe-negativi, respectiv AgHBe-pozitivi. Nu s-a observat pana acum aparitia rezistentei. Disparitia AgHBs s-a inregistrat la 5% din pacientii AgHBe-pozitivi dupa 15 luni de terapie cu TDF (Heathcote 2008). O eficienta similara, fara dezvoltarea rezistentei s-a observat de asemenea in cazul in care TDF se administreaza la pacientii rezistenti la lamivudina sau la cei cu raspuns incomplet la adefovir (Manns 2008; Van Boemmel 2008; Berg 2008).

Terapia combinata cu analogi nucleoz(t)idici

Exista un singur studiu care compara terapia combinata cu lamivudina plus adefovir cu monoterapia cu lamivudina la pacientii naivi. Nu a existat nici o diferenta intre cele doua grupuri in ceea ce priveste raspunsul biochimic si virusologic. Rata rezistentei la lamivudina a fost mult mai mica in grupul care a primit terapie combinata. Totusi, dezvoltarea rezistentei nu a putut fi complet evitata prin adaugarea adefovirului (Sung 2003). Un alt studiu asupra combinatiei lamivudina plus telbivudina, nu a aratat nici un beneficiu dupa o perioada de observatie de doi ani (Schmutz 2006). Combinand telbivudina si lamivudina nu s-a obtinut nici o imbunatatire a eficientei antivirale sau a protectiei impotriva dezvoltarii rezistentei (Lai 2005). Deocamdata, nu exista informatii asupra altor combinatii terapeutice.

Factorii de prognostic pentru succesul terapeutic

Mai multi factori sunt asociati cu remisia pe termen lung si pot ajuta in luarea deciziilor asupra tratamentului; factorii predictivi pretratament pentru seroconversia AgHBe sunt: nivelul scazut al AND VHB, nivelurile inalte ale ALT (mai mari decat 2-5 ori valorile normale) si scorul inalt al activitatii inflamatorii la biopsia hepatica. Acesti predictorii generali initiali sunt relevanti in special pentru regimurile cu PEG-IFN α , dar pot fi de asemenea relevanti si pentru tratamentele cu analogi nucleoz(t)idici (Fried 2008). In contrast, genotipul VHB, un alt predictor initial, este asociat cu diferente doar in raspunsul viral la interferon alpha. Astfel, pacientii

cu genotip A VHB, prevalent in Europa de Nord si SUA, prezinta o rata mai buna a seroconversiei AgHBe (47-52%) decat pacientii cu genotip D VHB (22-25%), prevalent in sudul Europei, sau genotip B sau C VHB, prevalent in Asia (30-40%, respectiv 28-30%) (Erhardt 2005; Flink 2006).

Cum sa tratam

Pot fi alese doua strategii terapeutice: prima este reprezentata de tratamentul cu interferon (pegylat) pentru obtinerea unui control pe termen lung printr-un tratament **limitat**, cealalta utilizeaza analogii nucleotidici sau nucleozidici pentru realizarea inhibarii replicarii virale pe o perioada lunga de timp (Figure 6).

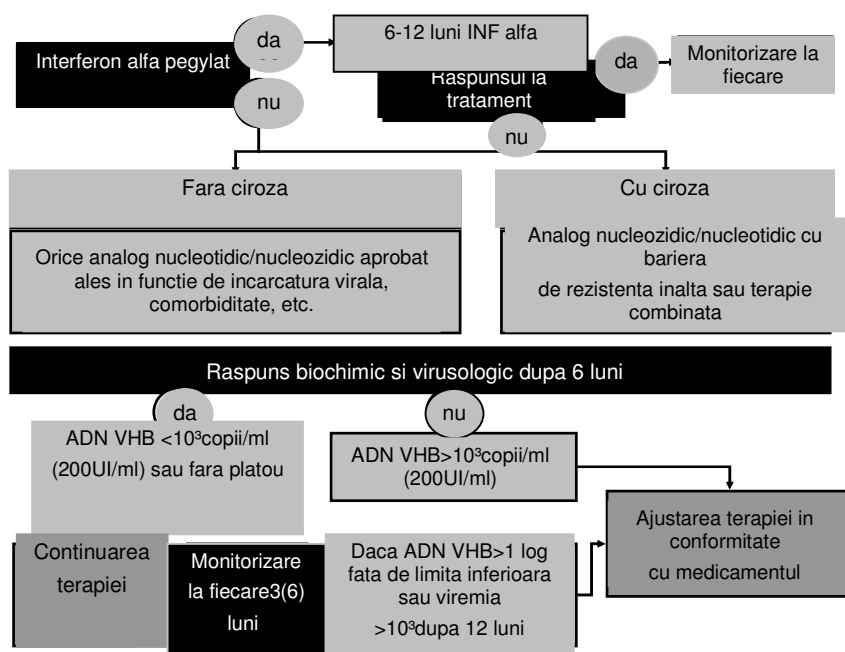


Figura 6. Propunerea pentru un algoritm terapeutic al infectiei VHB cu IFN-Peg, in conformitate cu ghidul german (Cornberg 2007).

Prima etapa este reprezentata de evaluarea posibilitatii tratamentului cu interferon. Se vor recomanda pe termen lung analogii nucleotidici/nucleozidici, daca pacientul nu indeplineste conditiile necesare administrarii interferonului sau prezinta contraindicatie sau intoleranta la aceasta terapie. Cand se alege un medicament cu administrare orala, cativa parametrii trebuie avuti in vedere: eficienta antivirala a tratamentului, persistenta raspunsului, bariera de rezistenta, stadiul bolii hepatice.

Daca incarcatura virala initiala este mica si am exclus ciroza hepatica, orice terapie aprobata poate fi utilizata. Lamivudinei ar trebui recomandata numai la pacientii cu

fibroza medie si incarcatura virala sub $<10^5$ copii/mL. Pacientii cu viremie mare ($>10^9$ copii/mL) sunt tratati doar cu medicamente cu bariera genetica de rezistenta crescuta (de exemplu, entecavir si /sau tenofovir).

Incarcatura virala trebuie determinata inainte tratamentului folosind un test cu sensibilitate crescuta, rezultatul va fi confirmat dupa 1-2 luni de la initierea medicamentatiei. De asemenea, se va masura valoarea ALT-ului care reflecta activitatea antiinflamatorie hepatica si valoarea creatininei. Testele de genotipare VHB sunt recomandate pacientilor propusi pentru tratamentul cu interferon. Testele de rezistenta VHB sunt folosite de pacientii cu esec terapeutic la unul sau mai multi analogi nucleozidici/nucleotidici. Rezistenta VHB inseamna o crestere a ADN VHB cu peste 1 log in timpul terapiei. In cazul ineficientei tratamentului primar, a doua linie terapeutica poate fii recomandata, nefiind necesar testul de rezistenta.

Ar trebui masurate valorile incarcaturii virale, creatininei, ALT-ului, initial la 4-6 saptamani, ulterior la fiecare 3 luni, pe tot parcursul tratamentului. Identificarea precoce a rezistentei virale si ajustarea de la inceput a terapiei sunt importante. Pacientii la care scaderea incarcaturii virale sub 300 copii/mL (60 UI/mL) se mentine pe o perioada de cel putin 2 ani, vor fi monitorizati ulterior la fiecare 6 luni. Totusi nu exista inca nici un studiu care sa sustina aceasta recomandare.

Pacientilor cu AgHBe pozitiv li se determina AgHBe, anti-HBe, AgHBs si anti-HBs in momentul in care incarcatura virala devine nedetectabila, identificandu-se seroconversia, implicit punctul final al terapiei (Tabelul 3).

Tabelul 3: Recomandarea testelor de laborator pentru monitorizarea terapiei antivirale

Teste inaintea tratamentului antiviral	Interval
ADN VHB cantitativ AgHBe, anti HBe Genotipul VHB Nivelul ALT-ului Nivelul creatininei Alte teste biochimice	Daca tratamentul cu IFN este planificat
Teste in timpul tratamentului antiviral	Interval
ADN VHB cantitativ	Dupa 4-6 saptamani, dupa 12 saptamani, apoi dupa 3-6 luni
Ag HBe, anti-HBe	3-6 luni, daca AND VHB este nedetectabil
Ag HBs, anti-HBs	3-6 luni, la pacientii cu Ag HBe pozitiv dupa seroconversia in sistemul HBe si la pacientii cu Ag HBe negativ daca ADN VHB este nedetectabil
Teste de rezistenta VHB	Daca ADN VHB creste cu $>1\log$ in timpul tratamentului antiviral si daca nu se cunoaste istoric de pretratament, dar mai inainte verifica aderenta la tratament!
Nivelul ALT-ului	Initial in fiecare luna, apoi la 3-6 luni
Nivelul creatininei	3-6 luni
Alte teste biochimice	3-6 luni

* Pacientii tratati cu TDF ar trebui testati la inceput la fiecare 4 saptamani pentru a exclude o deteriorare a functiei renal

Nivelul ADN VHB, parametru al răspunsului la tratament

Scaderea încărcăturii virale sub limita de detecție este modalitatea cea mai importantă de monitorizare a eficienței terapeutice. Răspunsul complet la tratamentul antiviral se definește prin scăderea încărcăturii virale sub limita de detecție, prin metoda real-time PCR (Figure 4), în timp ce supresia incompletă înseamnă persistența ADN VHB pe parcursul terapiei. Continuarea replicării virale în prezența medicamentului, în așa numită ‘faza platou’ duce la selecția tulpinilor rezistente, acestea determinând uneori o nouă creștere a viremiei. Complianta la tratament este importantă în prevenirea rezistenței virale.

Monitorizare precoce a cineticii ADN VHB ghidează tratamentul antiviral și stabilește regulile de întrerupere sau continuare ale acestuia în vederea evitării eșecului terapeutic.

În cazul unui răspuns virusologic incomplet trebuie inițiată terapia potrivită de salvare. Perioada de timp și tipul tratamentului de salvare diferă în funcție de analogul nucleotidic/nucleozidic folosit anterior. La pacienții naivi, entecavirul, tenofovirul și într-o măsură mai mică adefovirul par a nu fi asociate cu un risc semnificativ de dezvoltare a rezistenței în primii doi ani. În cazul răspunsului virusologic incomplet, în săptămâna 48 de tratament, se hotărăsete prelungirea monoterapiei cu entecavir și tenofovir atât timp cât ADN VHB continuă să scadă.

Schimbarea medicației și administrarea tenofovirului s-au dovedit benefice pentru pacienții cu răspuns virusologic incomplet la medicația de primă linie lamivudina, telbivudina, adefovir. Se discută în continuare, dacă să se schimbe sau să se aduge tenofovirul ca strategie optimă.

În cazul pacienților care prezintă replicare virală după 1-2 ani de tratament, nu a fost evaluată nici o strategie terapeutică pentru administrarea tenofovirului sau a entecavirului. Se recomandă o terapie suplimentară cu un agent fără rezistență încrucișată.

Durata tratamentului și regulile de întrerupere ale acestuia

Pacienții cu AgHBe pozitiv continuă tratamentul cu analogi nucleozidici sau nucleotidici până în momentul seroconversiei în sistemul HBe, chiar și după acest moment, terapia ar trebui continuată cel puțin 12 luni pentru evitarea seroreversiei.

Numai la 30-35% din totalul pacienților tratați cu INF alfa pegylat se realizează seroconversia în sistemul HBe după 48 de săptămâni. Studiile realizate de Fried și colaboratorii au arătat posibilitatea corelării momentului seroconversiei cu cinetica replicării virale. Astfel 53% din pacienții cu nivel ADN VHB sub 5 log au realizat seroconversia în sistemul Hbe în săptămâna a 12-a de tratament (Fried 2008), în timp ce la pacienții cu nivelul ADN VHB între 5-8 log/ml sau peste 9 log/ml se atinge seroconversia în sistemul HBe doar în procent de 17%, respectiv 14% din cazuri. Individualizarea strategiilor terapeutice cu INF alfa pegylat va fi în mod sigur o opțiune interesantă.

Nu există încă criterii clare cu privire la durata optimă de tratament pentru pacienții cu hepatită cronică B și cu AgHBe negativ. Se recomandă administrarea de INF alfa pegylat timp de 48 de săptămâni, apoi continuarea cu analogi nucleotidici/nucleozidici pe o perioadă nelimitată. Într-un studiu preliminar, Hadziyannis & colaboratorii au evaluat efectul întreruperii terapiei cu adefovir la pacienții cu Ag HBe negativ, după 4-5 ani de supresie virală completă (Hadziyannis 2006). Deși toți pacienții au înregistrat o mică recădere virusologică în luna a 3-a de la întreruperea tratamentului, majoritatea acestora au menținut remisiunea clinică în următorii 4 ani fără terapie și la 28% dintre ei s-a înregistrat eliminarea. La pacienții cu ciroză hepatică, tratamentul oral antiviral ar trebui administrat toată viața sau până AgHBs se negativează/se obține seroconversia, din cauza riscului decompensării hepatice în perioada recăderii virusologice.

Referințe

- Akarca US. Chronic hepatitis B a guideline to diagnosis, approach, management, and follow-up 2007 Turkish association for the study of liver. *Turk J Gastroenterol.* 2008, 19(4):207-30.
- Beasley RP: Hepatitis B virus. The major etiology of hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988, 61:1942-1956.
- Berg T, Moller B, Trinh H, Chan S, Marcellin P, Suarez E, Snow-Lampart A, Frederick D, Oldach D, Sorbel J, Borroto-Esoda K, Rousseau F. Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) versus emtricitabine plus TDF for treatment of chronic Hepatitis B (CHB) in subjects with persistent viral replication receiving adefovir dipivoxil (ADV). *Journal of Hepatology.* 2008; 48(Suppl.2): S34 (abstract 76).
- Buster EH, van Erpecum KJ, Schalm SW, Zaaijer HL, Brouwer JT, Gelderblom HC, de Knegt RJ, Minke Bakker C, Reesink HW, Janssen HL; Netherlands Association of Gastroenterologists and Hepatologists. Treatment of chronic hepatitis B virus infection - Dutch national guidelines. *Neth J Med.* 2008, 66(7):292-306.
- Carosi G, Rizzetto M. Treatment of chronic hepatitis B: recommendations from an Italian workshop. *Dig Liver Dis.* 2008, 40(8):603-17.
- Chen CJ, Yang HI, Su J, et al. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 2006; 295: 65-73.
- Colle I, Adler M, Brenard R, et al. Management and treatment of chronic hepatitis B virus: Belgian Association for the Study of the Liver (BASL) 2007 guidelines. *Acta Gastroenterol Belg.* 2007;70:389-420.
- Cooksley WG, Piratvisuth T, Lee SD, Mahachai V, Chao YC, Tanwandee T, Chutaputti A, Chang WY, Zahm FE, Pluck N. Peginterferon alpha-2a (40 kDa): an advance in the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *J Viral Hepat.* 2003, 10(4):298-305.
- Cornberg M, Protzer U, Dollinger MM, Petersen J, Wedemeyer H, Berg T, Jilg W, Erhardt A, Wirth S, Schirmacher P, Fleig WE, Manns MP. Prophylaxis, diagnosis and therapy of hepatitis B virus (VHB) infection: the German guidelines for the management of HBV infection. *Z Gastroenterol.* 2007, 45(12):1281-328.
- Di Bisceglie A, Lai C, Gaines E, More A, Authors M. Telbivudine GLOBE trial: maximal early HBV suppression is predictive of optimal two-year efficacy in nucleoside-treated hepatitis B patients [abstract]. *Hepatology* 2006; 44: 230A-1A.
- Dienstag JL, Perrillo RP, Schiff ER, Bartholomew M, Vicary C, Rubin M. A preliminary trial of lamivudine for chronic hepatitis B infection. *N Engl J Med.* 1995 Dec 21;333(25):1657-61.

- EASL Clinical Practice Guidelines: Management of chronic hepatitis B. European Association for the Study of the Liver. *J Hepatol*. 2008 Oct 29. [Epub ahead of print]
- EASL Jury: EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. 13-14 September, 2002: Geneva, Switzerland. Consensus statement (short version). *J Hepatol* 2003, 38:533-540.
- Erhardt A, Blondin D, Hauck K, Sagir A, Kohnle T, Heintges T, Haussinger D. Response to interferon alfa is hepatitis B virus genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D. *Gut*. 2005; 54(7):1009-13.
- Flink HJ, van Zonneveld M, Hansen BE, de Man RA, Schalm SW, Janssen HL; HBV 99-01 Study Group. Treatment with Peg-interferon alpha-2b for HBeAg-positive chronic hepatitis B: HBsAg loss is associated with HBV genotype. *Am J Gastroenterol*. 2006;101(2):297-303.
- Fried MW, Piratvisuth T, Lau GK, Marcellin P, Chow WC, Cooksley G, Luo KX, Paik SW, Liaw YF, Button P, Popescu M. HBeAg and hepatitis B virus DNA as outcome predictors during therapy with peginterferon alfa-2a for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2008, 47(2):428-34.
- Gaspar G, Monereo A, Garcia-Reyne A, de Guzman M. Fanconi syndrome and acute renal failure in a patient treated with tenofovir: a call to action. *AIDS* 2004; 18:351-2.
- Gish RG, Lok AS, Chang TT, de Man RA, Gadano A, Sollano J, Han KH, Chao YC, Lee SD, Harris M et al.: Entecavir therapy for up to 96 weeks in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 2007, 133:1437-1444.
- Juszczyk J, Boroń-Kaczmarska A, Cianciara J, et al. Polish Experts Group on HBV. Therapeutic recommendations on 2008 year (antiretroviral treatment of chronic hepatitis B). *Przegl Epidemiol*. 2008;62(2):379-81.
- Hadziyannis SJ, Tassopoulos N, Heathcote EJ, Chang T-T, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, Lim SG, Goodman Z, Wulfsohn MS et al.: Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2003, 348:800-807.
- Hadziyannis SJ, Sevastianos V, Rapti IN, Tassopoulos N. Sustained biochemical and virological remission after discontinuation of 4 to 5 years of adefovir dipivoxil (ADV) treatment in HbeAg-negative chronic hepatitis B. 57th Annual Meeting of the American Association for the study of Liver Diseases 2006, abstract 114.
- Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, et al. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B up to 5 years. *Gastroenterology* 2006; 131: 1743-51.
- Hadziyannis SJ, Papatheodoridis GV. Hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B: natural history and treatment. *Semin Liver Dis* 2006; 26: 130-41.
- Heathcote J, George J, Gordon S et al. Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) for the treatment of HBeAg positive chronic hepatitis B: week 72 TDF data and week 24 adefovirdipivoxil switch data (study 103). 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver 2008, abstract 1593.
- Iloeje UH, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Chen CJ. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology* 2006, 130: 678-86.
- Keeffe EM, Zeuzem S, Koff RS, et al. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007, 5:890-97.
- Kumar M, Satapathy S, Monga R, Das K, Hissar S, Pande C, Sharma BC, Sarin SK. A randomized controlled trial of lamivudine to treat acute hepatitis B. *Hepatology*. 2007 Jan;45(1):97-101
- Lada O, Benhamou Y, Cahour A, Katlama C, Poynard T, Thibault V. In vitro susceptibility of lamivudine-resistant hepatitis B virus to adefovir and tenofovir. *Antivir Ther* 2004;9:353-363.*
- Lai CL, Leung N, Teo EK, Tong M, Wong F, Hann HW, Han S, Poynard T, Myers M, Chao G, Lloyd D, Brown NA; Telbivudine Phase II Investigator Group. A 1-year trial of telbivudine

- dine, lamivudine, and the combination in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. 2005;129(2):528-36.
- Lai CL, Gane E, Hsu C, et al. Two-year results from GLOBE trial in patients with hepatitis B: greater clinical and antiviral efficacy for telbivudine (LdT) vs lamivudine [abstract]. *Hepatology* 2006; 44: 222A.
- Lampertico P, Viganò M, Manenti E, Iavarone M, Lunghi G, Colombo M. Adefovir rapidly suppresses hepatitis B in HBeAg-negative patients developing genotypic resistance to lamivudine. *Hepatology* 2005; 42:1414-9.
- Lau GK, Piratvisuth T, Luo KX, Marcellin P, Thongsawat S, Cooksley G, Gane E, Fried MW, Chow WC, Paik SW, Chang WY, Berg T, Flisiak R, McCloud P, Pluck N; Peginterferon Alfa-2a HBeAg-Positive Chronic Hepatitis B Study Group. Peginterferon Alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2005; 352(26):2682-95.
- Lau GK. Does treatment with interferon-based therapy improve the natural history of chronic hepatitis B infection? *J Hepatol*. 2007; 46(1):6-8.
- Liaw Y-F, Suh DJ, Omata M. Available at: www.apasl.info/guidelinesHBV.html.
- Liaw YF, Sung JJ, Chow WC et al. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *New Engl J Med* 2004; 351:1521-1531.
- Liaw YF, Leung NW, Chang TT, Guan R, Tai DI, Ng KY, Chien RN, Dent J, Roman L, Edmundson S, Lai CL. Effects of extended lamivudine therapy in Asian patients with chronic hepatitis B. Asia Hepatitis Lamivudine Study Group. *Gastroenterology*. 2000; 119(1):172-80.
- Lisotti A, Azzaroli F, Buonfiglioli F, Montagnani M, Alessandrelli F, Mazzella G. Lamivudine treatment for severe acute HBV hepatitis. *Int J Med Sci*. 2008;5(6):309-12.
- Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B. *Hepatology* 2007; 45: 507-39.
- Lok AS, Lai CL, Leung N, Yao GB, Cui ZY, Schiff ER, Dienstag JL, Heathcote EJ, Little NR, Griffiths DA, Gardner SD, Castiglia M. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology*. 2000; 119(1):172-80.
- Manns M, Jeffers L, G. Dalekos G et al. The antiviral response to tenofovir disoproxil fumarate (TDF) is comparable in lamivudine (LAM)-naive and LAM-experienced subjects treated for chronic Hepatitis B (CHB). 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver 2008, abstract 1587.
- Marcellin P, Jacobson I, Habersetzer F, Senturk H, Andreone P, Moyes C, Horban A, Teuber G, Sorbel J Anderson J et al.:Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) for the treatment of HBeAg-negative chronic hepatitis B: week 72 TDF data and week 24 adefovir dipivoxil switch data (study 102). 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver 2008, abstract 1602.
- Marcellin P, Lau GK, Bonino F, Farci P, Hadziyannis S, Jin R, Lu ZM, Piratvisuth T, Germanidis G, Yurdaydin C, Diago M, Gurel S, Lai MY, Button P, Pluck N; Peginterferon alfa-2a alone, lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. Peginterferon Alfa-2a HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B Study Group. *N Engl J Med*. 2004; 351(12):1206-17.
- Mommeja-Marin H, Mondou E, Blum MR, Rousseau F. Serum HBV DNA as a marker of efficacy during therapy for chronic HBV infection: analysis and review of the literature. *Hepatology*. 2003; 37(6):1309-19.
- Nevens F, Main J, Honkoop P, Tyrrell DL, Barber J, Sullivan MT, Fevery J, De Man RA, Thomas HC. Lamivudine therapy for chronic hepatitis B: a six-month randomized dose-ranging study. *Gastroenterology*. 1997; 113(4):1258-63.
- Rehermann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med*. 1996; 2(10):1104-8.

- Schmutz G, Nelson M, Lutz T, Sheldon J, Bruno R, von Boemmel F, Hoffmann C, Rockstroh J, Stoehr A, Wolf E, Soriano V, Berger F, Berg T, Carlebach A, Schwarze-Zander C, Schurmann D, Jaeger H, Mauss S. Combination of tenofovir and lamivudine versus tenofovir after lamivudine failure for therapy of hepatitis B in HIV-coinfection. *AIDS*. 2006; 20(15):1951-4.
- Sherman M, Yurdaydin C, Simsek H, Silva M, Liaw YF, Rustgi VK, Sette H, Tsai N, Tenney DJ, Vaughan J et al.: Entecavir therapy for lamivudine-refractory chronic hepatitis B: improved virologic, biochemical, and serology outcomes through 96 weeks. *Hepatology* 2008, 48:99-108.
- Sung JJ, Lai JY, Zeuzem S et al. A randomised double-blind phase II study of lamivudine compared to lamivudine plus adefovir dipivoxil for treatment naive patients with chronic hepatitis B: week 52 analysis. *J Hepatol* 2003; 38 (suppl 2):25-6.
- Tenny DJ, Pokornowsky KA, Rose RE, et al. Entecavir at five years shows long-term maintenance of high genetic barrier to hepatitis B virus resistance [abstract]. *Hepatol Int* 2008; 2: A88-9.
- Tillmann HL, Hadem J, Leifeld L, Zachou K, Canbay A, Eisenbach C, Graziadei I, Encke J, Schmidt H, Vogel W, Schneider A, Spengler U, Gerken G, Dalekos GN, Wedemeyer H,
- Van Bömmel F, De Man RA, Stein K et al. A multicenter analysis of antiviral response after one year of tenofovir monotherapy in HBV-monoinfected patients with prior nucleos(t)ide analog experience. 43rd Annual Meeting of the European Association for the Study of the Liver 2008, abstract 1594.
- Werle-Lapostolle B, Bowden S, Locarnini S, Wursthorn K, Petersen J, Lau G, Trepo C, Marcelin P, Goodman Z, Delaney WE 4th, Xiong S, Brosgart CL, Chen SS, Gibbs CS, Zoulim F. Persistence of cccDNA during the natural history of chronic hepatitis B and decline during adefovir dipivoxil therapy. *Gastroenterology*. 2004; 126(7):1750-8.
- Wursthorn K, Lutgehetmann M, Dandri M, Volz T, Buggisch P, Zollner B, Longerich T, Schirmacher P, Metzler F, Zankel M, Fischer C, Currie G, Brosgart C, Petersen J. Peginterferon alpha-2b plus adefovir induce strong cccDNA decline and HBsAg reduction in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology*. 2006; 44(3):675-84.

Capitolul 10: VHB – rezistenta virusului si implicatiile sale terapeutice

Stefan Mauss and Heiner Wedemeyer

Introducere

Monoterapia cu interferon a reprezentat tratamentul standard incepand cu mijlocul anilor 90. Sensibilitatea la interferon este mai marcata pentru genotipurile B, C, D (Erhardt 2005; Flink 2006). Dezvoltarea rezistentei la interferon pe parcursul tratamentului, nu a fost raportata pana acum.

De la introducerea lamivudinei in tratamentul hepatitei cronice B, a crescut numarul medicamentelor antivirale disponibile, toate apartinand clasei inhibitoriilor polimerazei virusului VHB. (Figure 1). Datorita tolerantei mai bune si administrarii mai convenabile in raport cu INF, inhibitorii polimerazei sunt folositi astazi in tarile vestice in majoritatea terapiilor prescrise. In mod particular, la pacientii AgHBe negativ, cu mutante pre-core supresia de durata a replicarii virale este absolut necesara datorita ratei crescute de recaderi dupa intreruperea tratamentului antiviral, in absenta seroconversiei.

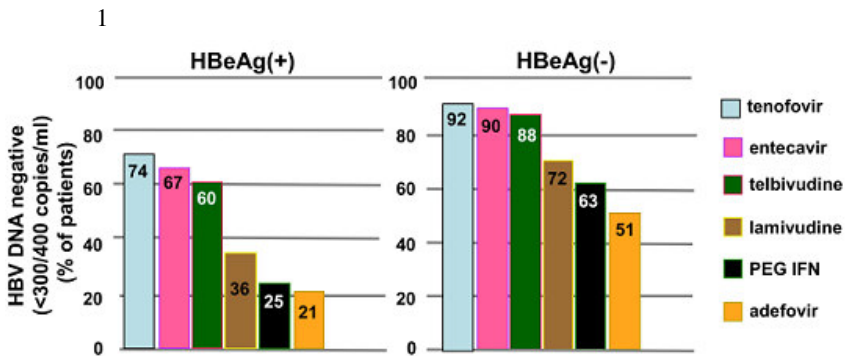


Figura 1. Proportia pacientilor cu viremie nedetectabila dupa 48 sau 52 saptamani de tratament. Datele deriva din trialuri clinice separate

Instalarea rezistentei si a rezistentei incrucisate la inhibitorii de polimeraza virala reprezinta o problema importanta in dezvoltarea strategiilor terapeutice pe termen lung. Tratamentul antiviral suboptimal duce la instalarea rezistentei timpurii care va influenta negativ optiunile terapeutice viitoare si care va duce la progresia bolii hepatice la pacientii care au deja alternative limitate de tratament. Anumite variante ale polimerazei VHB pot interactiona cu epitopi importanti ai anvelopei virale rezultand mutantele nonneutralizabile, care pot infecta pacientii vaccinati. Desi acest fenomen a fost observat doar in vitro, confirmarea sa la pacienti va duce la o problema serioasa de sanatate publica, mai ales in tarile cu prevalenta crescuta a hepatitei B.

Principiile terapiei antivirale în hepatita virală B- cum să se evite rezistența

Tratamentul cu inhibitori de polimerază o perioadă lungă de timp cu inhibitori de polimerază poate duce la instalarea rezistenței mai ales la pacienții fără supresie puternică a replicării virale (Lai 2006). În consecință la cele menționate, terapia cu inhibitori ai polimerazei VHB ar trebui să suprimă complet replicarea virală (ADNVHB < sau egal cu 300 copii/ml). Dacă acest obiectiv nu este atins în 6-12 luni de monoterapie cu inhibitori de polimerază VHB, tratamentul trebuie revizuit prin administrarea unor combinații de antivirale fără rezistență încrucișată. Determinarea încărcăturii virale se recomandă a fi efectuată la 4-6 săptămâni de tratament și apoi la fiecare 3-6 luni pe tot parcursul terapiei. Rezistența la inhibitorii nucleozidici ai polimerazei VHB elimină sau reduce marcat efectul antiviral al acestora și al altor analogi nucleozidici și eficacitatea tuturor analogilor nucleotidici ai polimerazei datorită rezistenței încrucișate.

Într-un studiu rezistența poate fi de asemenea asociată cu recaderi ale hepatitei și cu o rată crescută a complicațiilor clinice (Liaw 2004), iar în alt studiu cu scăderea ratei supraviețuirii (DiMarco 2004). Instalarea rezistenței trebuie evitată la pacienții cu ciroză. Din această cauză se recomandă selecția unui medicament cu barieră genetică înaltă a rezistenței sau inițierea tratamentului cu combinații antivirale la pacienții cu ciroză.

Alegerea momentului opririi tratamentului

La pacienții infectați cu tulpina salbatică VHB, cu AgHBe pozitiv, seroconversia în sistemul HBe a fost asociată cu reducerea morbidității hepatice și cu creșterea ratei de supraviețuire (Niederau 1996). Seroconversia în sistemul HBe marchează un punct clinic critic la 6-12 luni de la acesta putându-se întrerupe tratamentul cu inhibitori de polimerază, în cazul pacienților fără ciroză hepatică. (Cornberg 2007). Pierderea AgHBe apare la mai mult de 50% dintre pacienții tratați cu inhibitori ai polimerazei virale după o perioadă de câțiva ani de tratament (Hadziyannis 2006). Tratamentul cu interferon alfa pegylat pe o perioadă de 48 de săptămâni duce dispariția AgHBe la aproximativ o treime dintre pacienți (Lau 2005).

Întreruperea terapiei cu inhibitori ai polimerazei virale la pacienții fără seroconversie în sistemul HBe va duce frecvent la recaderi în evoluția hepatitei cronice B. În cazul interferonului alfa situația poate fi mai complexă și parțial dependentă și de genotipul VHB, nu numai de statusul sistemului HBe (Erhardt 2005).

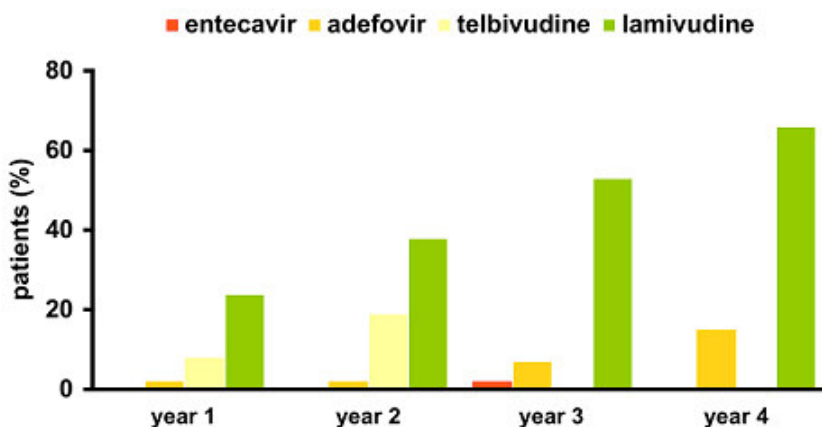
La pacienții cu AgHBe negativ, finalul tratamentului se corelează, în mod evident, cu menținerea nivelului normal de ALT și cu inhibarea replicării virale, seroconversia în sistemul HBs fiind obținută rar cu mijloacele terapeutice actuale. Durata tratamentului și momentul sistării acestuia sunt mai greu de apreciat la grupul de pacienți cu AgHBe negativ. Reaparitia ADNHB după încetarea tratamentului cu inhibitori ai polimerazei virale se observă la aproape toți pacienții chiar dacă aceștia au urmat terapia timp de 2-5 ani. Majoritatea ghidurilor recomandă un tratament pe termen nelimitat pentru pacienții cu hepatita cronică B, cu AgHBe negativ. Efectul interferonului alfa pegylat a fost studiat și la pacienții cu

hepatita cronica B, cu Ag HBe negativ, la mai mult de 20% dintre pacienti inregistrandu-se un RVS la 6 luni de tratament (ADN VHB<400 copii/ml) (Marcellin 2004).

Dupa un an de tratament cu interferon pegylat, seroconversia in sistemul HBs apare la aproximativ 5% dintre pacienti. In plus, aproximativ 20% dintre pacientii cu hepatita cronica B ajung, cel putin temporar, la o replicare virala scazuta dupa intreruperea tratamentului. (Bonino 2007). In studiile prospective publicate, seroconversia in sistemul HBs a fost raportata la mai putin de 5% din pacientii cu AgHBe negativ, tratati cu inhibitori de polimeraza virala.

Patternul rezistentei la inhibitorii de polimeraza VHB

Lamivudina a fost primul inhibitor polimerazic aprobat in tratamentul VHB. Are o buna tolerabilitate clinica, dar eficacitate antivirala moderata si este grevata de o dezvoltare rapida a rezistentei in cazurile fara efect supresiv antiviral total (Figura 2).



1. Qi YL et al. EASL 2005. Abstract 57. 2. Borroto-Esoda K. EASL 2006. Abstract 483. 3. Colonna R.J. ISVHLD 2006. 4. Lai et al. AASLD 2006

Figura 2. Incidenta in crestere a rezistentei la inhibitorii VHB polimerazei.

Aceste procente au media estimata pe baza a numeroase studii. Gradul rezistentei difera intre trialuri si cohorte. In general, rezistenta a fost mai mare la pacientii Ag Hbe pozitiv decat la cei AgHBe negativi. Date pe termen lung despre adefovir au fost raportate doar pentru pacienti AgHBe negativi; gradul de rezistenta poate fi mai mare pentru pacientii AgHBe pozitivi. Datele pentru entecavir sunt obtinute de la pacientii cu cel mai bun raspuns (e.g. cei cu seroconversia AgHBe) si de la pacientii cu raspuns virusologic suboptimal (>700.000 copii/ml dupa un an de tratament) care au incheiat un an de tratament.

Inca din primul an de tratament pina la 20% din pacienti pot dezvolta mutatii in regiunea YMDD asociate cu pierderea activitatii impotriva VHB si dupa patru sau mai multi ani aproximativ 70-80% din pacientii fara seroconversia catre AcantiHBe dezvolta variante rezistente la lamivudina (Figura 3).

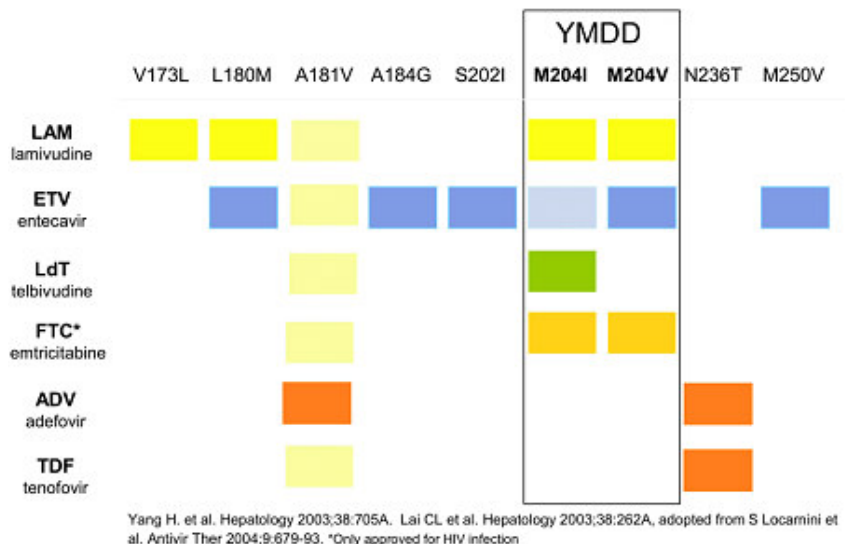


Figura 3. Patternurile rezistentei diferitelor medicamente antivirale utilizate in tratamentul hepatitei cronice B.

Numererele indica pozitia aminoacidului respective in gena polimerazei VHB. Pentru rezistenta la entecavir este necesara varianta 204/180 plus o mutatie aditionala in pozitia 184, 202 or 250 sa conduca la rezistenta medicamentului semnificativa clinic. Mai multe dar nu toate variantele au aratat ca pot fi asociate cu rezistenta la medicament nu numai *in vitro* dar si *in vivo*.

Mutatiile ce confera rezistenta la lamivudina pot conferi virusului rezistenta incrucisata cu telbivudina, emtricitabina si entecavirul. Datele preliminare indica faptul ca aparitia de mutatii multiple asociate rezistentei la lamivudina pot reduce eficacitatea terapiei cu tenofovir (Lada 2008).

Emtricitabina are proprietati antivirale si un profil al rezistentei similare cu lamivudina (Lim 2006). Cu toate acestea este aprobata ca antiretroviral doar pentru tratamentul infectiei HIV, si nu pentru tratamentul hepatitei cronice B. In infectia cu VHB este utilizata indeosebi in tratamentul combinat cu tenofovir la pacientii coinfectati HIV.

Telbivudina, un inhibitor de polimeraza VHB recent aprobat, a aratat o eficacitate superioara comparativ cu lamivudina la pacientii cu antigen-HBe pozitiv si negativ. Cu toate acestea profilul de rezistenta si modul de dezvoltare a acesteia la pacientii naivi este similara lamivudinei (Lai 2006) (Figura 4). Tratamentul combinat cu

telbivudina si lamivudina nu imbunatatesc eficacitatea antivirala si nici nu intarzie dezvoltarea rezistentei comparativ cu monoterapia cu telbivudina (Lai 2005).

Rezistenta impotriva analogilor nucleozidici		Optiuni terapeutice recomandate "add-on"
lamivudina	→	adefovir, tenofovir (schimb cu entecavir)
telbivudina	→	adefovir, tenofovir (schimb cu entecavir)
entecavir	→	adefovir, tenofovir
Rezistenta impotriva analogilor nucleotidici		
adefovir (LAM-naiv)	→	entecavir, telbivudina, lamivudina (schimb cu tenofovir)
adefovir (LAM-rezist.)	→	entecavir + tenofovir
tenofovir	→	entecavir, telbivudina, lamivudina
(nu sunt disponibile date privind activitatea <i>in vivo</i>)		

Figura 4. Recomandarile bazate pe ghidul german de tratament al hepatitei B la esecul celui de-al doilea tratament cu inhibitori de VHB polimeraza.

Adefovir a fost al doilea inhibitor de polimeraza VHB aprobat. El are activitate antivirala buna la pacientii rezistenti la lamivudina. Cu toate acestea, eficacitatea antivirala este limitata de nefrotoxicitate. Din cauza afectarii tubulare renale doza terapeutica aprobata a fost limitata la 10mg/zi, desi 30mg/zi au dovedit o eficacitate antivirala superioara (Marcellin 2003). Totusi reducerea eficacitatii antivirale este contrabalansata de un profil al rezistentei favorabil – rezistenta se dezvolta mai tarziu si este mai putin extinsa comparativ cu lamivudina si telbivudina (Figura 3), cu toate acestea se instaleaza mai frecvent la pacientii cu rezistenta deja instalata la lamivudina (Lee 2006). In trialuri clinice nu a fost evidentiata nici o asociere a raspunsului la tratament cu genotipul VHB (Westland 2003), desi exista studii din Spania pe un numar limitat de pacienti sugereaza o reducere a eficacitatii adefovirusului pe genotipul VHB A2 (Chueca 2007).

Rezistenta la adefovir sau tulpinile neresponsive VHB par sa raspunda la tenofovir cu o scadere lenta a virusului, dar fara semne de rezistenta incrucisata adevarata (Berg 2008).

In cazul rezistentei la lamivudina este de preferat adaugarea adefovirusului la tratamentul cu lamivudina preexistent si nu trecerea la monoterapie cu adefovir (Lampertico 2006; Lampertico 2007).

Entecavirul este un inhibitor nucleozidic al polimerazei VHB cu o buna eficacitate antivirala si cu risc scazut de rezistenta la pacientii naivi (Chang 2006; Lai 2006), datorita necesitatii aparitiei de mutatii la nivelul genelor polimerazei VHB pentru a capata rezistenta. Cu toate acestea, exista cateva mutatii comune cu lamivudina si telbivudina ce confera rezistenta la entecavir (Figura 4). Prezenta mutatiilor

L180M, M204I, L180M + M204V faciliteaza dezvoltarea rezistentei la entecavir, fiind necesara aparitia unei singure mutatii pentru dezvoltarea rezistentei totale. Ca rezultat, in contrast cu tratamentul pacientilor naivi, unde entecavirul este net superior lamivudinei, potentialul sau antiviral este redus evident la pacientii cu rezistenta la lamivudina si pana la 40% din acestia dezvolta rezistenta totala la entecavir dupa trei ani de tratament (Tenney 2007; Colonna 2007).

In acord cu datele preliminare entecavirul pare a avea eficacitate redusa la pacientii cu rezistenta la adefovir (Reijnders 2007).

Tenofovirul este aprobat in tratamentul infectiei HIV si VHB. Datele primare de la pacientii coinfectati VHB/HIV releva o puternica eficacitate antivirala si o dezvoltare lenta a rezistentei (Núñez 2002; Nelson 2003; van Bommel 2004). In principalele trialuri inregistrate tenofovir a fost superior adefovirului obtinandu-se o rata substantial mai mare a supresie virale totale la pacientii antigen-HBe pozitiv (tenofovir 69% vs. adefovir 9%, ADN VHB <40 IU/ml) si antigen-HBe negativ (tenofovir 91% vs. adefovir 56%, ADN VHB <40 IU/ml) la saptamana 52 de tratament (Heathcote 2007; Marcellin 2007). La pacientii HIV pozitivi au fost raportate cateva cazuri de disfunctie renotubulara. Alminteri tenofovirul este bine tolerat. Este activ la pacientii cu rezistenta la lamivudina, desi o acumulare a unui numar mare de mutatii induse de lamivudina pot sa scada partial eficacitatea antivirala a tenofovirului (Schmutz 2006; Lada 2008). Cateva date sugereaza reducerea eficacitatii in prezenta rezistentei la adefovir, ceea ce nu a fost confirmat in studiile tip cohorta prezentate recent (van Bommel 2006; Berg 2008).

Tratamentul combinat al hepatitelor cronice B creste eficacitatea antivirala si scade aparitia rezistentei

Terapia combinata pare sa fie superioara monoterapiei, in special la pacientii cu hepatita B cu replicare virala inalta (ADN VHB $>10^9$ copii/ml). Oricum, trialurile care evalueaza terapia combinata de novo versus monoterapie sunt limitate. Experienta tratamentului combinat telbivudina si lamivudina sugereaza ca asocierea dintre doi analogi nucleozidici cu un profil de rezistenta suprapus nu are un efect antiviral aditiv (Lai 2005). In contrast, asocierea unui inhibitor nucleozidic al polimerazei cu unul nucleotidic cu diferite profile de rezistenta poate aduce beneficii (Sung 2003). Sunt in curs de desfasurare trialuri clinice ce vor aduce dovezi despre modul optim de utilizare a antiviralelor cunoscute. Oricum, aceste trialuri necesita un numar mare de pacienti si o perioada de observare lunga pentru ca medicamente precum entecavir si tenofovir sa evidentieze o eficacitate considerabila in monoterapie. In teorie, terapia combinata *de novo* la pacientii naivi poate fi superioara monoterapiei. Din nefericire in prezent nici un trial strategic nu evalueaza aceste doua abordari terapeutice. Cu toate acestea, trebuie reamintit ca – spre deosebire de HIV – controlul imun este posibil in VHB, limitand durata terapiei. Avand in vedere disponibilitatea inhibitorilor de VHB polimeraza cu o bariera inalta pentru rezistenta, monoterapia poate fi initiata chiar la pacientii naivi cu niveluri inalte ale replicarii virale. Cheia succesului consta in a adapta schema de tratament cat mai curand posibil daca nu se obtine o supresie satisfacatoare a replicarii virale, evitand astfel aparitia rezistentei.

Managementul rezistenței la terapie

Esecul tratamentului primar și secundar a fost remarcat în tratamentul hepatitei B. Un răspuns clinic primar suficient după 6 luni de tratament este definit ca o reducere a ADN VHB la mai puțin de 10^3 copii/ml (200 IU/ml) sau o scădere continuă a ADN VHB până în luna a douăsprezecea. În contrast, dacă se observă o creștere a ADN VHB de cel puțin un log în timpul continuării terapiei antivirale este foarte probabil să fie prezentă rezistența secundară. Rezistența VHB apare în mod obișnuit cu câteva luni înaintea recăderii biochimice cu creșterea transaminazelor și astfel monitorizarea regulată a ADN VHB este necesară în timpul tratamentului antiviral (e.g., la fiecare 3 luni) (Cornberg 2007). Testarea pentru variantele asociate cu rezistența poate fi utilă atunci când cresc valorile ADN VHB în timpul tratamentului.

Oricum, până la 30% din eșecurile terapiei antivirale sunt rezultatul problemelor de aderență la tratament. Prin urmare, aderența pacienților trebuie evaluată înaintea testării rezistenței genotipice. Mutatii adiționale se pot dezvolta dacă monoterapia este continuată în ciuda rezistenței VHB, în felul acesta extinzându-se rezistența încrucișată (Locarnini 2004). Cunoașterea eficacității antivirale, a barierelor de rezistență și a profilului de rezistență pentru fiecare medicament antiviral disponibil trebuie să fie o condiție prealabilă în utilizarea rațională a analogilor nucleozidici pentru hepatita B. În caz de rezistență la un analog nucleozidic (lamivudina, telbivudina, emtricitabina, entecavir), în cele mai multe cazuri se recomandă adăugarea timpurie a unui analog nucleotidic (adefovir, tenofovir). În scenariul opus, adăugarea unui nucleozid în timpul tratamentului nucleotidic se recomandă în caz de eșec al tratamentului cu adefovir sau tenofovir (Figura 5). Ca măsură secundară un schimb adițional între adefovir și tenofovir poate fi efectuat.

Din punct de vedere istoric cele mai multe date au fost obținute pentru pacienți cu rezistență la lamivudina. În această direcție avantajul de a adăuga adefovir mai devreme decât a schimba cu adefovir a fost bine stabilit (Lampertico 2005; Lampertico 2007). De altfel, adefovirul poate fi adăugat timpuriu la valori scăzute ADN VHB, când se confirmă o creștere a nivelului ADN VHB și înaintea apariției unei recăderi biochimice.

Considerații speciale la pacienții coinfectați HIV/VHB

La pacienții cu hepatita cronică B și HIV prima întrebare este dacă pacienții au indicație pentru terapie antiretrovirală. La pacienții fără astfel de indicație (>350 celule CD4-pozitive / μ l) interferonul sau un inhibitor de polimerază VHB fără activitate anti HIV sunt o opțiune. Monoterapia recomandată inițial cu entecavir este acum considerată demodată întrucât selectează mutații importante la nivelul genomului HIV (M184V) (MacMahon 2007). În prezent, recomandarea administrării adefovirului și a telbivudinei se bazează pe date limitate *in vivo* pentru adefovir sau exclusiv *in vitro* pentru telbivudina (Delaugerre 2002; Sheldon 2005). Întrucât ambele medicamente prezintă limitări ce nu le recomandă pentru monoinfecții VHB inițierea terapiei antiretrovirale prin utilizarea tenofovirului plus lamivudina/emtricitabina poate fi folosită în particular la pacienții cu fibroza hepatică avansată.

La pacienții cu indicație pentru terapie antiretrovirală, un regim continuând tenofovir plus lamivudina sau emtricitabina favorizează scăderea apariției rezistenței la lamivudina sau emtricitabina în VHB. Incidența rezistenței VHB la pacienții coinfecțati HIV/VHB tratați cu lamivudina după doi ani este de aproximativ 50% (Benhamou 1999). La pacienții care au dezvoltat deja rezistență la lamivudina tenofovirusul poate fi adăugat sau poate înlocui lamivudina în tratamentul VHB (Schmutz 2006). Decizia de a adăuga entecavir la pacienții tratați cu tenofovir +/- emtricitabina/lamivudina se face pe baze individuale.

Schimbarea unui regim antiretroviral la pacienții coinfecțati VHB/HIV datorită dezvoltării rezistenței HIV trebuie făcută luând în considerare infecția VHB, hepatita cronică B putându-se exacerba în absența unui inhibitor de polimerază VHB activ.

Rezistența la inhibitorii de polimerază și eludarea răspunsului imun

Alta consecință justificată, dar neașteptată a rezistenței la lamivudina este inducerea unor schimbări conformaționale la nivelul antigenului HBs datorată unei suprapunerii a cadrelor de citire în secvența genică a polimerazei VHB și a AgHBs (Figura 5, vezi <http://hepatologytextbook.com/link.php?id=3>). Din această cauză, mutațiile la nivelul polimerazei VHB pot induce modificări la nivelul anvelopei virale rezultând o modificare a imunogenicității. Aceasta poate duce la mutanți care să scape vaccinării. Studiile *in vitro* și *ex vivo* susțin această ipoteză ce poate avea importante implicații în sănătatea publică (Mathews 2006; Sheldon 2007). În afara selecției mutanților non-neutralizante, rezistența la lamivudina poate avea efect și pe imunitatea celulară împotriva VHB. Terapia virală suboptimală, e.g. cu lamivudina, în special în țările cu prevalență mare a infecției VHB, poate submina eforturile de vaccinare ducând la răspândirea mutanților VHB ce scapă de vaccinării.

Regiunea YMDD este de asemenea parte a epitopului MHC-class I-restricted CTL. Limfocitele T citotoxice specifice YMDD pot avea parțial reactivitate încrucișată cu variantele YVDD și YIDD (Lin 2005) și în acest fel să contribuie la prevenirea unei emergente a rezistenței. Oricum, este nevoie ca mai multe studii să exploreze în detaliu consecințele dezvoltării rezistenței virale la inhibitorii de polimerază pentru imunitatea celulară T împotriva VHB.

Concluzii

În concluzie, tratamentul cu inhibitorii polimerazei VHB până în prezent este limitat la două subclase active cu diferențe în profilul de rezistență, în capacitatea de a controla dezvoltarea rezistenței și în eficacitatea antivirală (Figura 5). În consecință, rezistența datorată tratamentului suboptimal cu un compus elimină sau reduce efectele agenților următori datorită rezistenței încrucișate totale sau parțiale. Aceasta este bine documentată pentru lamivudina, telbivudina și entecavir (Figura 3). Există câteva date ce indică posibilitatea rezistenței încrucișate între entecavir și tenofovir. Potențialul adefovirusului de a induce rezistență la nu este bine studiat și este momentan în discuție.

Superioritatea terapiei combinate *de novo* pentru VHB față de monoterapia secvențială are perspective la pacienții cu valori foarte mari ale viremiei VHB, dar rămâne să fie demonstrată în trialuri clinice prospective. La pacienții cu valori scăzute sau medii ale viremiei, riscul de a dezvolta rezistență este mai scăzut când sunt folosite medicamente cu o barieră genetică înaltă când se obține o supresie rapidă a replicării virale a VHB.

Alegerea strategiei de prim tratament este esențială în conservarea și selecția opțiunilor viitoare.

Referințe

- Benhamou Y, Bochet M, Thibault V, Di Martino V, Caumes E, Bricaire F, Opolon P, Katlama C, Poynard T. Long-term incidence of hepatitis B virus resistance to lamivudine in human immunodeficiency virus-infected patients. *Hepatology*. 1999;30(5):1302-6.
- Berg T, Moller B, Trinh H, Chan S, Marcellin P, Suarez E, Snow-Lampart A, Frederick D, Oldach D, Sorbel J, Borroto-Esoda K, Rousseau F. Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) versus emtricitabine plus TDF for treatment of chronic Hepatitis B (CHB) in subjects with persistent viral replication receiving adefovir dipivoxil (ADV). *Journal of Hepatology*. 2008; 48(Suppl.2): S34 (abstract 76).
- Bonino F, Marcellin P, Lau GK, Hadziyannis S, Jin R, Piratvisuth T, Germanidis G, Yurdaydin C, Diago M, Gurel S, Lai MY, Brunetto MR, Farci P, Popescu M, McCloud P; Peginterferon Alfa-2a HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B Study Group. Predicting response to peginterferon alpha-2a, lamivudine and the two combined for HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Gut*. 2007; 56(5):699-705.
- Chang T, Gish R, De Man R. A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg- positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006; 354: 1001-1010.
- Chueca N, Nogales C, Rodriguez F et al. Hepatitis B Virus genotyping may influence therapeutic decisions. 5th European HIV Drug Resistance Workshop, Cascais 2007, abstract 88.
- Colonna RJ, Rose R, Baldick CJ, Levine S, Pokornowski K, Yu CF, Walsh A, Fang J, Hsu M, Mazzucco C, Eggers B, Zhang S, Plym M, Kleszczewski K, Tenney DJ. Entecavir resistance is rare in nucleoside naive patients with hepatitis B. *Hepatology*. 2006;44(6):1656-65.
- Cornberg M, Protzer U, Dollinger MM, Petersen J, Wedemeyer H, Berg T, Jilg W, Erhardt A, Wirth S, Schirmacher P, Fleig WE, Manns MP. Prophylaxis, Diagnosis and Therapy of Hepatitis-B-Virus-(HBV-) Infection: upgrade of the guideline. *Z Gastroenterol*. 2007; 45(6): 525-74.
- Delaugerre C, Marcellin AG, Thibault V, Peytavin G, Bombléd T, Bochet MV, Katlama C, Benhamou Y, Calvez V. Human immunodeficiency virus (HIV) Type 1 reverse transcriptase resistance mutations in hepatitis B virus (HBV)-HIV-coinfected patients treated for HBV chronic infection once daily with 10 milligrams of adefovir dipivoxil combined with lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(5):1586-8.
- Di Marco V, Marzano A, Lampertico P, Andreone P, Santantonio T, Almasio PL, Rizzetto M, Craxi A; Italian Association for the Study of the Liver (AISF) Lamivudine Study Group, Italy. Clinical outcome of HBeAg-negative chronic hepatitis B in relation to virological response to lamivudine. *Hepatology*. 2004; 40(4):883-91.
- Erhardt A, Blondin D, Hauck K, Sagir A, Kohnle T, Heintges T, Haussinger D. Response to interferon alpha is hepatitis B virus genotype dependent: genotype A is more sensitive to interferon than genotype D. *Gut*. 2005; 54(7):1009-13.
- Flink HJ, van Zonneveld M, Hansen BE, de Man RA, Schalm SW, Janssen HL; HBV 99-01 Study Group. Treatment with Peg-interferon alpha-2b for HBeAg-positive chronic he-

- patitis B: HBsAg loss is associated with HBV genotype. *Am J Gastroenterol.* 2006;101(2):297-303.
- Hadziyannis SJ, Tassopoulos NC, Heathcote EJ, Chang TT, Kitis G, Rizzetto M, Marcellin P, Lim SG, Goodman Z, Ma J, Brosgart CL, Borroto-Esoda K, Arterburn S, Chuck SL; Adefovir Dipivoxil 438 Study Group. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B for up to 5 years. *Gastroenterology.* 2006;131(6):1743-51.
- Heathcote EJ, Gane E, DeMan R, Lee S, Flisiak R, Manns MP, Tchernev K, Kuras O, Shiffman ML, Sorbel J, Anderson J, Mondou E, Rousseau F. A randomized, double-blind, comparison of tenofovir DF (TDF) versus adefovir dipivoxil (ADV) for the treatment of HBeAg positive chronic hepatitis B (CHB): Study GS-US-174-0103. *Hepatology* 2007; 46, No. 4, (Suppl.1): 861A, Abstract LB6.
- Lada O, Gervais A, Branger M, Peytavin G, Colin G, Fraqueiro G, Males S, Martinot-Peignoux M, Matheron S, Marcellin P. Low rate of delayed response in lamivudine experienced HIV/HBV co-infected patients treated with enofovir disoproxil fumarate (TDF). *Journal of Hepatology.* 2008; 48(Suppl.2): S259 (abstract 695).
- Lai CL, Leung N, Teo EK, Tong M, Wong F, Hann HW, Han S, Poynard T, Myers M, Chao G, Lloyd D, Brown NA; Telbivudine Phase II Investigator Group. A 1-year trial of telbivudine, lamivudine, and the combination in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *Gastroenterology.* 2005;129(2):528-36.
- Lai CL, Gane E, Hsu CW et al. Two-year results from the GLOBE trial in patients with hepatitis B: Greater clinical and antiviral efficacy for telbivudine (LdT) vs. lamivudine. *Hepatology*, 2006, 44, 222A.
- Lai C, Shouval D, Lok A. Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006; 354: 1011-1020.
- Lampertico P, Viganò M, Manenti E et al. Adefovir rapidly suppresses hepatitis B in HBeAg-negative patients developing genotypic resistance to lamivudine. *Hepatology* 2005; 42: 1414-1419.
- Lampertico P, Marzano A, Levriero M et al. Adefovir and lamivudine combination therapy is superior to adefovir monotherapy for lamivudine-resistant patients with HBeAg-negative hepatitis B. *Hepatology*, 2006, 44, 693A.
- Lampertico P, Viganò M, Manenti E, Iavarone M, Sablon E, Colombo M. Low resistance to adefovir combined with Lamivudine: a 3-year study of 145 Lamivudine-resistant hepatitis B patients. *Gastroenterology.* 2007; 133(5):1445-51.
- Lau GK, Piratvisuth T, Luo KX, Marcellin P, Thongsawat S, Cooksley G, Gane E, Fried MW, Chow WC, Paik SW, Chang WY, Berg T, Flisiak R, McCloud P, Pluck N; Peginterferon Alfa-2a HBeAg-Positive Chronic Hepatitis B Study Group. Peginterferon Alfa-2a, lamivudine, and the combination for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med.* 2005; 30;352(26):2682-95.
- Lee YS, Suh DJ, Lim YS, Jung SW, Kim KM, Lee HC, Chung YH, Lee YS, Yoo W, Kim SO. Increased risk of adefovir resistance in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B after 48 weeks of adefovir dipivoxil monotherapy. *Hepatology.* 2006; 43(6):1385-91.
- Liaw YF, Sung JJ, Chow WC, Farrell G, Lee CZ, Yuen H, Tanwandee T, Tao QM, Shue K, Keene ON, Dixon JS, Gray DF, Sabbat J; Cirrhosis Asian Lamivudine Multicentre Study Group. Lamivudine for patients with chronic hepatitis B and advanced liver disease. *N Engl J Med.* 2004; 351(15):1521-31.
- Lim SG, Ng TM, Kung N, Krastev Z, Volfova M, Husa P, Lee SS, Chan S, Shiffman ML, Washington MK, Rigney A, Anderson J, Mondou E, Snow A, Sorbel J, Guan R, Rousseau F; Emtricitabine FTCB-301 Study Group. A double-blind placebo-controlled study of emtricitabine in chronic hepatitis B. *Arch Intern Med.* 2006; 166(1):49-56.

- Lin CL, Tsai SL, Lee TH, Chien RN, Liao SK, Liaw YF. High frequency of functional anti-YMDD and -mutant cytotoxic T lymphocytes after in vitro expansion correlates with successful response to lamivudine therapy for chronic hepatitis B. *Gut*. 2005; 54 (1): 152-61.
- Locarnini S, Hatzakis A, Heathcote J, Keeffe EB, Liang TJ, Mutimer D, Pawlotsky JM, Zoulim F. Management of antiviral resistance in patients with chronic hepatitis B. *Antivir Ther*. 2004; 9 (5): 679-93.
- Marcellin P, Chang TT, Lim SG, Tong MJ, Sievert W, Shiffman ML, Jeffers L, Goodman Z, Wulfsohn MS, Xiong S, Fry J, Brosgart CL; Adefovir Dipivoxil 437 Study Group. Adefovir dipivoxil for the treatment of hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2003; 27;348(9):808-16.
- Marcellin P, Lau GK, Bonino F, Farci P, Hadziyannis S, Jin R, Lu ZM, Piratvisuth T, Germanidis G, Yurdaydin C, Diago M, Gurel S, Lai MY, Button P, Pluck N; Peginterferon Alfa-2a HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B Study Group. Peginterferon alfa-2a alone, lamivudine alone, and the two in combination in patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 2004; 351(12):1206-17.
- Marcellin P, Buti M, Krastev Z, Germanidis G, Kaita KD, Kotzev I, Buggisch P, Weillert F, Trinh HN, Sorbel J, Anderson J, Mondou E, Rousseau F. A randomized, double-blind, comparison of tenofovir DF (TDF) versus adefovir dipivoxil (ADV) for the treatment of HBeAg-negative chronic hepatitis B (CHB): Study GS-US-174-0102. *Hepatology* 2007; 46, No. 4, (Suppl.1): 290A, Abstract LB2.
- Matthews GV, Bartholomeusz A, Locarnini S et al. Characteristics of drug resistant HBV in an international collaborative study of HIV-HBV-infected individuals on extended lamivudine therapy. *AIDS*. 2006;20(6):863-70.
- McMahon MA, Jilek BL, Brennan TP et al. The HBV drug entecavir - effects on HIV-1 replication and resistance. *N Engl J Med* 2007;356:2614-2621.
- Niederau C, Heintges T, Lange S, Goldmann G, Niederau CM, Mohr L, Haussinger D. Long-term follow-up of HBeAg-positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N Engl J Med*. 1996; 30;334(22):1422-7.
- Nelson M, Portsmouth S, Stebbing J. An open-label study of tenofovir in HIV-1 and hepatitis B virus co-infected individuals. *AIDS* 2003;17:F7-F10.
- Núñez M, Pérez-Olmeda M, Díaz B, Ríos P, González-Lahoz J, Soriano V. Activity of tenofovir on hepatitis B virus replication in HIV-co-infected patients failing or partially responding to lamivudine. *AIDS* 2002; 16:2352-2354.
- Reijnders JG, De Man RA, Pas SD, Schutten M, Janssen HL. Entecavir: A rescue therapy for chronic hepatitis B patients with a limited virological response to adefovir? *Hepatology* 2007; 46, No. 4, (Suppl.1): 660A, Abstract No. 951.
- Schmutz G, Nelson M, Lutz T, Sheldon J, Bruno R, von Boemmel F, Hoffmann C, Rockstroh J, Stoehr A, Wolf E, Soriano V, Berger F, Berg T, Carlebach A, Schwarze-Zander C, Schurmann D, Jaeger H, Mauss S. Combination of tenofovir and lamivudine versus tenofovir after lamivudine failure for therapy of hepatitis B in HIV-coinfection. *AIDS*. 2006;20(15):1951-4.
- Sheldon JA, Corral A, Rodés B, Mauss S, Rockstroh J, Berger F, Schwarze-Zander C, Soriano V. Risk of selecting K65R in antiretroviral-naïve HIV-infected individuals with chronic hepatitis B treated with adefovir. *AIDS* 2005;19(17):2036-8.
- Sheldon J, Ramos B, Garcia-Samaniego J et al. Selection of Hepatitis B Virus (HBV) Vaccine Escape Mutants in HBV-Infected and HBV/HIV-Coinfected Patients Failing Antiretroviral Drugs With Anti-HBV Activity. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007; 46(3):279-82.
- Sung JJ, Lai JY, Zeuzem S et al. A randomised double-blind phase II study of lamivudine compared to lamivudine plus adefovir dipivoxil for treatment naïve patients with chronic hepatitis B: week 52 analysis. *J Hepatol* 2003; 38 (suppl 2):25-6.

- Tenney DJ, Rose RE, Baldick CJ, Levine SM, Pokornowski KA, Walsh AW, Fang J, Yu CF, Zhang S, Mazzucco CE, Eggers B, Hsu M, Plym MJ, Poundstone P, Yang J, Colonno RJ. Two-year assessment of entecavir resistance in Lamivudine-refractory hepatitis B virus patients reveals different clinical outcomes depending on the resistance substitutions present. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51(3):902-11.
- Van Bommel F, Wunsche T, Mauss S. Comparison of adefovir and tenofovir in the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2004; 40: 1421-1425.
- Van Bommel F, Zoellner B, Moeller B et al. Is tenofovir effective in treatment of adefovir resistant hepatitis B virus infections? *Hepatology*, 2006, 44, 567A.
- Westland C, Delaney W 4th, Yang H, Chen SS, Marcellin P, Hadziyannis S, Gish R, Fry J, Brosgart C, Gibbs C, Miller M, Xiong S. Hepatitis B virus genotypes and virologic response in 694 patients in phase III studies of adefovir dipivoxil1. *Gastroenterology.* 2003;125(1):107-16.

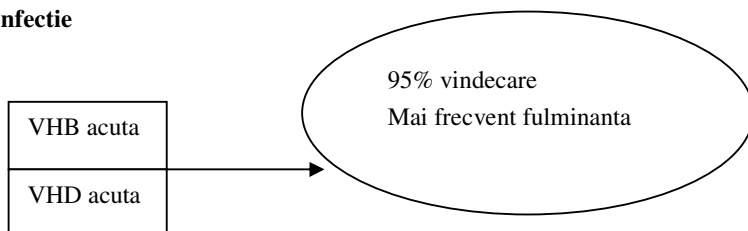
Capitolul 11: Hepatita D - modalitati de diagnostic si terapie

Heiner Wedemeyer

Introducere

Hepatita delta este considerata cea mai severa dintre hepatitele virale umane. Virusul hepatitei delta (VHD) este un virus ARN defectiv care nu se poate transmite si replica complet in lipsa AgHBs, proteina de suprafata a virusului hepatitei B (VHB), insa functia helper a VHB nu este inteleasa in totalitate (Rizzetto 1983; Taylor 2006). Hepatita delta apare doar la persoanele AgHBs- pozitive fie sub forma unei coinfectii acute, fie sub forma unei suprainfectii la pacientii cu hepatita B cronica (Farci 2003) (Figura 1). Mai multe studii au aratat ca infectia cronica cu VHD evolueaza mai sever decat infectia cronica cu VHB, cu progresie rapida a fibrozei, risc crescut de carcinom hepatocelular si decompensare timpurie in cadrul cirozei deja instalate (Farci 2003; Fattovich 2000; Fattovich 1987). Si la cimpazei, infectia simultana cu VHB si VHD este mai severa decat infectia cu VHB (Dienes 1990). Pana acum, numai interferonul alfa a fost eficient ca terapie antivirala in infectia cu VHD si a fost corelat cu imbunatatirea prognosticului pe termen lung. Date recente cu privire la utilizarea interferonului pegylat confirma observatiile initiale - PEG-IFN determina raspunsul virusologic sustinut la aproximativ un sfert din pacienti.

Coinfectie



Suprainfectie VHD

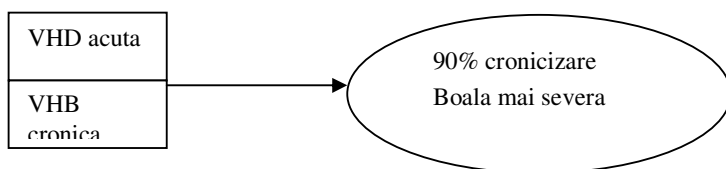


Figura 1. Evolutia hepatitei delta.

Virusologia VHD

VHD are aproximativ 36 nm și conține ARN și antigenul delta. ARN-ul VHD este simplu-spiralat, cu multe baze azotate complementare, circular și de virus animal, conținând aproape 1700 nucleotide (Taylor 2006). Are la exterior o proteină anvelopară derivată din antigenele pre-S și S ale virusului hepatitic B. ARN-ul VHD are 6 cadre deschise de citire (open reading frames, ORF), 3 pe spira sens și 3 pe spira antisens. Un cadru de citire codifică antigenul hepatitei delta (AgHD), în timp ce celelalte cadre de citire nu se transcriu activ. Există două AgHD: AgHD scurt (24 kD), ce are 155 aminoacizi și AgHD lung (27 kD), care are 214 aminoacizi. O singură modificare conformatională a nucleotidelor (A-G) în secvența AgHD scurt duce la sinteza AgHD lung. AgHD scurt accelerează sinteza genomului, iar AgHD lung, inhibitor al sintezei ARN/VHD, este necesar morfogenezei virionului (Taylor 2006). Replicarea ARN/ VHD se realizează printr-un “model circular dublu rotativ” în care spira sens este reprodusă de o polimerază ARN a gazdei, sintetizând o structură liniară polimerică, care se va cliva, autocatalizându-se în monomeri liniari și se va asambla în ARN-ul circular progen al VHD.

Analiza filogenetică a dus la descoperirea a cel puțin a 7 genotipuri VHD (Radjef 2004) (Figura 2). Genotipul 1 este cel mai des întâlnit genotip și este prezent în toată lumea, în special în Europa, Orientul Mijlociu, America de Nord și Africa de Nord. Genotipul 2 se întâlnește în Asia de Est, iar genotipul 3 se regăsește exclusiv în partea de nord a Americii de Sud. Genotipul 1 se asociază atât cu boala cu evoluție blândă, cât și cu cea cu evoluție severă, în timp ce genotipul 2 determină o boală mai blândă pe termen lung (Su 2006). Trialurile terapeutice europene H1DT-I, din Germania, Turcia și Grecia au arătat că toți pacienții incluși erau infectați cu genotipul 1 al VHD (Zachou 2006).

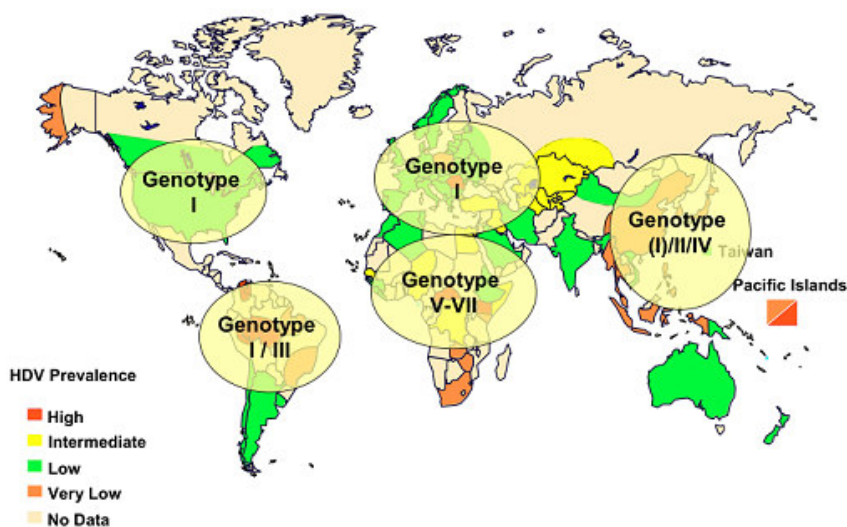


Figura 2. Prevalenta genotipurilor VHD.

Epidemiologia hepatitei delta

Hepatita delta nu este o boala rara. Datorita corelatiei cu VHB se transmite pe aceiasi cale, in principal prin expunere parenterala (Niro 1999). Este inalt endemica in tarile Mediteraneene, Orientul Mijlociu, Africa Centrala si partea nordica a Americii de Sud (Radjef 2004) (Figura 2). In tarile vestice, se pot intalni prevalente inalte la utilizatorii de droguri intravenoase AgHBs-pozitivi (Wedemeyer 2007; Gaeta 2000). La nivel mondial, peste 350 milioane de persoane sunt infectate cronic cu VHB si se estimeaza ca 15-20 milioane dintre acestea sunt anti-VHD pozitive (Hadziyannis 1997). Hepatita delta este inalt endemica in sudul Europei. Diverse studii realizate in anii 80 si 90 au aratat o prevalenta de mai mult de 20% a anti-VHD in randul persoanelor AgHBs-pozitive (Farci 2003). In Turcia, prevalenta VHD la pacientii AgHBs-pozitivi varia intre <5% in vest si >27% in sud-est (Degertekin 2008). Alta tara cu o prevalenta aparte, crescuta, a hepatitei delta este Mongolia in care se regasesc pana la o treime din cazurile de hepatita cronica cu VHD (Tsatsralt-Od 2005).

Ca rezultat al implementarii programelor de vaccinare VHB, incidenta infectiei cu VHD a scazut semnificativ in sudul Europei in anii 90 (Gaeta 2000) (Figura 3).

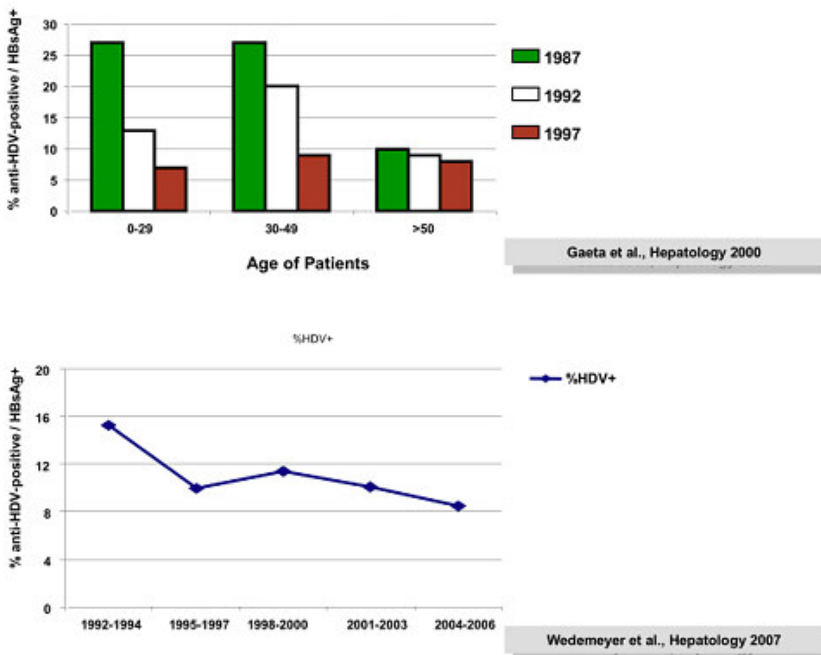


Figura 3. Prevalenta virusului hepatitei D in Italia si Germania.

In Europa centrala – in particular datorita imigratiei din ariile inalt endemice, hepatita delta cronica reprezinta inca o problema semnificativa de sanatate publica (Wedemeyer 2007; Erhardt 2003) (Figura 4; Tabelul 1). Din experienta autorilor germani ca centru de referinta a bolilor hepatice, aproape 8-10% din pacientii AgHBs-pozitivi au anti-VHD (Figura 3) si mai mult de trei sferturi dintre pacientii acestora cu hepatita delta nu sunt nascuti in Germania. Daca pana la jumatatea anilor 90 majoritatea pacientilor cu hepatita delta se nascusera in Turcia, in ultimii ani proportia pacientilor din tarile Est Europene a crescut semnificativ (Wedemeyer 2007) (Tabelul 1).

Repeta PCR
 daca ALT
 crescut - punctie
 biopsie hepatica

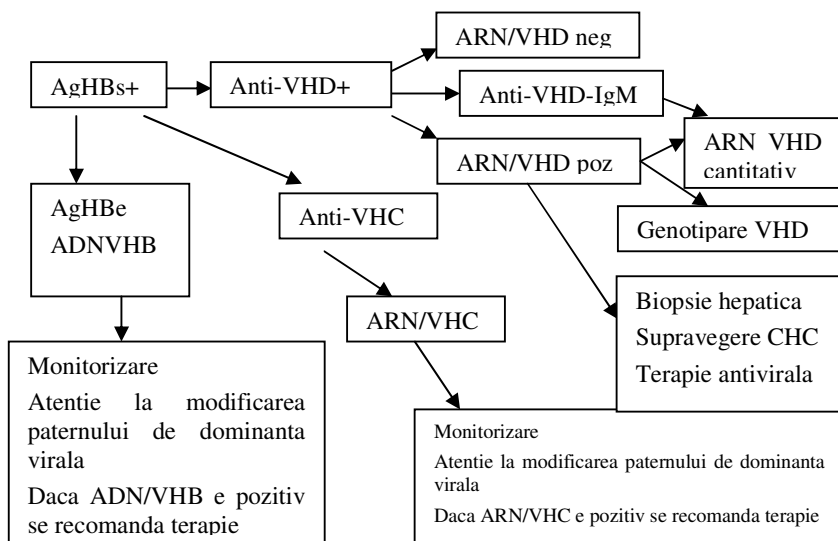


Figura 4. Algoritm de diagnostic in hepatita delta.

Originea pacientilor	Diagnostic VHD 1992-1996 N=43	Diagnostic VHD 1997-2007 N=101	Valoarea p
Germania %	23.2 (N=10)	17.8 (N=18)	nesemnificativ
Turcia %	41.8 (N= 18)	19.8 (N=20)	0.006
Europa de est %	11.6 (N= 5)	34.6 (N=35)	0.003

Tabelul 1. Tara de provenienta la pacientii cu hepatita delta in evidenta la scoala Medicala din Hannover

In SUA sunt disponibile date limitate cu privire la epidemiologia hepatitei delta. Studii initiale publicate intre 1985 si 1993 au raportat o prevalenta a VHD de 2% la homosexuali (Weisfuse 1989), in jur de 20% la hemofilici (Rizzetto 1983) si prostituate (Troisi 1993) si pana la 30% la purtatorii cronici de hepatita B din Illinois (Hershow 1989). Cu toate acestea, pana in 1993, nu s-a publicat nici un studiu care sa includa un numar semnificativ de subiecti. Prevalenta VHD in cadrul populatiilor cu risc crescut precum utilizatorii de droguri intravenoase ramane necunoscuta in SUA.

Patogenia infectiei cu VHD

Cunostintele cu privire la patogenia infectiei cu VHD sunt limitate. In hepatita delta observatiile clinice au aratat prezenta unui proces mediat imun si a unor modificari care sugereaza citopatogenitatea virusului. Un exemplu tipic au fost epidemiile de hepatita fulminanta din partea de nord a Americii de sud, (Nakano 2001), induse de

genotipul 3 al virusului delta. In cazul unei hepatite delta, leziunile hepatice sunt diferite de cele necroinflamatorii din hepatita B sau C, iar viremia VHD nu se asociaza direct cu stadiul bolii hepatice (Zachou 2006). Raspunsul imun celular din hepatita D a fost descris de putini cercetatori (Nisini 1997; Aslan 2003; Huang 2004) si datele sugereaza ca se poate asocia calitatea si amploarea raspunsului limfocitelor T cu controlul infectiei. Recent, s-a aratat ca frecventa limfocitelor T CD4+ creste in hepatita delta mai mult decat in infectiile cu VHB sau VHC (Aslan 2006). Acest fapt sugereaza ca infectia cu VHD este o afectiune mediata imun, cel putin in cazul genotipului 1 al VHD. Terapiile antivirale trebuie sa aiba ca scop cresterea imunitatii anti-VHD pentru a conferi controlul infectiei pe termen lung. S-a observat ca se poate estima raspunsul la terapia cu PEG-IFN α -2a in functie de calitatea raspunsului limfocitelor T specifice VHD (Wedemeyer 2007).

Coinfectiile cu mai multe virusuri hepatitice se asociaza cu inhibarea reciproca a replicarii virale (Raimondo 2006), frecvent aratandu-se ca VHD suprima replicarea VHB (Jardi 2001; Sagnelli 2000). 70% pana la 90% dintre pacientii cu hepatita delta sunt AgHBe negativi cu titruri scazute de ADN/VHB. Cu toate acestea evolutia hepatitei delta la pacientii AgHBe-pozitivi nu a fost bine studiată. Este important de amintit ca si pacientii AgHBe-pozitivi pot fi negativi pentru ADN/VHB in coinfectii. Pe de alta parte, mutante VHB pre-core sunt prezente la pacientii cu hepatita delta si prin urmare pacientii AgHBe-negativi prezinta niveluri semnificative de ADN VHB necesitand terapie antivirala pentru hepatita B.

Exista dovezi importante ca VHD poate inhiba atat replicarea VHB cat si replicarea VHC la pacientii coinfectati cu cele 3 virusuri (Wedemeyer 2001). Din experienta noastra, mai putin de o cincime dintre persoanele cu anti-VHC/AgHBs/anti-VHD prezinta ARN/VHC detectabil. Nu este clar cati dintre pacientii anti-VHC-pozitivi/ARN VHC-negativi s-au vindecat de infectia cu VHC si cati pacienti prezinta ARN/VHC nedetectabil in contextul coinfectiilor. Populatia virala majoritara se poate modifica in timp, si prin urmare pacientii triplu coinfectati trebuie monitorizati atent si tratati.

Evolutia clinica a hepatitei delta

Coinfectia VHB/VHD

In mai mult de 90% din cazuri, coinfectia acuta VHB/VHD evolueaza spre vindecare, dar poate avea si o evolutie severa, cu risc de hepatita fulminanta (Rizzetto 2000). Vindecarea spontana a infectiei la purtatorii cronici de AgHBs suprainfectati VHD se observa in putine cazuri (Figura 1). In experimentele efectuate la cimpanzei, s-a observat ca leziunile histopatologice din infectia simultana cu cele doua virusuri sunt mai severe decat mono-infectia cu VHB. (Dienes 1990). Au fost descrise mai multe epidemii de hepatita acuta delta cu evolutie severa in regiuni diferite din intreaga lume (Casey 1996; Flodgren 2000; Tsatsralt-Od 2006) dar, in ultimele doua decade, datorita introducerii programelor de vaccinare, hepatita acuta delta apare tot mai rar in tarile vestice.

Hepatita cronica delta

Mai multe studii au aratat ca infectia cronica cu VHD este mai severa decat infectia cu VHB, avand evolutie rapida spre fibroza, risc crescut de carcinom hepatic si decompensare timpurie in ciroza. (Fattovich 1987; Jardi 2001; Sagnelli 2000; Rizzetto 2000; Uzunalimoglu 2001; Wedemeyer 2007). In sud-estul Turciei, VHD este responsabil pentru aproape toate cazurile de ciroza hepatica si carcinom hepato-celular, (Degertekin 2008; Uzunalimoglu 2001; Yurdaydin 2006a), iar in Taiwan, recent, s-a raportat intr-un studiu observational o rata de supravietuire la 15 ani de aproape 50% post infectie VHD genotipul 1. (Su 2006). In Spania, infectia cu VHD a fost asociata intr-un studiu cu un risc mai crescut de aparitie a cirozei hepatice la pacientii coinfectati cu HIV, risc de 66% in cazul coinfectiei HIV/VHB/VHC/VHD si numai 6% in cazul coinfectiei VHB/VHC/HIV. (Castellares 2008) iar in Taiwan hepatita delta a fost asociata cu o rata scazuta de supravietuire la pacientii infectati HIV (Sheng 2007).

Diagnosticul hepatitei delta

Orice pacient care prezinta AgHBs plasmatic pozitiv trebuie testat macar o data si pentru prezenta anticorpilor anti-VHD, testarea directa a acidului nucleic ARN VHD - in absenta anticorpilor anti-VHD - nefiind considerata utila pentru sustinerea diagnosticului de hepatita D. Totusi, un rezultat pozitiv pentru anticorpii anti-VHD nu indica neaparat o hepatita D activa, deoarece acestia pot persista ani de zile dupa ce infectia VHD s-a vindecat, ARN VHD s-a negativat si chiar dupa disparitia AgHBs (eliminarea infectiei VHB) (Wedemeyer 2007).

Confirmarea unei hepatite delta cu replicare virala activa se realizeaza prin determinarea prezentei in sange a acidului nucleic viral ARN VHD, urmata apoi de evaluarea leziunilor necro-inflamatorii si fibrotice hepatice, a riscului de evolutie spre carcinom hepatocelular si eventual, de indicatia de tratament. Desi unele laboratoare realizeaza teste de determinare cantitativa a ARN VHD, totusi nivelul incarcaturii virale nu a putut fi corelat pana in prezent cu evolutia bolii hepatice (Zachou 2006), ceea ce face ca incarcatura virala sa fie utila strict in indicatia de terapie antivirala. Aceasta se intrerupe in cazul scaderii cu mai putin de 3 log dupa 24 saptamani de tratament cu PEG-IFN α -2b (Erhardt 2006).

Genotiparea VHD, realizata doar in unele laboratoare, poate aprecia riscul de evolutie spre boala hepatica terminala (Su 2006), totusi in tarile vestice majoritatea pacientilor sunt infectati cu genotipul 1 VHD, astfel ca genotiparea este indicata mai frecvent in cazul emigrantilor sau a populatiilor cu prevalenta crescuta a infectiilor cu mai multe genotipuri VHD.

Intre anii 1980 – 1990 diagnosticul de infectie activa VHD s-a bazat eminent pe detectia in sangele pacientului de anticorpi anti-VHD IgM, aceasta determinare putand fi inca utila la pacientii cu incarcature virala ARN VHD nedetectabila, dar care prezinta boala hepatica in evolutie, neexplicabila prin alte cauze evidente. Datorita variabilitatii genomului viral si a lipsei standardizarii metodelor de detectie a acidului nucleic VHD exista posibilitatea aparitiei de rezultate fals negative sau sub limita de detectie in cazurile cu valori fluctuante, ceea ce face necesara repetarea testului molecular asociat cu detectia de anticorpi anti-VHD IgM.

Deoarece hepatita delta apare numai in co/suprainfectie cu hepatita B trebuie realizata concomitent si o buna evaluare a stadiului infectiei VHB, incluzand determinarea incarcaturii virale ADN VHB si detectia antigenului HBe / anticorpilor anti-HBe. In plus este necesara testarea pentru prezenta anticorpilor anti-VHC si anti-HIV, deoarece pana la o treime din pacientii cu anti-VHD pozitivi prezinta si anticorpi anti-VHC.

Tratamentul hepatitei delta

Analogii nucleozidici si nucleotidici

Majoritatea analogilor nucleozidici si nucleotidici utilizati in infectia VHB s-au aratat ineficienti in cazul hepatitei D (tabel 2). Famciclovirul, utilizat in anii '90 pentru tratarea hepatitei B (Wedemeyer 1999), nu a avut actiune antivirala semnificativa impotriva VHD intr-unul dintre studiile realizate in Turcia in anul 2002 (Yurdaydin 2002); in aceeasi situatie se gaseste si lamivudina, de asemenea ineficace in studiile realizate pentru evaluarea terapiei in hepatita delta (Wolters 2000; Niro 2005; Yurdaydin 2008; Lau 1999). Ribavirina, in monoterapie sau in combinatie cu interferonul, nu a determinat nici ea crestere ale ratei clearance-ului infectiei VHD (Niro 2006a; Gunsar 2005; Garripoli 1994). Totusi, este de semnalat un studiu recent asupra unor pacienti coinfectati HBV/VHD/HIV, aflati sub terapie HAART de lunga durata, care a indicat o scadere a incarcaturii virale ARN VHD de la $7 \log_{10}$ la $5.8 \log_{10}$, si chiar o negativare a testelor moleculare la 3 din 16 pacienti dupa o perioada de 6 ani de tratament (Sheldon 2008). De aici se poate deduce ca terapia de lunga durata cu inhibitori ai polimerazei VHB pot aduce beneficii terapeutice in hepatita delta, probabil prin reducerea nivelului antigenului HBs plasmatic, fiind inasa necesare si alte studii de lunga durata pentru a confirma aceasta ipoteza.

O alternativa promitatoare la inhibitorii polimerazei VHB este Clevudinul, un analog nucleozidic inhibitor de reverstrascriptaza virala utilizat in studii clinice pentru terapia infectiei VHB, care pare a inhiba replicarea virala VHD la alte specii (marmote), totusi date referitoare la om nu sunt inca disponibile (Casey 2005).

Analogii nucleoz(t)idici

Famciclovir – ineficient

Yurdaydin et al., J Hepatol 2002

Lamivudina – ineficient

Wolters et al., J Viral Hepatitis 2000; Lau et al., Hepatology 1999; Niro, Aliment Pharmacol Ther. 2005; Niro et al., J Viral Hepatitis 2008

Yurdaydin et al., J Viral Hepatitis 2008;

Ribavirina – ineficace

Garripoli et al., Liver 1994

Niro et al., Hepatology 2008

Gunsar et al., Antiv Therapy 2005

Interferonul alpha

Raspuns virusologic sustinut la 0-36% din pacienti

<p>Studii finalizate relativ putin numeroase Ar putea fi eficient un tratament mai indelungat (>12 luni)</p> <p style="text-align: right;"><i>Farci et al., NEJM 1994</i> <i>Di Marco et al., J Viral Hepatitis 1996</i> <i>Niro et al., J Viral Hepatitis 2008; Yurdaydin et al., J Viral Hepatitis 2008</i></p> <p>Doze crescute de IFN au fost asociate cu rata de supravietuire mai buna in studii restranse <i>Farci et al., Gastroenterology 1994</i></p>
--

Tabel 2. Optiuni terapeutice in hepatita delta.

Interferonul alpha recombinant

Interferonul alpha a fost utilizat in tratamentul hepatitei delta de la mijlocul anilor '80 (Rizzetto 1986), de atunci desfasurandu-se numeroase studii care determinau durata si doza optima de interferon necesare tratamentului infectiei VHD. Totusi, aceste studii sunt dificil de comparat, mai ales datorita inconsecventei in ceea ce priveste detectia regulata a incarcaturii virale VHD (Niro 2005).

Un studiu randomizat realizat in Italia a indicat faptul ca o doza crescuta de interferon este asociata cu evolutia favorabila de lunga durata a pacientilor cu hepatita delta (Farci 1994; Farci 2004), iar alte studii au aratat ca o durata mai mare (doi ani) de terapie este corelata mai frecvent cu eliminarea infectiei (Niro 2005); mai mult, un caz raportat de NIH a indicat vindecarea infectiei duble VHB-VHD dupa un tratament cu interferon prelungit 12 ani (Lau 1999a). Este totusi de mentionat ca, de fapt, doze mari si perioade indelungate de terapie cu interferon nu sunt tolerate decat de o proportie mica de pacienti, reducand astfel posibilitatile de tratament pentru cei mai multi pacienti cu hepatita delta (Manns 2006).

Interferonul alfa pegylat

Studii recente pe grupuri mici de pacienti au indicat obtinerea unui raspuns virusologic sustinut in aprox. 20% dintre cazuri utilizand interferonul pegylat in tratamentul hepatitei delta (Castelnau 2006; Niro 2006; Erhardt 2006) (tabel 3).

<p>Castelnau, Gault et al. Hepatology 2006 14 pacienti, terapie 12 luni cu PegIFNα-2b</p> <p style="text-align: right;">RVS la 6 pacienti (43%)</p>
<p>Niro, Rizzeto et al. Hepatology 2006 38 pacienti, terapie 72 saptamani cu PegIFNα-2b 16 pacienti monoterapie 22 pacienti terapie combinata cu Ribavirina (primele 48 saptamani)</p> <p style="text-align: right;">RVS la 8 pacienti (21%) Ribavirina nu a avut efect suplimentar</p>
<p>Erhardt, Häussinger et al. Liver Int 2006 12 pacienti, terapie 48 saptamani cu PegIFNα-2b</p> <p style="text-align: right;">RVS la 2 pacienti (17%)</p>

Tabel 3. Interferonul pegylat in tratamentul hepatitei delta.

Un studiu randomizat realizat in anul 2004 pe 90 de pacienti cu hepatita cronica delta si boala hepatica compensata (42 pacienti din Germania, 39 din Turcia si 9 din Grecia) - Hep-Net International Delta hepatitis Intervention Trial (HIDIT-1) - a folosit scheme diferite de tratament: fie 180 μ g PEG-IFN α -2a/saptamana plus 10 mg adefovir dipivoxil/zi (grupul A, N = 31), fie 180 μ g PEG-IFN α -2a plus placebo (grupul B, N = 29), sau 10 mg adefovir dipivoxil/ zi in monoterapie (grupul C, N = 30) timp de 48 saptamana. Zece pacienti nu au incheiat cele 48 saptamani de tratament datorita decompensarii hepatice (6 pacienti) sau a reactiilor adverse produse de interferon (4 pacienti). Testarea ADN VHB si ARN VHD prin real-time PCR a indicat faptul ca in saptamana 48 ambele grupuri tratate cu PEG-IFN prezentau scaderi semnificative ale nivelului incarcaturii virale ARN VHD, fata de grupul tratat doar cu adefovir, ARN VHD devenind nedetectabil la 21% dintre pacientii din grupul A, 30% - grup B, si 8% - grup C (PEG-IFN vs. adefovir, p = 0.06). In timp ce pacientii cu monoterapie PEG-IFN α -2a sau adefovir au prezentat niveluri de AgHBs plasmatic similar la saptamana 0 si saptamana 48, cei cu terapie combinata PEG-IFN α -2a plus adefovir au prezentat o scadere cu 1.1 log₁₀ UI/ml a nivelului AgHBs la saptamana 48 (p <0.001), date verificate si de alte studii (Manesis 2007).

Concluziile studiului HIDIT-1 au fost: (i) PEG-IFN α -2a are efect antiviral semnificativ in infectia VHD la mai mult de 40% dintre pacientii studiatii, iar la 25% incarcatura virala ARN VHD devine chiar nedetectabila dupa 48 saptamani de terapie; (ii) adefovir dipivoxil nu pare a fi eficient in infectia VHD, totusi poate fi util la pacienti cu replicare inalta de VHB; (iii) terapia combinata PEG-IFN α -2a plus adefovir nu prezinta avantaje majore in reducerea incarcaturii virale ADN VHB ori ARN VHD fata de monoterapia cu PEG-IFN; (iv) totusi terapia combinata PEG-IFN α -2a plus un analog nucleotidic are avantajul scaderii importante a nivelului AgHBs la pacientii infectati VHB fata de oricare dintre medicamente luate separat (Wedemeyer 2007; Yurdaydin 2006b).

Noi combinatii terapeutice sunt studiate in continuare, de exemplu combinatia PEG-IFN α -2a cu tenofovir in tratamentul hepatitei delta, dar sunt studiate si alte optiuni terapeutice, ca de ex. terapia cu inhibitori ai prenilarii (Bordier 2003), cunoscandu-se faptul ca replicarea VHD depinde de o etapa de prenilare (aditie a unei molecule hidrofobe la o proteina) iar inhibitorii prenilarii au fost deja introdusi in practica clinica oncologica.

Referinte

- Aslan N, Yurdaydin C, Bozkaya H, Baglan P, Bozdayi AM, Tillmann HL et al. Analysis and function of delta-hepatitis virus-specific cellular immune responses. *Journal of Hepatology* 2003; 38:15-16.
- Aslan N, Yurdaydin C, Wiegand J, Greten T, Ciner A, Meyer MF et al. Cytotoxic CD4 T cells in viral hepatitis. *J Viral Hepat* 2006; 13(8):505-514.
- Bordier BB, Ohkanda J, Liu P, Lee SY, Salazar FH, Marion PL et al. In vivo antiviral efficacy of prenylation inhibitors against hepatitis delta virus. *J Clin Invest* 2003; 112(3):407-414.

- Casey J, Cote PJ, Toshkov IA, Chu CK, Gerin JL, Hornbuckle WE et al. Clevudine inhibits hepatitis delta virus viremia: a pilot study of chronically infected woodchucks. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49(10):4396-4399.
- Casey JL, Niro GA, Engle RE, Vega A, Gomez H, McCarthy M et al. Hepatitis B virus (HBV)/hepatitis D virus (HDV) coinfection in outbreaks of acute hepatitis in the Peruvian Amazon basin: the roles of HDV genotype III and HBV genotype F. *J Infect Dis* 1996; 174(5):920-926.
- Castellares C, Barreiro P, Martin-Carbonero L, Labarga P, Vispo ME, Casado R et al. Liver cirrhosis in HIV-infected patients: prevalence, aetiology and clinical outcome. *J Viral Hepat* 2008; 15(3):165-172.
- Castellau C, Le Gal F, Ripault MP, Gordien E, Martinot-Peignoux M, Boyer N et al. Efficacy of peginterferon alpha-2b in chronic hepatitis delta: relevance of quantitative RT-PCR for follow-up. *Hepatology* 2006; 44(3):728-735.
- Dienes HP, Purcell RH, Popper H, Ponzetto A. The significance of infections with two types of viral hepatitis demonstrated by histologic features in chimpanzees. *J Hepatol* 1990; 10(1):77-84.
- Degertekin H, Yalcin K, Yakut M, Yurdaydin C. Seropositivity for delta hepatitis in patients with chronic hepatitis B and liver cirrhosis in Turkey: a meta-analysis. *Liver Int* 2008; 28(4):494-498.
- Erhardt A, Knuth R, Sagir A, Kirschberg O, Heintges T, Haussinger D. Socioepidemiological data on hepatitis delta in a German university clinic--increase in patients from Eastern Europe and the former Soviet Union. *Z Gastroenterol* 2003; 41(6):523-526.
- Erhardt A, Gerlich W, Starke C, Wend U, Donner A, Sagir A et al. Treatment of chronic hepatitis delta with pegylated interferon-alpha2b. *Liver Int* 2006; 26(7):805-810.
- Farci P, Mandas A, Coiana A, Lai ME, Desmet V, Van Eyken P et al. Treatment of chronic hepatitis D with interferon alfa-2a. *N Engl J Med* 1994; 330(2):88-94.
- Farci P. Delta hepatitis: an update. *J Hepatol* 2003; 39 Suppl 1:S212-S219.
- Farci P, Roskams T, Chessa L, Peddis G, Mazzoleni AP, Scioscia R et al. Long-term benefit of interferon alpha therapy of chronic hepatitis D: regression of advanced hepatic fibrosis. *Gastroenterology* 2004; 126(7):1740-1749.
- Fattovich G, Boscaro S, Noventa F, Pornaro E, Stenico D, Alberti A et al. Influence of hepatitis delta virus infection on progression to cirrhosis in chronic hepatitis type B. *J Infect Dis* 1987; 155(5):931-935.
- Fattovich G, Giustina G, Christensen E, Pantalena M, Zagni I, Realdi G et al. Influence of hepatitis delta virus infection on morbidity and mortality in compensated cirrhosis type B. The European Concerted Action on Viral Hepatitis (Eurohep). *Gut* 2000; 46(3):420-426.
- Flodgren E, Bengtsson S, Knutsson M, Strebkova EA, Kidd AH, Alexeyev OA et al. Recent high incidence of fulminant hepatitis in Samara, Russia: molecular analysis of prevailing hepatitis B and D virus strains. *J Clin Microbiol* 2000; 38(9):3311-3316.
- Gaeta GB, Stroffolini T, Chiaramonte M, Ascione T, Stornaiuolo G, Lobello S et al. Chronic hepatitis D: a vanishing disease? An Italian multicenter study. *Hepatology* 2000; 32(4 Pt 1):824-827.
- Garripoli A, Di M, V, Cozzolongo R, Costa C, Smedile A, Fabiano A et al. Ribavirin treatment for chronic hepatitis D: a pilot study. *Liver* 1994; 14(3):154-157.
- Gunsar F, Akarca US, Ersoz G, Kobak AC, Karasu Z, Yuce G et al. Two-year interferon therapy with or without ribavirin in chronic delta hepatitis. *Antivir Ther* 2005; 10(6):721-726.
- Hadziyannis SJ. Review: hepatitis delta. *J Gastroenterol Hepatol* 1997; 12(4):289-298.

- Hershow RC, Chomel BB, Graham DR, Schyve PM, Mandel EJ, Kane MA et al. Hepatitis D virus infection in Illinois state facilities for the developmentally disabled. *Epidemiology and clinical manifestations*. *Ann Intern Med* 1989; 110(10):779-785.
- Huang YH, Tao MH, Hu CP, Syu WJ, Wu JC. Identification of novel HLA-A*0201-restricted CD8+ T-cell epitopes on hepatitis delta virus. *J Gen Virol* 2004; 85(Pt 10):3089-3098.
- Jardi R, Rodriguez F, Buti M, Costa X, Cotrina M, Galimany R et al. Role of hepatitis B, C, and D viruses in dual and triple infection: influence of viral genotypes and hepatitis B pre-core and basal core promoter mutations on viral replicative interference. *Hepatology* 2001; 34(2):404-410.
- Lau DT (a), Kleiner DE, Park Y, Di Bisceglie AM, Hoofnagle JH. Resolution of chronic delta hepatitis after 12 years of interferon alfa therapy. *Gastroenterology* 1999; 117(5):1229-1233.
- Lau DT (b), Doo E, Park Y, Kleiner DE, Schmid P, Kuhns MC et al. Lamivudine for chronic delta hepatitis. *Hepatology* 1999; 30(2):546-549.
- Manns MP, Wedemeyer H, Cornberg M. Treating viral hepatitis C: efficacy, side effects, and complications. *Gut* 2006; 55(9):1350-1359.
- Manesis EK, Schina M, Le Gal F, Agelopoulos O, Papaioannou C, Kalligeros C et al. Quantitative analysis of hepatitis D virus RNA and hepatitis B surface antigen serum levels in chronic delta hepatitis improves treatment monitoring. *Antivir Ther* 2007; 12(3):381-388.
- Nakano T, Shapiro CN, Hadler SC, Casey JL, Mizokami M, Orito E et al. Characterization of hepatitis D virus genotype III among Yucpa Indians in Venezuela. *J Gen Virol* 2001; 82(Pt 9):2183-2189.
- Niro GA, Casey JL, Gravinese E, Garrubba M, Conoscitore P, Sagnelli E et al. Intrafamilial transmission of hepatitis delta virus: molecular evidence. *J Hepatol* 1999; 30(4):564-569.
- Niro GA, Rosina F, Rizzetto M. Treatment of hepatitis D. *J Viral Hepat* 2005; 12(1):2-9.
- Niro GA (a), Ciancio A, Tillman HL, Lagget M, Olivero A, Perri F et al. Lamivudine therapy in chronic delta hepatitis: a multicentre randomized-controlled pilot study. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22(3):227-232.
- Niro GA, Ciancio A, Gaeta GB, Smedile A, Marrone A, Olivero A et al. Pegylated interferon alpha-2b as monotherapy or in combination with ribavirin in chronic hepatitis delta. *Hepatology* 2006; 44(3):713-720.
- Nisini R, Paroli M, Accapezzato D, Bonino F, Rosina F, Santantonio T et al. Human CD4+ T-cell response to hepatitis delta virus: identification of multiple epitopes and characterization of T-helper cytokine profiles. *J Virol* 1997; 71(3):2241-2251.
- Radjef N, Gordien E, Ivaniushina V, Gault E, Anais P, Drugan T et al. Molecular phylogenetic analyses indicate a wide and ancient radiation of African hepatitis delta virus, suggesting a deltavirus genus of at least seven major clades. *J Virol* 2004; 78(5):2537-2544.
- Raimondo G, Brunetto MR, Pontisso P, Smedile A, Maina AM, Saitta C et al. Longitudinal evaluation reveals a complex spectrum of virological profiles in hepatitis B virus/hepatitis C virus-coinfected patients. *Hepatology* 2006; 43(1):100-107.
- Rizzetto M. The delta agent. *Hepatology* 1983; 3(5):729-737.
- Rizzetto M, Rosina F, Saracco G, Bellando PC, Actis GC, Bonino F et al. Treatment of chronic delta hepatitis with alpha-2 recombinant interferon. *J Hepatol* 1986; 3 Suppl 2:S229-S233.
- Rizzetto M. Hepatitis D: virology, clinical and epidemiological aspects. *Acta Gastroenterol Belg* 2000; 63(2):221-224.

- Sagnelli E, Coppola N, Scolastico C, Filippini P, Santantonio T, Stroffolini T et al. Virologic and clinical expressions of reciprocal inhibitory effect of hepatitis B, C, and delta viruses in patients with chronic hepatitis. *Hepatology* 2000; 32(5):1106-1110.
- Sheldon J, Ramos B, Toro C, Rios P, Martinez-Alarcon J, Bottecchia M et al. Does treatment of hepatitis B virus (HBV) infection reduce hepatitis delta virus (HDV) replication in HIV-HBV-HDV-coinfected patients? *Antivir Ther* 2008; 13(1):97-102.
- Sheng WH, Hung CC, Kao JH, Chang SY, Chen MY, Hsieh SM et al. Impact of hepatitis D virus infection on the long-term outcomes of patients with hepatitis B virus and HIV coinfection in the era of highly active antiretroviral therapy: a matched cohort study. *Clin Infect Dis* 2007; 44(7):988-995.
- Su CW, Huang YH, Huo TI, Shih HH, Sheen IJ, Chen SW et al. Genotypes and viremia of hepatitis B and D viruses are associated with outcomes of chronic hepatitis D patients. *Gastroenterology* 2006; 130(6):1625-1635.
- Taylor JM. Hepatitis delta virus. *Virology* 2006; 344(1):71-76.
- Tsatsralt-Od B, Takahashi M, Nishizawa T, Endo K, Inoue J, Okamoto H. High prevalence of dual or triple infection of hepatitis B, C, and delta viruses among patients with chronic liver disease in Mongolia. *J Med Virol* 2005; 77(4):491-499.
- Tsatsralt-Od B, Takahashi M, Endo K, Buyankhuu O, Baatarkhuu O, Nishizawa T et al. Infection with hepatitis A, B, C, and delta viruses among patients with acute hepatitis in Mongolia. *J Med Virol* 2006; 78(5):542-550.
- Troisi CL, Hollinger FB, Hoots WK, Contant C, Gill J, Ragni M et al. A multicenter study of viral hepatitis in a United States hemophilic population. *Blood* 1993; 81(2):412-418.
- Uzunalioglu O, Yurdaydin C, Cetinkaya H, Bozkaya H, Sahin T, Colakoglu S et al. Risk factors for hepatocellular carcinoma in Turkey. *Dig Dis Sci* 2001; 46(5):1022-1028.
- Wedemeyer H, Boker KH, Pethig K, Petzold DR, Flemming P, Tillmann HL et al. Famciclovir treatment of chronic hepatitis B in heart transplant recipients: a prospective trial. *Transplantation* 1999; 68(10):1503-1511.
- Wedemeyer H, Tillmann HL, Tegtmeyer B, Cornberg M, Schuler A, Liermann H et al. Infection with multiple hepatitis viruses: Evidence for suppression of HCV replication by HDV and HBV. *Hepatology* 2001; 34(4):223A.
- Wedemeyer H., Yurdaydin C. Delta Hepatitis. In: Tillman HL, editor. *Handbuch Hepatitis B: Diagnostik, Verlauf, Therapie*. Bremen: Uni-Med, 2007: 96-103.
- Wedemeyer H, Yurdaydin C, Dalekos G, Erhardt A, Cakaloglu Y, Degertekin H et al. 72 week data of the HIDIT-1 trial: A multicenter randomised study comparing peginterferon alpha-2a plus adefovir vs. peginterferon alpha-2a plus placebo vs. adefovir in chronic delta hepatitis. *Journal of Hepatology* 2007; 46:S4.
- Wedemeyer H, Heidrich B, Manns MP. Hepatitis D virus infection - Not a vanishing disease in Europe! *Hepatology* 2007; 45(5):1331-1332.
- Wedemeyer H, Ciner A, Yurdaydin C, Zachou K, Aslan N, Meyer S et al. Differential cytokine pattern of HDV-specific cellular immune responses distinguishes treatment responder and nonresponder to peg-IFN alpha-2a treatment: Results from the HEP-NET/international HIDIT-1 study. *Journal of Hepatology* 2007; 46:S13-S14.
- Weisfuse IB, Hadler SC, Fields HA, Alter MJ, O'Malley PM, Judson FN et al. Delta hepatitis in homosexual men in the United States. *Hepatology* 1989; 9(6):872-874.
- Wolters LM, van Nunen AB, Honkoop P, Vossen AC, Niesters HG, Zondervan PE et al. Lamivudine-high dose interferon combination therapy for chronic hepatitis B patients co-infected with the hepatitis D virus. *J Viral Hepat* 2000; 7(6):428-434.
- Yurdaydin C, Bozkaya H, Gurel S, Tillmann HL, Aslan N, Okcu-Heper A et al. Famciclovir treatment of chronic delta hepatitis. *J Hepatol* 2002; 37(2):266-271.
- Yurdaydin C. Delta hepatitis in Turkey: decreasing but not vanishing and still of concern. *Turk J Gastroenterol* 2006; 17(1):74-75.

- Yurdaydin C (a), Wedemeyer H, Dalekos G, Erhardt A, Cakaloglu Y, Degertekin H et al. A multicenter randomised study comparing the efficacy of pegylated interferon-alfa-2a plus adefovir dipivoxil vs. pegylated interferon-alfa-2a plus placebo vs. adefovir dipivoxil for the treatment of chronic delta hepatitis: The hep-net/international delta hepatitis intervention trial (HID-IT). *Hepatology* 2006; 44(4):230A.
- Yurdaydin C (b), Bozkaya H, Onder FO, Senturk H, Karaaslan H, Akdogan M et al. Treatment of chronic delta hepatitis with lamivudine vs lamivudine + interferon vs interferon. *J Viral Hepat* 2008; 15(4):314-321.
- Zachou K, Yurdaydin C, Dienes HR, Dalekos GN, Erhardt A, Cakaloglu Y et al. Significance of HDV-RNA and HBsAg levels in delta hepatitis: First data of the HEP-NET/International HDV Intervention Trial. *Journal of Hepatology* 2006; 44:S178.

Partea 3

Hepatita C

Capitolul 12: Hepatita C acuta si cronica – Teste de diagnostic

Christian Lange and Christoph Sarrazin

Introducere

Simptomatologia obisnuita pentru hepatita C acuta, care include oboseala, dureri musculare, inapetenta si greata, este pleomorfa si este adeseori atenuata pana la absenta, diagnosticul fiind de cele mai multe ori intamplator. In consecinta infectia VHC este frecvent subdiagnosticata si se considera ca doar un sfert dintre pacientii infectati isi cunosc diagnosticul, restul neputand sa beneficieze de terapie si reprezenta o sursa continua de transmitere a infectiei (McHutchison 2004). Hepatita C netratata evolueaza spre cronicizare in pana la 80% dintre cazuri, dintre acestea 20-40% evoluand spre ciroza hepatica, cu risc crescut de decompensare, carcinom hepatocelular si deces de cauza hepatica (McHutchison 2004). Din aceste considerente, diagnosticul de infectie VHC trebuie realizat la orice pacient care se prezinta cu niveluri crescute ale transaminazelor serice sau boala hepatica cronica de etiologie neprecizata asociate cu factori de risc ai trasmiterii VHC in antecedente.

Diagnosticul infectiei VHC se bazeaza pe teste serologice - de detectie a anticorpiilor anti-VHC si teste moleculare - de detectie a acidului nucleic viral ARN VHC (Scott 2007). Testele serologice utilizate la ora actuala, de generatia a 3^a, au sensibilitate peste 99%, totusi aparitia unui rezultat pozitiv la acest tip de test necesita realizarea unui test molecular ulterior, pentru a diferentia intre o hepatita cronica C si o infectie VHC veche vindecata. Testul molecular este considerat obligatoriu si pentru sustinerea unui diagnostic de hepatita acuta C, stiind ca seroconversia apare tardiv in infectia VHC de aceea in cazul unei infectii acute testele serologice pot da rezultate negative, in timp ce acidul nucleic viral ARN VHC este un marker timpuriu de infectie, putand fi detectat la cateva zile de la contactul infectant. Determinarea incarcaturii virale ARN VHC este in plus necesara in evaluarea indicatiei, duratei si prognosticului terapiei (Terrault 2005). Se determina incarcatura virala la intervale regulate pe tot parcursul tratamentului pentru elaborarea indicatiei de continuare a tratamentului, si la 24 de saptamani dupa incheierea tratamentului in scopul aprecierii raspunsului virusologic sustinut (RVS). Testele moleculare folosite pentru diagnosticul infectiei VHC sunt teste calitative si teste cantitative. Testele calitative au sensibilitate inalta si sunt indicate in diagnosticul initial de hepatita C, pentru aprecierea RVS si pentru screeningul transfuziilor de sange sau a transplantului de organe. Testele cantitative determina numarul de copii ARN VHC per ml plasma, dand valori intre limite de detectie foarte largi si sunt utilizate in monitorizarea terapiei antivirale. Toate aceste teste moleculare tind sa fie inlocuite de metode ce au la baza tehnica real-time PCR, cu plaja foarte mare de valori, intre 10 UI/ml si 10 milioane UI/ml.

Urmatorul pas in diagnostic, mai ales la pacientii cu indicatie de terapie antivirala, este genotiparea, deoarece atat durata terapiei, cat si doza de Ribavirina utilizata in combinatia terapeutica sunt dependente de genotipul VHC implicat in infectie.

Metodele morfologice de tip imunohistochimie, hibridizare in-situ sau PCR realizat pe piese anatomice provenite din punctia hepatica sunt utilizate doar ca teste complementare datorita sensibilitatii si specificitatii reduse fata de testele serologice sau moleculare prezentate anterior.

Tehnicile serologice

Testele serologice utilizate curent au la baza tehnici imunoenzimaticice de tip ELISA (enzyme-linked immunoassay) de generatia a 2^a si a 3^a, in care anticorpul anti-VHC din plasma pacientului sunt legati de proteine VHC recombinante peliculizate pe suportul solid si apoi sunt detectati cu ajutorul unor anticorpi secundari anti-IgG sau anti-IgM, marcati enzimatic. Enzima din componenta conjugatului va reactiona cu un substrat dand nastere unui compus colorat, intensitatea culorii - masurata spectrofotometric - fiind direct proportionala cu cantitatea de anticorpi din proba testata.

Prima generatie de teste ELISA utilizate pentru detectia anticorpilor anti-VHC a folosit epitopi derivati din proteina non-structurala NS4 (C-100), avea o sensibilitate de 70–80% si specificitate slaba (Scott 2007), cu atat mai mult cu cat anticorpul specific anti C-100 apar tarziu, la aproximativ 16 saptamani dupa contactul infectant. Generatia a 2^a de teste ELISA detecteaza, incepand din saptamana a 10 post-infectare (Pawlotsky 2003), prezenta de anticorpi indreptati impotriva mai multor proteine virale structurale si nonstructurale: core (C-22), NS3 (C-33) si NS4 (C-100), ceea ce a condus la cresterea sensibilitatii la aprox. 95% si la scaderea ratei de rezultate fals-pozitive. Pentru scurtarea ferestrei serologice, in testele ELISA de generatia a 3^a s-a introdus un nou antigen (NS5) si s-a adaugat un epitop inalt antigenic din zona NS3. Fereastra serologica s-a scurtat la 4-6 saptamani, iar sensibilitatea testelor ELISA de generatia a 3^a a crescut la peste 99% (Colin 2001), dar specificitatea pare usor mai mica decat a testelor de generatie a 2^a. Detectia anticorpilor anti-VHC-IgM nu reuseste sa scada intervalul de fereastra serologic-negativa decat intr-o proportie foarte scazuta din cazuri, acestia neputand de altfel diferentia intre o infectie acuta si una cronica VHC, deoarece pe de o parte unii pacienti cu hepatita cronica pot prezenta intermitent anticorpi anti-VHC-IgM detectabili in plasma si, de cealalta parte, nu toti pacientii cu hepatita acuta C prezinta in sange acest marker de infectie recenta.

Specificitatea testelor de diagnostic serologic pentru infectia VHC este in general greu de evaluat deoarece nu exista un test considerat “standard de aur”, reactii fals-pozitive aparand in numar mare la anumite categorii – pacientii cu tulburari imunologice (de ex. prezenta de factor reumatoid) si cei din populatii cu prevalenta scazuta a infectiei VHC, ca donatorii de sange si de organ. Confirmarea testelor ELISA pozitive s-a realizat cu teste de tip imunoblot, dar in practica clinica acestea au fost inlocuite cu teste cu specificitate mai mare, cum sunt testele moleculare. Testele imunoblot sunt indicate strict pentru eliminarea rezultatelor fals pozitive pe care le pot da testele ELISA, dar trebuie subliniat ca sensibilitatea testelor imunoblot este mai mica decat cea a testelor ELISA, ceea ce implica riscul aparitiei unor reactii fals negative.

Rezultate fals negative in testele pentru detectia anticorpilor anti-VHC pot aparea la pacienti hemodializati sau cu imunosupresii severe, ca pacientii infectati HIV sau cu neoplazii hematologice.

Tehnicile moleculare de detectie a ARN VHC

Pana in anul 1997 rezultatele testelor moleculare cantitative VHC nu au avut o unitate de masura comuna care sa permita compararea diferitelor tehnici utilizate, astfel ca luand in considerare importanta uniformizarii rezultatelor incarcaturii virale pentru managementul terapiei antivirale, Organizatia Mondiala a Sanatatii (OMS) a stabilit un standard international de exprimare a incarcaturii virale ARN VHC sub forma Unitatii Internationale (UI/ml). Alte dezavantaje ale testelor moleculare mai vechi erau reprezentate de aparitia rezultatelor fals-negative (datorate inhibitei ADN-polimerazei prin interferenta medicamentoasa) sau a rezultatelor fals-pozitive, fie prin contaminare (tehnica implica manipularea frecventa a tuburilor de reactie), fie datorita supra- sau subdozarii incarcaturii virale in cazul anumitor genotipuri in defavoarea altora (Pawlotsky 2003; Morishima 2004). Tehnicile utilizate la ora actuala pentru detectia calitativa si cantitativa a ARN VHC sunt listate in tabelul 1.

Denumirea testului	Distribuitor	Tehnica	Aprobat
Tehnici de detectie calitativa a ARN VHC			
Amplicor™ HCV 2.0	Roche Molecular systems	PCR	FDA, CE
Versant™ HCV	Siemens Medical Solutions Diagnostics	TMA	FDA, CE
Tehnici de detectie cantitativa a ARN VHC			
Amplicor™ HCV Monitor 2.0	Roche Molecular Systems	PCR	CE
HCV-SuperQuant™	National Genetics Institute	PCR	/
Versant™ HCV-RNA 3.0	Siemens Medical Solutions Diagnostics	bDNA	FDA, CE
Cobas Ampliprep™/Cobas TaqMan™	Roche Molecular Systems	real-time PCR	FDA, CE
RealTime HCV	Abbott Diagnostics	real-time PCR	CE

Tabel 1. Teste comerciale pentru detectia ARN VHC.

Tehnici de detectie calitativa a ARN VHC

Testele moleculare calitative aveau pana de curand limita de detectie minima mai buna si cost mai redus decat ale celor cantitative, astfel ca erau preferate in diagnosticul initial al hepatitei C acute, cu atat mai mult cu cat concentratia de acid nucleic viral este fluctuanta; de asemenea, sunt utile in confirmarea unei hepatite C cronice la pacientii care prezinta un test serologic pozitiv. In plus, testele moleculare calita-

tive pot fi folosite pentru confirmarea obtinerii raspunsului virusologic – negativarea viremiei - in timpul, la finele si dupa terapia antivirala, ca si pentru screeningul sangelui transfuzat sau al donatorilor de organe pentru prezenta infectiei VHC.

RT-PCR calitativ

In reactia de amplificare genica precedata de reverstranscriere (RT-PCR) ARN VHC serveste initial ca matrita pentru sinteza unei catene de ADN complementar simplu spiralat (reverstranscrierea), urmand ca apoi acest ADNc sa fie amplificat cu ajutorul unei ADN polimeraze, formand un numar mare de secvente ADN identice intre ele si cu secventa tinta. Pentru tehnica RT-PCR calitativa limita minima de detectie este aproximativ 50 UI /ml, cu o sensibilitatea echivalenta pentru toate genotipurile VHC.

Amplicor™ VHC 2.0 (Roche Molecular Systems, USA) este un test aprobat atat de FDA, cat si de CE care are la baza tehnica RT-PCR calitativa si are limita de detectie minima sub 50 UI /ml pentru toate genotipurile VHC (Nolte 2001) (tabel 1). In reactie se utilizeaza enzima *Thermus thermophilus*, cu activitate atat de polimeraza cat si de reverstranscriptaza, permitand in acest fel realizarea mai multor etape intr-un singur recipient de reactie, scazand astfel posibilitatea de contaminare.

Tehnica TMA

TMA calitativa (reactia de amplificare genica mediata de transcriere) pentru detectia ARN VHC este o tehnica cu sensibilitate extrem de inalta (Sarrazin 2002; Hendricks 2003) si cuprinde trei etape: captarea secventei tinta, amplificarea tinte si detectia ampliconului prin hibridizare specifica cu sonde moleculare marcate complementare ampliconului. In reactie se utilizeaza doi primeri (unul continand un promotor pentru ARN polimeraza - T7) si doua enzime: ARN polimeraza si reverstranscriptaza. Dupa extractia ARNului din 500µl ser, primerul ce contine promotorul T7 se leaga la secventa ARN tinta pe care, sub actiunea reverstranscriptazei, il copiaza sub forma ADN complementar. Reverstranscriptaza din reactie are si activitate RNazica, ceea ce determina degradarea catenei ARN din hibridul ARN/ADN format. Al doilea primer se leaga apoi de catena ADNc care contine deja secventa promotor T7 de la primul primer si se sintetizeaza un lant dublu catenar ADN/ADN sub actiunea reverstranscriptazei, apoi ARN polimeraza recunoaste secventa promotor T7 producandu-se transcripte ARN la scara 100/1000, care reintra continuu in reactia TMA, rezultand o amplificare exponentiala a secventei ARN tinta, intr-o ora producandu-se aproximativ 10 miliarde de copii ARN VHC. Detectia ampliconului se realizeaza prin chemiluminiscenta, producandu-se o reactie de hibridizare cu sonde moleculare ADN marcate, in timp ce sondele nehibridizate sunt degradate intr-o etapa selectiva suplimentara.

Trusa comerciala bazata pe tehnica TMA utilizata in prezent este Versant™ VHC ARN Qualitative Assay (fost Bayer, actual Siemens Medical Solutions Diagnostics, Germania), este aprobata de FDA si CE si prezinta o sensibilitate superioara testelor moleculare calitative bazate pe RT-PCR (Sarrazin 2000; Sarrazin 2001; Hofmann 2005). Limita minima de detectie a testului este 5-10 UI /ml, cu o sensibilitate de 96-100% si o specificitate mai mare de 99,5% - indiferent de genotipul viral VHC.

Teste moleculare cantitative

Determinarea cantitativa a ARN VHC se poate realiza cu ajutorul a doua tipuri de tehnici moleculare: tehnici care au la baza amplificarea tinte (PCR competitiv si real-time PCR) sau tehnici ce au la baza amplificarea semnalului – tehnica ADN ramificat - branched DNA assay (bDNA) (tabel 1). Exista cateva kituri comerciale utilizate de rutina, care au primit aprobarea FDA si CE: Cobas Amplicor™ HCV Monitor (Roche Diagnostics) se bazeaza pe tehnica PCR competitiv, iar Versant™ RNA HCV Assay (Siemens Medical Solutions Diagnostics) foloseste tehnica bDNA. De curand au fost introduse in practica curenta testele comerciale Cobas TaqMan si Abbott RealTime HCV, ambele bazate pe tehnica real-time PCR care, datorita limitei inferioare scazute de detectie a ARNului viral si a spectrului larg intre care valorile sunt liniare, tind sa inlocuiasca testele calitative si cantitative utilizate anterior.

PCR competitiv: Cobas Amplicor™ VHC-Monitor 2.0 (Roche Diagnostics)

Testul Cobas Amplicor™ HCV-Monitor 2.0 este un test semi-automat de cuantificare a ARNului viral, a carui tehnica are la baza amplificarea simultana, in acelasi tub de reactie, a doua matrite ARN: secventa tinta si standardul intern – o secventa ARN control cu structura asemanatoare cu cea a secventei tinta si concentratie initiala bine determinata, care este amplificat in aceleasi conditii de reactie ca si tinta. Compararea finala a celor doua cantitati de acid nucleic (tinta si standardul intern) permite calcularea cantitatii de ARN VHC aflat in proba initiala, testul Amplicor™ HCV-Monitor versiunea 2.0 avand plaja de valori liniare cuprinsa intre 600 si 500.000 UI/ml, cu specificitate de aproape 100%, independent de genotipul VHC implicat (Lee 2000; Konnick 2002). Pentru incarcaturi virale mai mari de 500.000 UI ARN VHC /ml, este necesara o etapa de pre-dilutie in vederea obtinerii unei valori exacte initiale.

Tehnica branched DNA (Versant™ HCV RNA Assay 3.0, Siemens)

Tehnica ADN ramificat se bazeaza pe amplificarea semnalului (nu a tinte), implicand intr-o prima etapa reverstranscrierea ARN VHC, obtinandu-se o catena complementara ADNc, care este captata de sonde moleculare complementare unor secvente conservate din genomul VHC, peliculizate pe suport solid. In a doua etapa, numeroase secvente oligonucleotidice se leaga de capetele libere ale ADNc si sunt hibridizate ulterior de sonde moleculare complementare, marcate cu fosfatata alcalina, ce va fi detectata in final prin legarea de un substrat chemiluminiscent (Sarrazin 2002).

Versant™ HCV RNA este singurul kit comercial de cuantificare a incarcaturii virale VHC aprobat de FDA si CE care are la baza tehnica bDNA; limita inferioara de detectie a versiunii 3.0 este 615 UI/ml si da o plaja liniara de valori pana la 8.000.000 UI/ml, independent de genotipul VHC (Morishima 2004; Ross 2002). Avantajul major al acestei metode este acela ca necesarul de plasma pentru

realizarea reactiei este cel mai mic dintre toate tehnicile moleculare de detectie a acidului nucleic plasmatic ARN VHC (50 μ l).

Detectia ARN VHC prin tehnica real-time PCR

Tehnica real-time PCR este indicata atat in detectia calitativa, cat si cea cantitativa a ARN VHC datorita limitei inferioare mici de detectie si a spectrului larg de determinare liniara a valorilor incarcaturii virale (Sarrazin 2006) (figura 1). Caracteristica distinctiva a tehnicii este capacitatea de a realiza simultan amplificarea si detectia acidului nucleic, permitand astfel monitorizarea continua a reactiei PCR (Higuchi 1992), care se desfasoara clasic: dupa reverstranscrierea ARNului tinta intr-o catena ADN complementara, aceasta este amplificata sub actiunea ADN polimerazei din reactie.

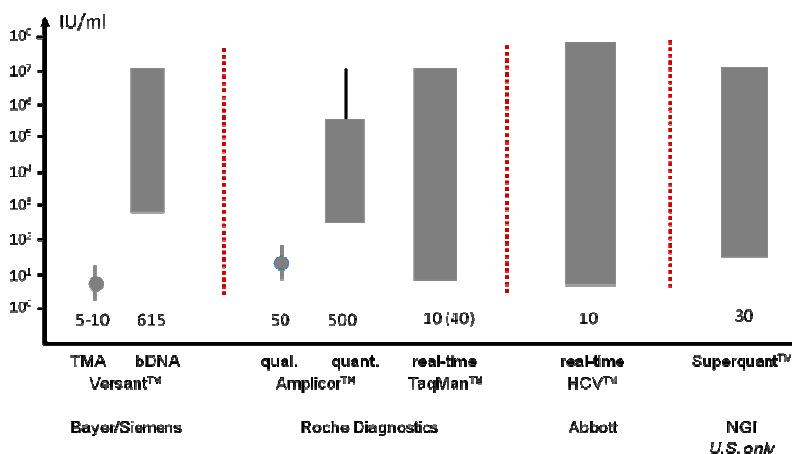


Figura 1. Limite de detectie si plaje liniare de valori ale testelor comerciale utilizate in detectia ARN VHC.

Detectarea ADNc simultan cu amplificarea sa este realizata prin utilizarea unor sonde moleculare legate cu doua tipuri de molecule-semnal: o molecula fluorescenta ("reporter") si una de intarziere ("quenching"). Sondele moleculare leaga ADNc intre cei doi primeri PCR si sunt degradate si eliberate de catre ADN-polimeraza in timpul sintezei ADN. In cazul degradarii, molecula reporter si cea de intarziere sunt separate una de alta, rezultand o emisie inalta de fluorescenta, existand diferite variatii de la acest principiu in diversele tehnici comerciale utilizate in practica. Semnalul fluorescent emis creste cu fiecare ciclu de amplificare proportional cu cantitatea de ARN din proba initiala, cuantificarea ARNului viral realizandu-se prin compararea cineticii amplificarii secventei tinta cu cea a unui standard intern de concentratie cunoscuta la inceputul reactiei.

Pana in prezent exista doua kituri aproape complet automatizate de detectie a ARN VHC care au la baza tehnica real-time PCR, unul introdus de Roche Molecular

Systems (USA), iar celalt de Abbott Laboratories (USA), fiind in curs de introducere si un al treilea, produs de Siemens Diagnostics in anul 2009.

Toate testele comerciale de detectie ARN VHC existente sunt calibrate dupa standardul OMS bazat pe genotipul 1 al VHC, putand astfel aparea diferente semnificative intre metode cand sunt implicate alte genotipuri decat genotipul 1 (Chevaliez 2007; Vehrmeren 2008), cu tendinta la usoara subdozare pentru testul realizat de Abbott Laboratories (Real-time HCV) si usoara supradozare in cazul testului de la Roche Molecular Systems (Cobas TaqMan).

Cobas TaqMan HCV Test (Roche Diagnostics)

Testul Cobas TaqMan (CTM) utilizeaza sonde moleculare complementare regiunii 5'UTR a genomului VHC si a unui standard intern - un ARN sintetic asemanator genomului VHC. Reverstranscrierea si amplificarea ADNc este realizata de ADN polimeraza Z05, iar pentru extractia ARNului viral din ser sau plasma s-a realizat o tehnica de extractie Cobas TaqMan folosind particule magnetice - in cazul aparatului automat Cobas Ampliprep (CAP) sau folosind coloane de fibra de sticla si kitul high pure system (HPS) viral nucleic acid - in cazul metodei manuale. Versiunea actuala a testului are limita inferioara de detectie de aproximativ 10 UI/ml si plaja de valori liniare intre 40 si 10.000.000 UI/ml, totusi, asa cum am mentionat anterior, testul de generatia intai HPS Cobas TaqMan are tendinta de a subdoza cantitatea de acid nucleic al genotipurilor 2-5 VHC, problema ce pare rezolvata odata cu aparitia versiunii a2^a a acestuia (Colluci 2007). Pentru varianta Cobas Ampliprep TaqMan (CAP/CTM) singura subdozare semnificativa a putut fi observata pentru genotipul 4 VHC (Konnick 2005; Gelderblom 2006; Colucci 2007; Sizmann 2007; Vermehren 2008), dar versiunea a 2^a a acestuia, care pare sa rezolve acest dezavantaj, este in curs aparitiei. Luat insa per total, testul CAP/CTM Cobas TaqMan este un test automat cu performante excelente, atat in ceea ce priveste detectia calitativa sensibilă la ARN VHC, cat si cuantificarea cu plaja larga de valori liniare a acidului nucleic viral al VHC (singura exceptie fiind genotipul 4, semnalat anterior).

Testul RealTime HCV (Abbott, USA)

Testul Abbott RealTime HCV, aprobat doar de CE, utilizeaza, de asemenea, sonde moleculare fluorescente ("reporter") si de intarziere ("quenching") complementare regiunii 5'UTR a genomului VHC. Detectia cantitatii de acid nucleic ARN VHC este realizata folosind comparativ curba de amplificatare a unui standard intern provenit din gena hidroxipiruvatreductazei vegetale (*Curcubita pepo*). Amplificarea standardului intern se realizeaza cu primeri diferiti de cei pentru catena ARN tinta, ceea ce determina o plaja de valori liniare extrem de larga pentru testul Abbott RealTime HCV - intre 12 – 10.000.000 UI/ml - si limita minima de detectie foarte scazuta - 12 UI/ml, cu specificitate de peste 99.5%, independent de genotipul VHC implicat (Michelin 2007; Sabato 2007; Schutten 2007; Vermehren 2008).

Genotiparea VHC

Heterogenitatea marcata a VHC se datoreaza in principal variabilitatii virusului, dezvoltata ca urmare a productiei inalte de virioni (10^{12} virioni/zi) asociate cu

fidelitatea scazuta de incorporare a nucleotidelor, caracteristica polimerazei VHC. Pana in prezent au fost descrise sase genotipuri virale VHC (1-6), multiple subtipururi (a, b, c...), genotipururile variind cu cel putin 30% in secventa nucleotidica (valoarea mediana 33%), iar subtipururile diferentiindu-se prin mai putin de 30% (10 - 29%) din secventa nucleotidica. In cadrul subtipururilor se descriu quasispeciile, sintetizate sub actiunea diferitelor presori (de ex. terapeutic) si care sunt definite ca avand diferente in secventa nucleotidica mai mici de 10% (Simmonds 2005). Atat durata terapiei, cat si doza de Ribavirina utilizate in tratamentul infectiei VHC variaza in functie de genotipul viral implicat, astfel ca genotiparea a devenit o testare obligatoriu de efectuat pentru orice pacient cu indicatie de tratament (Bowden 2006).

Tehnicile de genotipare VHC utilizate la ora actuala implica fie secventierea nucleotidica, fie hibridizarea inversa cu sonde moleculare fixate pe membrana de nitroceluloza (line probe assay – LiPA), teste care initial determinau secventa nucleotidica a regiunii genomice 5' non-codante a VHC (5'UTR), din care cauza implicau un anumit grad de neconcordanta, mai ales la nivel de subtip. Testele actuale sunt aditionate cu sonde moleculare care detecteaza si alte regiuni genomice VHC (zonele care codifica proteina non-structurala - NS5B si proteina structurala – core) ceea ce permit diferentierea concludenta intre genotipurile si subtipururile virusului hepatitic C (Bowden 2006).

Genotiparea prin tehnica de hibridizare inversa (Versant™ HCV Genotype 2.0 (LiPA), Siemens Medical Solutions Diagnostics)

Aceasta metoda implica ampliconii biotinilati hibridizati de catre sondele moleculare complementare diferitelor genotipuri si subtipururi virale, aflate imobilizate pe stripuri de nitroceluloza. Dupa indepartarea ADN nelegat printr-o etapa de spalare, fragmentele de ADNc biotinilate fixate sunt detectate printr-o reactie de culoare. Testul comercial Versant™ HCV Genotype 2.0 (Siemens Medical Solutions Diagnostics) este utilizat frecvent pentru identificarea genotipurilor VHC 1 - 6 si a mai mult de 15 subtipururi virale, deoarece poate analiza simultan structura nucleotidica a regiunilor 5'UTR si core, in acest fel putand discrimina cu inalta specificitate subtipururile derivate din genotipul 1 al VHC. Un studiu recent care evalua specificitatea testului Versant™ HCV Genotype 2.0, a indicat faptul ca 96.8% dintre probele de genotip 1, si 64.7% din totalul probelor – indiferent de genotip, au fost identificate corect la nivel de subtip, neaparand nici o incadrare eronata legata de genotip, singurele anomalii - corelate subtipururilor - aparand mai ales in cazul genotipurilor 2 sau 4. De semnalat faptul ca nici una dintre anomaliiile de incadrare nu au implicatii clinice, ceea ce face ca testul Versant™ HCV Genotype 2.0 sa fie util in practica, pentru luarea deciziilor terapeutice si clinice (Bouchardeau 2007).

Secventierea nucleotidica (TRUGENE® HCV 5'NC Genotyping Kit, Siemens)

Genotiparea prin metoda Trugene implica analiza directa a secventei nucleotidice din regiunea 5'UTR a genomului viral VHC, ceea ce elimina incadrarea incorecta a

genotipurilor, totusi acuratetea nu este totala deoarece testul determina doar secventa nucleotidica a zonei 5'UTR din genomul VHC, lasand nedectate alte regiuni genomice. Din acesta cauza este in curs de realizare un test nou, TRUGENE® NS5B HCV, care analizeaza in plus si secventa nucleotidica din regiunea NS5B (Pawlotsky 2003).

Diagnosticul infectiei VHC acute si cronice

Diagnosticul hepatitei C acute

In cazul unui diagnostic prezumtiv de hepatita C acuta trebuie sa se determine simultan prezenta in sangele pacientului a anticorpilor anti-VHC si a acidului nucleic ARN VHC, detectia doar a anticorpilor fiind insuficienta, avand in vedere faptul ca anticorpii se sintetizeaza la saptamani intarziere fata de contactul infectant. In scopul determinarii prezentei acidului nucleic VHC in sange sunt utile teste moleculare sensibile, cu limita minima de detectie sub 50 UI/ml, de ex. TMA, RT-PCR calitativ sau metode noi bazate pe tehnica real-time PCR. Spre deosebire de anticorpii anti-VHC, acidul nucleic viral poate fi evidentiata in sangele pacientului infectat din primele zile post-infectare, totusi concentratia acestuia poate fluctua, astfel ca o a doua determinare moleculara ar putea fi necesara dupa cateva saptamani la pacientii cu ARN VHC negativ, dar cu suspiciune clinica de hepatita C acuta. Daca la un pacient seronegativ, acidul nucleic ARN VHC este detectabil, atunci diagnosticul de hepatita acuta C este inalt probabil, in timp ce daca ambele determinari sunt pozitive (anti-VHC si ARN VHC) este dificil de realizat un diagnostic diferential intre o hepatita acuta C si una cronica activata, prezenta anticorpilor anti-VHC-IgM fiind comuna ambelor diagnostice.

Diagnosticul hepatitei C cronice

Diagnosticul de hepatita C cronica trebuie suspectat la pacientii cu semne clinice, anatomo-patologice sau biochimice de boala cronica hepatica ceea ce necesita, ca pas diagnostic ulterior, efectuarea unor teste ELISA de determinare a prezentei anticorpilor anti-VHC in sangele pacientului. Testele utilizate sunt de generatie noua (a 2^a sau 3^a), cu sensibilitate mare (peste 99%) si dau rareori rezultate fals-negative, totusi acestea pot aparea fie la pacientii imunosupresati sever (de ex. infectati HIV), fie la pacientii hemodializati. Un diagnostic serologic pozitiv pentru anti-VHC nu poate insa diferentia intre o infectie VHC cronica si una vindecata – anticorpii devenind nedetectabili dupa o lunga perioada de la rezolutia infectiei - astfel ca urmatoarea determinare obligatorie este testul molecular de detectie a prezentei ARN VHC in plasma. In plus, testul serologic pozitiv poate reprezenta si o reactie fals-positiva (a caror incidenta nu este inca bine precizata) ipoteza ce poate fi eliminata prin efectuarea unui test serologic de confirmare, de tip imunoblot.

Testele de diagnostic utilizate in conducerea terapiei infectiei VHC

Recomandarile actuale in conducerea tratamentului hepatitei C acute si cronice se bazeaza pe determinarea incarcaturii virale la inceputul, in timpul si la incheierea

terapiei, corelate cu teste de genotipare virala la initierea tratamentului. Determinarea exacta a subtipului viral castiga importanta odata cu introducerea in practica a noii terapii de tip STAT-C (specifically targeted antiviral therapy for VHC – terapie antivirala tintita pe VHC) datorita patternului diferit de dezvoltare a rezistentei pentru fiecare subtip. La initierea terapiei, o incarcatura virala scazuta este un predictor pozitiv pentru obtinerea raspunsului virusologic sustinut (RVS - incarcatura virala nedetectabila la 24 saptamani dupa incheierea terapiei), iar genotiparea poate stabili recomandarile privitoare la durata terapiei si doza de Ribavirina (McHutchison 2004; Terrault 2005). Terapia standard pentru infectia cu genotipul 1 sau 4 VHC este reprezentata de combinatia Peg Interferon cu Ribavirina pe o perioada de 48 saptamani.

Totusi, terapia poate fi scurtata la 24 saptamani in cazul unei incarcaturi virale baseline scazute ($<600.000-800.000\text{UI/ml}$) si incarcatura virala nedetectabila la 4 saptamani de la initierea terapiei - raspunsul virusologic rapid (RVR); la pacientii care raspund mai greu (slow responder) a caror incarcatura virala ARN VHC este detectabila, dar scade cu minim 2_{\log} la 12 saptamani, devenind nedetectabila in saptamana 24, terapia se poate prelungi pana la 72 saptamani; chiar si la pacientii cu raspuns virusologic timpuriu complet (cEVR) care au ARN VHC nedetectabil in saptamana 12, tratamentul standard este continuat 48 de saptamani. Pacientii infectati cu genotip 5 sau 6 sunt tratati in acelasi mod ca cei cu genotip 1 datorita lipsei studiilor clinice legate de raspunsul lor la terapie, in timp ce infectia cu genotipurile 2 sau 3 VHC sunt tratate in general pe o durata de doar 24 saptamani, care poate fi scurtata la 16 saptamani (depinzand de nivelul incarcaturii virale baseline si obtinerea RVR) sau, din contra, prelungita la 36-48 saptamani depinzand de patternul de scadere al incarcaturii virale (Layden-Almer 2006; Manns 2006). Indiferent inasa de genotipul VHC, scaderea incarcaturii virale este dovada obtinerii raspunsului virusologic sustinut, in acest sens, determinarea incarcaturii virale la 12 saptamani de la initierea terapiei este foarte importanta, o scadere a ARN VHC mai mica de $2_{\log10}$ implica oprirea terapiei (valoarea predictiva negativa 88-100%). Intr-o a doua etapa se determina incarcatura virala ARN VHC cu o metoda moleculara inalt sensibila in saptamana 24 deoarece pacientii cu incarcatura virala detectabila in acest moment au sanse extrem de reduse de obtinere a RVS (1-2%). La 24 de saptamani dupa oprirea terapiei se determina incarcatura virala cu ajutorul unui test cu sensibilitate mare, cu limita inferioara de detectie mai mica de 50 UI/ml pentru evaluarea succesului terapeutic de lunga durata, RVS (Layden-Almer 2006; Manns 2006).

Datorita diferentelor de exprimare a rezultatelor in ceea ce priveste incarcatura virala intre diferitele tipuri de teste moleculare, in ciuda introducerii exprimarii standard in unitati internationale pentru ARN VHC, este recomandabil ca un pacient sa fie intotdeauna testat cu acelasi tip de test – la initierea, in timpul si dupa incheierea terapiei; in plus, trebuie intotdeauna repetata (folosind dilutia probei) o incarcatura virala baseline care depaseste limita de liniaritate a testului (peste 400.000 - 1.000.000 UI/ml).

Referinte

- Bouchardeau F, Cantaloube JF, CVHEaliez S, Portal C, et al. (2007). "Improvement of hepatitis C virus (HCV) genotype determination with the new version of the INNO-LiPA assay." *J Clin Microbiol* 45(4): 1140-5.
- Bowden DS, Berzsenyi MD (2006). "Chronic hepatitis C virus infection: genotyping and its clinical role." *Future Microbiol* 1: 103-12.
- Castera L, Vergniol J, Foucher J, Le Bail B, et al. (2005). "Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C." *Gastroenterology* 128(2): 343-50.
- CVHEaliez S, Bouvier-Alias M, Brillet RPawlotsky JM (2007). "Overestimation and underestimation of hepatitis C virus RNA levels in a widely used real-time polymerase chain reaction-based method." *Hepatology* 46(1): 22-31.
- Colin C, Lanoir D, Touzet S, Meyaud-Kraemer L, et al. (2001). "Sensitivity and specificity of third-generation hepatitis C virus antibody detection assays: an analysis of the literature." *J Viral Hepat* 8(2): 87-95.
- Colucci G, Ferguson J, Harkleroad C, Lee S, et al. (2007). "Improved COBAS TaqMan hepatitis C virus test (Version 2.0) for use with the High Pure system: enhanced genotype inclusivity and performance characteristics in a multisite study." *J Clin Microbiol* 45(11): 3595-600.
- Gelderblom HC, Menting SBeld MG (2006). "Clinical performance of the new rRoche COBAS TaqMan HCV Test and High Pure System for extraction, detection and quantitation of HCV RNA in plasma and serum." *Antivir Ther* 11(1): 95-103.
- Hendricks DA, Friesenhahn M, Tanimoto L, Goergen B, et al. (2003). "Multicenter evaluation of the VERSANT HCV RNA qualitative assay for detection of hepatitis C virus RNA." *J Clin Microbiol* 41(2): 651-6.
- Higuchi R, Dollinger G, Walsh PSGriffith R (1992). "Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences." *Biotechnology (N Y)* 10(4): 413-7.
- Hofmann WP, Dries V, Herrmann E, Gartner B, et al. (2005). "Comparison of transcription mediated amplification (TMA) and reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) for detection of hepatitis C virus RNA in liver tissue." *J Clin Microbiol* 43(4): 289-93.
- Konnick EQ, Erali M, Ashwood ERHillyard DR (2002). "Performance characteristics of the COBAS Amplicor Hepatitis C Virus (HCV) Monitor, Version 2.0, International Unit assay and the National Genetics Institute HCV Superquant assay." *J Clin Microbiol* 40(3): 768-73.
- Konnick EQ, Williams SM, Ashwood ERHillyard DR (2005). "Evaluation of the COBAS Hepatitis C Virus (HCV) TaqMan analyte-specific reagent assay and comparison to the COBAS Amplicor HCV Monitor V2.0 and Versant HCV bDNA 3.0 assays." *J Clin Microbiol* 43(5): 2133-40.
- Layden-Almer JE, Cotler SJLayden TJ (2006). "Viral kinetics in the treatment of chronic hepatitis C." *J Viral Hepat* 13(8): 499-504.
- Lee SC, Antony A, Lee N, Leibow J, et al. (2000). "Improved version 2.0 qualitative and quantitative AMPLICOR reverse transcription-PCR tests for hepatitis C virus RNA: calibration to international units, enhanced genotype reactivity, and performance characteristics." *J Clin Microbiol* 38(11): 4171-9.
- Manns MP, Wedemeyer HCorneberg M (2006). "Treating viral hepatitis C: efficacy, side effects, and complications." *Gut* 55(9): 1350-9.
- McHutchison JG (2004). "Understanding hepatitis C." *Am J Manag Care* 10(2 Suppl): S21-9.
- Michelin BD, Muller Z, Stelzl E, Marth E, et al. (2007). "Evaluation of the Abbott RealTime HCV assay for quantitative detection of hepatitis C virus RNA." *J Clin Virol* 38(2): 96-100.

- Morishima C, Chung M, Ng KW, Brambilla DJ, et al. (2004). "Strengths and limitations of commercial tests for hepatitis C virus RNA quantification." *J Clin Microbiol* 42(1): 421-5.
- Nolte FS, Fried MW, Shiffman ML, Ferreira-Gonzalez A, et al. (2001). "Prospective multicenter clinical evaluation of AMPLICOR and COBAS AMPLICOR hepatitis C virus tests." *J Clin Microbiol* 39(11): 4005-12.
- Pawlotsky JM (2003). "Diagnostic testing in hepatitis C virus infection: viral kinetics and genomics." *Semin Liver Dis* 23 Suppl 1: 3-11.
- Pawlotsky JM (2003). "Use and interpretation of hepatitis C virus diagnostic assays." *Clin Liver Dis* 7(1): 127-37.
- Ross RS, Viazov S, Sarr S, Hoffmann S, et al. (2002). "Quantitation of hepatitis C virus RNA by third generation branched DNA-based signal amplification assay." *J Virol Methods* 101(1-2):159-68.
- Sabato MF, Shiffman ML, Langley MR, Wilkinson DS, et al. (2007). "Comparison of performance characteristics of three real-time reverse transcription-PCR test systems for detection and quantification of hepatitis C virus." *J Clin Microbiol* 45(8): 2529-36.
- Sarrazin C (2002). "Highly sensitive hepatitis C virus RNA detection methods: molecular backgrounds and clinical significance." *J Clin Virol* 25 Suppl 3: S23-9.
- Sarrazin C, Gartner BC, Sizmann D, Babel R, et al. (2006). "Comparison of conventional PCR with real-time PCR and branched DNA-based assays for hepatitis C virus RNA quantification and clinical significance for genotypes 1 to 5." *J Clin Microbiol* 44(3): 729-37.
- Sarrazin C, Hendricks DA, Sedarati F, Zeuzem S (2001). "Assessment, by transcription-mediated amplification, of virologic response in patients with chronic hepatitis C virus treated with peginterferon alpha-2a." *J Clin Microbiol* 39(8): 2850-5.
- Sarrazin C, Teuber G, Kokka R, Rabenau H, et al. (2000). "Detection of residual hepatitis C virus RNA by transcription-mediated amplification in patients with complete virologic response according to polymerase chain reaction-based assays." *Hepatology* 32(4 Pt 1): 818-23.
- Schutten M, Peters D, Back NK, Beld M, et al. (2007). "Multicenter evaluation of the new Abbott RealTime assays for quantitative detection of human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus RNA." *J Clin Microbiol* 45(6): 1712-7.
- Scott JD, Gretsch DR (2007). "Molecular diagnostics of hepatitis C virus infection: a systematic review." *Jama* 297(7): 724-32.
- Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deleage G, et al. (2005). "Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes." *Hepatology* 42(4): 962-73.
- Sizmann D, Boeck C, Boelter J, Fischer D, et al. (2007). "Fully automated quantification of hepatitis C virus (HCV) RNA in human plasma and human serum by the COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan system." *J Clin Virol* 39(4): 326-7.
- Terrault NA, Pawlotsky JM, McHutchison J, Anderson F, et al. (2005). "Clinical utility of viral load measurements in individuals with chronic hepatitis C infection on antiviral therapy." *J Viral Hepat* 12(5): 465-72.
- Vermehren J, Kau A, Gärtner B, Göbel R, Zeuzem S, Sarrazin C (2008). "Differences between two real-time PCR based assays (Abbott RealTime HCV, COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan) and one signal amplification assay (VERSANT HCV RNA 3.0) for HCV RNA detection and quantification." *J Clin Microbiol* 46(12): 880-91.

Capitolul 13: Terapia standard a infectiei VHC

By Markus Cornberg, Michael P. Manns and Heiner Wedemeyer

Managementul hepatitei acute C

Scopul tratamentului hepatitei acute C este de a preveni infectia virală persistentă. Rata naturală a evoluției VHC către cronicizare este de 50-90%. Cum un vaccin nu este încă disponibil, tratamentul infectiei acute VHC cu interferon alfa (IFN) este singura opțiune de a preveni persistenta infectiei VHC; cu toate acestea, diagnosticul infectiei acute primare VHC și distincția față de o exacerbare a unei hepatite C cronice necunoscute (Pawlotsky 2002).

Tratamentul imediat al pacienților cu hepatita acută C cu IFN recombinant sau PEG-IFN în monoterapie pentru 24 de săptămâni poate preveni dezvoltarea hepatitei cronice C în 90% din cazuri (Broers 2005; Jaeckel 2001; Santantonio 2005; Vogel 1996; Wiegand 2006). Oricum, complianța și aderența la tratament sunt o premisă pentru reușita acestuia (Wiegand 2006) (Tabelul 1). Asocierea ribavirinei pare să nu fie necesară. Pacienții simptomatici au de asemenea o bună șansă de a avea clearance spontan pentru VHC (Gerlach 2003; Hofer 2003). Aceasta se întâmplă în primele 12 săptămâni de la debutul simptomatologiei. Tratamentul acelor pacienți care sunt RNA VHC pozitivi la 12 săptămâni de la debutul simptomatologiei se soldează în general cu răspuns virologic susținut (autolimitare sau indus de tratament) la 91% din pacienți (Gerlach 2003). Pacienții asimptomatici necesită tratament imediat dat fiind că acești pacienți au cel mai mare risc de cronicizare (Flieg 2004).

Cu toate acestea, în per ansamblu impactul tratamentului pentru prevenirea infectiei cronice este limitat. O problemă este faptul că infectia primară VHC este de obicei asimptomatică și majoritatea pacienților nu sunt depistați în stadiul timpuriu de boală. Un alt motiv este că o parte din acești pacienți au contraindicații din punct de vedere medical pentru tratament cu interferon (IFN) sau pot să nu fie potriviți pentru tratament datorită existenței problemelor sociale (de exemplu consumului activ de droguri). Există două retineri în a trata cu IFN pacienții consumatori de droguri: în caz de succes al terapiei există riscul reinfectării cu VHC (Davis 2001). Alt motiv este profilul efectelor adverse ale IFN, în special cele neuropsihiatrice, probleme care pe perioada terapiei pot agrava dependența pacienților (Wiegand 2006). În plus s-a evidențiat că acordul și aderența la tratament a acestor pacienți este scăzut datorită efectelor adverse ale IFN (Broers 2005) (Tabelul 1).

Continuă să fie în discuție numeroase întrebări în privința tratamentului în hepatita acută C (Tabelul 2) la care probabil vor răspunde studiile clinice aflate în derulare. De exemplu, un studiu coordonat de German Competence Network for Viral Hepatitis (Hep-Net) (Manns 2003) testează dacă strategia “asteapta și vezi” are un efect asemănător cu tratamentul imediat (www.kompetenznetz-hepatitis.de/study_house/VHC_III_studie.htm). De asemenea, alte medicamente antivirale cu eficacitate înaltă și cu mai puține efecte adverse sunt în curs de dezvoltare, ceea ce ar permite în scurt timp tratarea tuturor pacienților cu hepatita C acută.

Studiu	n	Tratament	Startul tratamentului	Durata	Eficacitatea
(Jaeckel 2001)	44 pacienti recrutati in 24 de centere	IFN α -2b (4 săptămâni 5 MU zilnic, 20 săptămâni 5 MU tiw)	89 zile după infecție (între 30- 112 zile)	24 săptămâni	43/44 (98%)
(Santantonio 2005)	28	PEG-IFN α -2b (1.5 μ g/kg/săptămână)	12 săptămâni după debutul bolii (17/28 cronici, 16 tratați)	24 săptămâni	15/16 (94%)
(Broers 2005)	27 (22 IVDU)	PEG-IFN α -2b (1.5 μ g/kg/săptămână)	100 \pm 82 zile după debutul simptomatologiei, 63 \pm 82 zile de la diagnosticare (asimptomatic) (22/27 cronic, 14 au fost tratați)	24 săptămâni	8/14 (57%) 7/8 (88%) pacienți aderenți.
(Wiegand 2006)	89 pa- cienți recrutati in 53 centere	PEG-IFN α -2b (1.5 μ g/kg/săptămână)	76 zile după infecție (între 14- 150 zile), 27 zile după debutul simptomatologiei (între 5-131)	24 săptămâni	63/89 (71%) 58/65 (89%) pacienți aderenți.

Tabel 1. Studii de bază ce investighează tratamentul timpuriu cu PEG-IFN al pacienților cu infecție acută VHC.

Întrebare	Răspuns
Care pacienți ar trebui să fie tratați?	Asimptomatic > Simptomatic? VHC genotip 1 > VHC genotip 2/3 Pacienți IDU?
Când să înceapă tratamentul?	Imediat la pacienții asimptomatici Pacienți simptomatici: terapie imediată versus "astepta și vezi"?
Ce medicamente?	Interferon α (5 MU zilnic primele 4 săptămâni) sau PEG-Interferon α (doza standard pentru hepatită cronică C) În viitor: Noi inhibitori enzimatici?
Durata tratamentului?	<24 săptămâni?

Tabel 2. Întrebări și răspunsurile cele mai bune posibil referitor la tratamentul infecției acute VHC.

Tratamentul standard în hepatitele cronice C

Scopul tratamentului antiviral

Importanța unui tratament eficient împotriva hepatitei cronice C este evidentă având în vedere cele 130 de milioane de persoane infectate cu VHC. În ciuda implementării screeningului pentru VHC la donatorii de sânge la începutul anilor '90, se anticipează o creștere a complicațiilor de tip ciroză, decompensări hepatice și carcinom hepatocelular (HCC) în următorii 10-20 de ani (Davis 2003). Scopul

tratamentului antiviral este vindecarea hepatitei C prin eliminarea sustinuta a virusului. Beneficiile pe termen lung sunt reducerea morbidității și mortalității legate de VHC (Veldt 2007). Se considera ca s-a realizat o eliminare sustinuta a VHC daca ARN VHC este negativ 6 luni de la sfarsitul tratamentului (un raspuns virusologic sustinut RVS). Urmărirea pacientilor post-tratament a evidentiat ca mai mult de 99% din pacientii care au obtinut un RVS au de asemenea ARN VHC negativ 5 ani mai tarziu si nu prezinta semne de hepatita (Manns 2008; McHutchison 2006; Swain 2007).

Cateva manifestari extrahepatice precum crioglobulinemia, limfomul non-Hodgkin, glomerulonefrita membrano-proliferativa sau porfiriea cutanata tardiva, au fost raportate in evolutia naturala a infectiei cu virusul hepatitei C (VHC). Tratamentul antiviral poate imbunatati simptomatologia clinica chiar si fara obtinerea unui RVS. Cu toate acestea, tratamentul antiviral poate inrautati manifestarile extrahepatice (Mazzaro 2005; Missiani 1994; Pischke 2008; Zignego 2007).

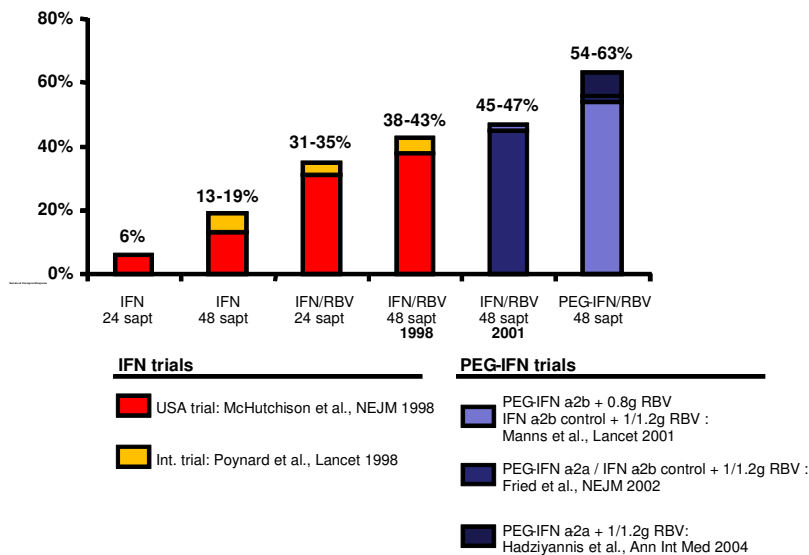
Tratamentul si conceptele terapeutice de baza

Inainte de indentificarea VHC ca agent etiologic pentru hepatitele non-A, non-B (Choo 1989) era dovedit ca IFN duce la normalizarea transaminazelor si imbunatatirea aspectului histologic hepatic (Hoofnagle 1986). Datorita identificării VHC a devenit posibila masurarea succesului terapeutic prin disparitia ARN VHC din ser, asa numitul raspuns virusologic sustinut (RVS). De la o rata de RVS de 5-20% prin tratamentul cu IFN in monoterapie la mijlocul anilor '80 s-a obtinut o crestere pana la 40-50% prin combinarea IFN cu ribavirina (Manns 2001; McHutchison 1998; McHutchison 2002; Poynard 1998). Prin descoperirea interferon alpha pegylat (PEG-IFN) tratamentul hepatitelor cronice C a luat o noua turnura (Cornberg 2002). Doua tipuri de PEG-IFN sunt disponibile; PEG-IFN α -2b (PEG-IntronTM, Schering-Plough) si PEG-IFN α -2a (PEGASYSTM, Hofmann La-Roche). Pegylarea a permis administrarea IFN o data pe saptamana datorita imbunatatirii profilului farmacocinetic. Tratamentul combinat PEG-IFN/ribavirina a imbunatatit totodata rata obtinerii RVS pana la 54-63% (Fried 2002; Hadziyannis 2004; Manns 2001) (Table 3).

Pare sa nu fie nici o diferenta in privinta RVS indiferent de tipul de IFN PEG administrat in combinatie cu ribavirina (Mauss 2005). Cu toate acestea intre cele 2 tipuri de PEG-IFN exista profiluri farmacocinetice diferite datorita moleculelor de polietilen glicol. PEG-IFN α -2b este delimitat de o singura molecula liniara de 12 kDa de polietilen glicol, pe cand PEG-IFN α -2a este atasat covalent la o jumatate de lant de polietilen glycol de 40 kDa. Aceste dimensiuni diferite ale PEG-IFN influenteaza volumul de distributie. PEG-IFN α -2b este administrat prin ajustare in functie de greutatea corporala (1.5 μ g/kg o data pe saptamana), pe cand PEG-IFN α -2a fiind mai mare este administrat in doza fixa de 180 μ g o data pe saptamana [revizuit in (Cornberg 2002; Pedder 2003)] (Tabelul 4).

Ribavirina trebuie administrata in functie de greutatea corporala a pacientilor. O analiza retrospectiva a unui trial de baza asupra tratamentului cu PEG-IFN α -2b/ribavirina a evidentiat ca doza optima de ribavirina (RebetolTM, Schering-Plough) este de cel putin 11 mg/kg (Manns 2001). Un studiu prospectiv, multicentric, open-label, initiat de clinicieni a confirmat ca PEG-IFN α -2b plus ribavirina

ajustată la greutatea corporală este mai eficientă decât doza standard de ribavirină, în special la pacienții VHC genotip 1 (Jacobson 2007). O doză de 15 mg/kg pare să fie ideală, deși dozele mari se asociază cu o rată crescută a anemiei (Snoeck 2006). Când este combinată cu PEG-IFN α -2a, doza de ribavirină (CopegusTM, Hofmann La-Roche) recomandată este de 1000 mg la pacienți cu greutate <75 kg sau 1,200 mg la cei cu greutate ≥ 75 kg și cu VHC genotip 1, în timp ce o doză de 800 mg ribavirină este recomandată pentru pacienții cu VHC genotip 2 și 3 (Tabelul 4). La pacienții cu genotip 2/3 nu s-au observat beneficii ale dozelor mari de ribavirină în combinație cu PEG-IFN α -2a (Hadziyannis 2004). Cu toate acestea, când este redusă durata tratamentului, e.g., la 16 săptămâni, o doză mai mare de ribavirină poate fi importantă (Shiffman 2007). Studiul Hadziyannis (Hadziyannis 2004) a confirmat de asemenea că pacienții VHC genotip 2/3 necesită tratament de 24 săptămâni în timp ce la pacienții cu VHC genotip 1 sunt necesare 48 de săptămâni de tratament (Tabelul 3). Regimul de 24 săptămâni de tratament pentru pacienții cu VHC genotip 2 și 3 a fost confirmat și pentru combinația PEG-IFN α -2b și ribavirină (Cornberg 2003; Zeuzem 2004) (Tabelul 3).



Tabel 1. Evoluția schemelor de tratament în hepatita cronică C.

Rata pentru răspunsul virologic susținut s-a îmbunătățit de la cca 5% în cazul monoterapiei cu interferon administrat la începutul anilor '90, la $>60\%$ în prezent printr-o terapie standard cu PEG-IFN plus ribavirină.

Evoluția timpurie a valorilor ARN VHC prezice evoluția și succesul tratamentului. Pacienții cu VHC genotip 1 care nu prezintă o scădere a ARN VHC mai mare de $2 \log_{10}$ sau care au o concentrație serică mai mare de 30.000 UI/ml ARN VHC după 12 săptămâni de tratament (TW12), nu au șanse de a realiza un RVS (Berg 2003; Davis 2003). Astfel tratamentul poate fi întrerupt la acești pacienți.

Principala provocare pentru viitor este îmbunătățirea ratei de succes la cei dificil de tratat și la pacienții non-responsivi cu VHC genotip 1. În timp ce pacienții cu VHC genotip 2 și 3 pot fi vindecați în mai mult de 75% din cazuri, la pacienții VHC genotip 1 rămâne o rată de RVS încă nesatisfăcătoare de 40-50%.

Studiu	Tratament	VHC genotip	Durata	RVS
(Manns 2001)	1.5μg/kg PEG-IFN α-2b 800 mg ribavirina	VHC-1	48 săptămâni	42%
		VHC-2/3	48 săptămâni	82%
	1.5μg/kg PEG-IFN α-2b >10.6 mg/kg ribavirina	VHC-1	48 săptămâni	48% (retrospectiv)
		VHC-2/3	48 săptămâni	88% (retrospectiv)
(Fried 2002)	180μg PEG-IFN α-2a 1000/1200 mg ribavirina	VHC-1	48 săptămâni	46%
		VHC-2/3	48 săptămâni	76%
(Hadziyannis 2004)	180μg PEG-IFN α-2a 800 mg ribavirina	VHC-1	24 săptămâni	29%
		VHC-2/3	48 săptămâni	40%
	180μg PEG-IFN α-2a 1000/1200 mg ribavirina	VHC-1	48 săptămâni	78%
		VHC-2/3	24 săptămâni	73%
		VHC-1	24 săptămâni	41%
		VHC-2/3	48 săptămâni	51%
(Zeuzem 2004)	1.5μg/kg PEG-IFN α-2b 800-1400 mg ribavirina	VHC-2	48 săptămâni	78%
		VHC-3	24 săptămâni	77%
	1.5μg/kg PEG-IFN α-2b 1000/1200 mg ribavirina	VHC-2	24 săptămâni	93%
		VHC-3	48 săptămâni	79%
(Kamal 2005)	1.5μg/kg PEG-IFN α-2b 1000/1200 mg ribavirina	VHC-4	24 săptămâni	29%
			36 săptămâni	66%
			48 săptămâni	69%

Tabel 3. Eficacitatea tratamentului antiviral la pacienții cu hepatita cronică C tratați cu PEG-IFN plus ribavirina. RVS depinde de genotipul VHC, doza și durata tratamentului.

	Dozare
Tipuri de Interferon	
Interferon pegylat alpha-2a (Pegasys®)	180 µg o dată pe săptămână
Interferon pegylat alpha-2b (PEG-Intron®)	1.5 µg/kg o dată pe săptămână
Interferon alpha-2a (Roferon®)	3 – 4.5 Mil U.I. de trei ori pe săptămână
Interferon alfa-2b (Intron A®)	3 Mil U.I. de trei ori pe săptămână
Interferon Consens (Infergen®)	9 µg de trei ori pe săptămână
Ribavirina	
Ribavirina (Copegus®)	800 – 1200 mg zilnic
Ribavirina (Rebetol®)	600 – 1400 mg zilnic

Tabel 4. Medicamente aprobate în tratamentul hepatitelor cronice C (2008).

Individualizarea și optimizarea strategiilor

Aderența la tratament

Aderența la tratament este unul din factorii cei mai importanți asociați cu un tratament de succes (McHutchison 2002). Definiția aderenței utilizată aici este regula 80/80/80, și include pacienții care au primit mai mult de 80% din dozele de IFN, mai mult de 80% din cele de ribavirina, și care au urmat tratamentul mai mult de 80% din durata preconizată. Unul din primele studii ce au investigat efectul aderenței la tratament a demonstrat că pacienții care au îndeplinit regula 80/80/80 au 63% răspuns susținut comparativ cu 52% la cei cu aderență mai mică de 80% (McHutchison 2002). Aceste date au fost semnificative statistic la pacienții cu VHC genotip 1. Alt studiu a demonstrat că doza cumulată de ribavirina la mai mult de 60% este importantă în obținerea de RVS (Reddy 2007). Prin urmare este important să reducem efectele adverse și să motivăm pacienții să adere la tratament în vederea optimizării răspunsului la tratament în special la pacienții dificil de tratați cu VHC genotip 1.

Durata optimă de tratament

O durată optimă de tratament poate de asemenea îmbunătăți managementul hepatitelor cronice C. Există două concepte diferite de optimizare a duratei tratamentului. În timp ce unii pacienți cu VHC genotip 1 pot necesita un tratament mai lung pentru îmbunătățirea răspunsului, pacienții cu VHC genotip 2 și 3 pot fi tratați o perioadă mai scurtă de timp reducându-se astfel costurile și efectele adverse.

Mai multe studii au investigat reducerea duratei de tratament pentru VHC genotip 2 și 3 la 16, 14, și chiar 12 săptămâni. Primele rezultate raportate sunt foarte promițătoare, dar au dovedit că atunci când tratăm pacienții mai puțin de 24 de săptămâni trebuie să luăm în considerare factorii individuali. Răspunsul virusologic rapid (RVR) evaluat după 4 săptămâni de tratament (ARN VHC negativ în ser la S4) este unul din factorii critici asociați cu succesul terapiei de scurtă durată. Numai pacienții cu răspuns virusologic rapid (RVR) în săptămâna 4 au rate înalte de RVS după 16 săptămâni (von Wagner 2005) (Tabelul 5), 14 săptămâni (Dalgard 2004),

sau 12 săptămâni de tratament (Mangia 2005), în timp ce aceia fără un RVR au o rată scăzută de răspuns, chiar și cu regimul de tratament de 24 săptămâni. Cu toate acestea 12 săptămâni pare a fi limita pentru unii pacienți, deoarece rata de recădere după 12 săptămâni este mai mare comparativ cu regimul standard de 24 de săptămâni (Mangia 2005).

În plus la RVR, alți factori sunt asociați cu răspunsul la pacienții cu VHC genotip 2 și 3. Aceștia sunt genotipul VHC și încărcătura virală de la debutul tratamentului. Pacienții cu VHC genotip 2 și 3 trebuie analizați separat deoarece pacienții cu VHC genotip 2 răspund mai bine la tratamentul cu PEG-IFN și ribavirină decât cei infectați cu VHC genotip 3 (Mangia 2005; Zeuzem 2004) (Tabelul 3). De altfel regimul scurt de tratament a evidențiat că pacienții cu VHC genotip 3 cu valori scăzute ale viremiei la debut (ARN VHC <400-800.000 UI/ml) au mai multe șanse să răspundă la tratament decât cei cu încărcătura virală înaltă (ARN VHC >400-800.000 UI/ml) (Dalgard 2004; Shiffman 2007; von Wagner 2005). În concluzie, pacienții cu VHC genotip 2 și pacienții cu VHC genotip 3 și încărcătura virală scăzută care au RVR după 4 săptămâni de terapie pot fi tratați pentru mai puțin de 24 de săptămâni iar pacienții fără răspuns virusologic timpuriu (EVR) (în special VHC genotip 3 și cu încărcătura virală înaltă) pot fi tratați pentru mai mult de 24 de săptămâni (e.g., 48 săptămâni) (Figura 1B). De asemenea pacienții cu ciroza hepatică nu trebuie incluși în regimurile cu durată scurtă de tratament (Aghemo 2006). Modificarea tratamentului la pacienții cu VHC genotip 2 și 3 va reduce costurile, efectele adverse și mai mult va optimiza rata de răspuns.

Studiu	Tratament	Subgrupuri	Săptămâni de tratament	RVS
(Mangia 2005) N = 283	1.0μg/kg PEG-IFN α-2b 1000-1200 mg ribavirină	Grupul standard	24	76%
		Grupul standard	24	91% dacă S 4 ARN VHC <50 UI/ml
		>50 UI/ml S 4 (fără RVR)	12	64%
		<50 UI/ml S 4 (RVR)		85%
(Dalgard 2008) N = 428	1.5μg/kg PEG-IFN α-2b 800-1400 mg ribavirină	<50 UI/ml S 4 (RVR)	24	91% ITT, 93% cu F24 ARN VHC test
		<50 UI/ml S 4 (RVR)	14	81% ITT, 86% cu F24 ARN VHC test
		>50 UI/ml S 4 (fără-RVR)	24	55% ITT, 59% cu F24 test ARN VHC
(von Wagner 2005) N = 153	180 μg PEG-IFN α-2a 800-1200 mg ribavirină	>600 UI/ml S 4	24	36%
		<600 UI/ml S 4	24	80%, 87% dacă ARN VHC <800.000 UI/ml
		<600 UI/ml S 4	16	82%, 94% dacă ARN VHC <800.000 UI/ml
(Shiffman 2007) N = 1469	180 μg PEG-IFN α-2a 800 mg ribavirină	Totii pacienții	24	70%
		Totii pacienții	16	62%
		<50 UI/ml S 4 (RVR)	24	85%
		<50 UI/ml S 4 (RVR)	16	79%
		<400.000 UI/ml S 0 (LVL)	24	82%
		<400.000 UI/ml S 0 (LVL)	16	81%

RVR= răspuns virusologic rapid, LVL= încărcătura virală joasă

Tabel 5. Optimizarea duratei de tratament la pacienții cu VHC genotip 2 și 3.

La pacienții cu VHC genotip 1 întâmpinăm probleme opuse. Extinderea duratei de tratament la 48 de săptămâni este una din strategiile care poate îmbunătăți rata de răspuns la unii din acești pacienți dificil de tratați. Fundamentală este extinderea timpului de negativare a ARN VHC, în special la pacienții cu o scădere lentă a încărcăturii virale (în primul rând ARN VHC negativ între S12 și S24) pentru reducerea ratei de recădere la așa zisii pacienți “slow responder”. Câteva studii au investigat eficacitatea și siguranța tratamentului cu PEG-INF plus ribavirina de 48 de săptămâni versus 72 de săptămâni la pacienții cu hepatită cronică C (Berg 2006; Mangia 2008; Pearlman 2007; Sanchez-Tapias 2006) (Tabelul 6). Sanchez-Tapias și colegii au raportat că beneficia extinderea terapiei la pacienții care aveau ARN VHC pozitiv la 4 săptămâni de tratament. Rata de recădere după 72 de săptămâni de tratament a fost redusă semnificativ la acești pacienți (Sanchez-Tapias 2004). Cu toate acestea, durata tratamentului peste un an poate crește mult rata de abandon (Tabelul 6) și la scăderea intenției de tratament (Berg 2006; Sanchez-Tapias 2004). Alt studiu al lui Berg a demonstrat că pacienții care realizează EVR (scăderea cu >2 log ARN VHC la săptămâna 12) dar încă au ARN VHC pozitiv la săptămâna 12 obțin un RVS semnificativ mai mare când tratamentul durează 72 mai degrabă decât 48 de săptămâni (29% vs 17%, $p = 0.04$). Un beneficiu particular al extinderii duratei de tratament a fost observat la pacienții cu valori scăzute ale viremiei (<6000 UI/ml) la săptămâna 12 (Berg 2006). În concluzie, extinderea terapiei la 72 de săptămâni va crește rata de răspuns pentru pacienții cu un răspuns virusologic lent (scăderea cu $>2\log_{10}$ dar >50 UI/ml la S12 (Figura 1A) dar motivarea crescută și complianța pacienților sunt obligatorii.

Pe de altă parte, este posibilă reducerea duratei de tratament la 24 de săptămâni la pacienții cu VHC genotip 1 care au valori scăzute ale încărcăturii virale (LVL) la debutul terapiei și un răspuns virusologic rapid (RVR) după 4 săptămâni de tratament (Ferenci 2008; Jensen 2006; Zeuzem 2006) (Tabelul 6; Figura 1A).

Studiu	Tratament	Subgrupuri (Slow responder)	Terapie săptămâni	RVS, (recaderi), intreruperea terapiei
(Sanchez-Tapias 2006)	180 µg PEG-IFN α-2a 800 mg ribavirina	>50 IU/ml S 4 (fara RVR)	48 72	28% (53% recadere), 18% intrerupere 44% (17% recadere), 36% intrerupere
(Berg 2006)	180 µg PEG-IFN α-2a 800 mg ribavirina	>50 IU/ml S 12	48 72	17%, 24% intrerupere 29%, 41% intrerupere
(Mangia 2008)	180 µg PEG-IFN α-2a sau 1.5 µg/kg PEG-IFN α-2b 1000-1200 mg ribavirina	>600 IU/ml S 8 & <600 IU/ml S 12	48 72	38%, (43% recadere) 63%, (15% recadere)
(Pearlman 2007)	1.5 µg/kg PEG-IFN α-2b 800-1400 mg ribavirina	≥2log scadere S 12 & >10 IU/ml S 12	48 72	18%, (59% recadere), 14% intrerupere 38%, (20% recadere), 15% intrerupere
Studiu	Tratament	Subgrupuri (fast responder)	Terapie săptămâni	RVS, (recadere), intreruperea terapiei
(Zeuzem 2006)	1.5µg/kg PEG-IFN α-2b 800-1400 mg ribavirina	<600.000 IU/ml S0 <600.000 IU/ml S0 & <29 IU/ml S 4 (RVR)	24 24	50% 89%
(Jensen 2006)	180 µg PEG-IFN α-2a sau 800mg or 1000-1200 mg ribavirina	<50 IU/ml S 4 (RVR)	24	89%
(Ferenci 2008)	180 µg PEG-IFN α-2a sau 1000-1200 mg ribavirina	<50 IU/ml S 4 (RVR)	24	74% ITT, 79% PP (N = 120 VHC-G1)

RVR= raspuns virusologic rapid

Tabel 6. Optimizarea duratei de tratament la pacientii cu VHC genotip 1.

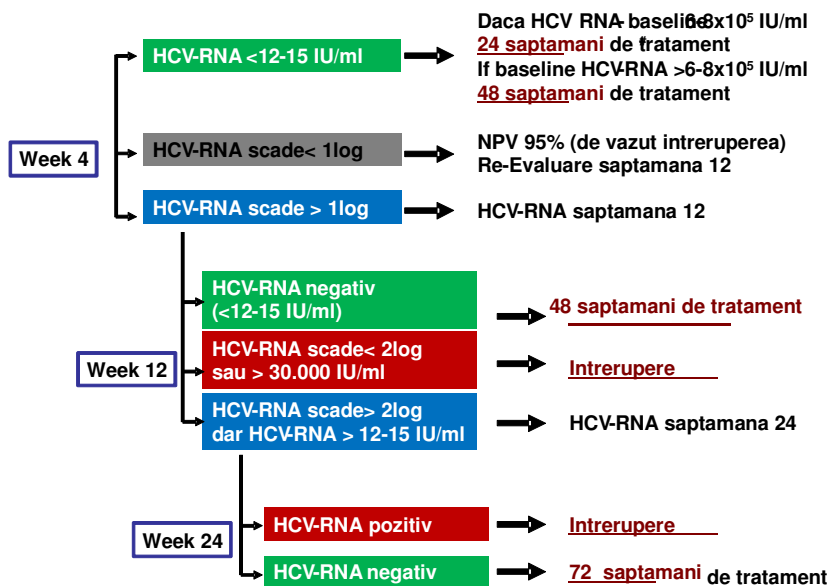


Figura 1A. Algoritmul de tratament recomandat pentru pacienții cu VHC genotip 1.

Noi recomandăm de asemenea acest algoritm și pentru pacienții cu VHC genotipurile 4-6 datorită datelor limitate despre aceste grupuri de pacienți. Testarea prin metode ultrasensibile a ARN VHC (limita de detecție 12-15 UI/ml sau 50 UI/ml) la săptămânile 4, 12, și 24, poate impune durata tratamentului. Reducerea duratei de tratament nu este recomandată la pacienții cu ciroza hepatică, rezistența la insulină sau steatoza hepatică.

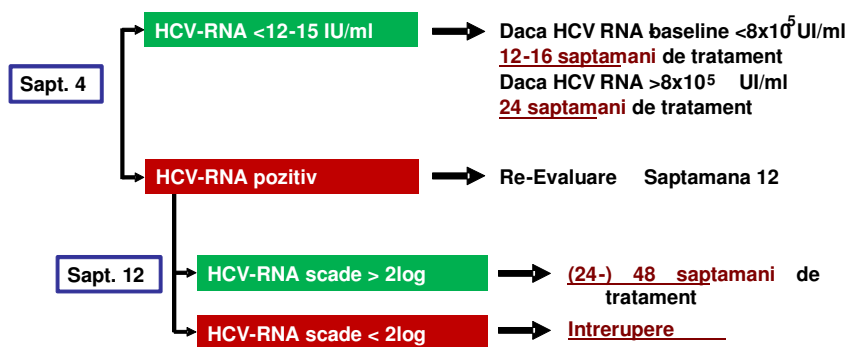


Figura 1B. Algoritmul de tratament recomandat pentru pacienții cu VHC genotip 2 și 3.

Determinarea ARN VHC (limita de detecție 12-15 UI/ml or 50 UI/ml) la săptămânile 4 și 12 poate indica durata de tratament. Reducerea duratei de tratament nu este recomandată la pacienții cu ciroza hepatică, rezistenți la insulină sau steatoză hepatică.

Amantadina

Alta strategie pentru a crește rata de succes la pacienții cu VHC genotip 1 poate fi asocierea cu amantadina (Smith 1997). Brillanți și colegii au fost printre primii care au demonstrat un RVS promitator cu tripla terapie IFN/ribavirina și amantadina la pacienții anterior non-responderi la IFN (Brillanti 2000). Dilema multor studii au fost rezultatele diferite de la studiu la studiu. În timp ce anumite studii confirmă rezultatele, altele nu demonstrează nici un beneficiu adus de amantadina în asociere cu IFN sau IFN/ribavirina. Un studiu german multicentric placebo controlat a tratat 400 de pacienți naivi cu IFN/ribavirina/placebo sau cu IFN/ribavirina/amantadina. Tripla terapie crește RVS cu 8% la pacienții cu VHC genotip 1 dar aceasta nu este semnificativ statistic (Berg 2003). Un alt studiu placebo controlat cu mai mult de 700 de pacienți în cooperare cu Hep-Net testează adăugarea amantadinei la tratamentul cu PEG-IFN/ribavirina la pacienții naivi răspunsul final demonstrând că tripla terapie cu amantadina nu aduce beneficii în plus (von Wagner 2007).

Alți interferoni

Alte tipuri de interferon I se află în curs de cercetare. Albinterferon alfa-2b (Alb-IFN) (Human Genome Sciences, Novartis), care este o proteină de 85.7 kD compusă din interferon alfa-2b combinat genetic cu albumina umană, pentru a extinde timpul de înjumătățire al IFN la aproximativ 148 de ore. Profilul farmacocinetic al albuferonului permite administrarea la interval de 2-4 săptămâni comparativ cu o săptămână pentru PEG-IFN. Rezultatele unui trial de fază II au testat diferite doze de Alb-IFN versus PEG-IFN α -2a la pacienți cu VHC genotip 1 demonstrând eficacitate antivirală comparabilă a Alb-IFN (Zeuzem 2008). Aceste date au condus la inițierea unui trial clinic de fază III care să evalueze eficacitatea Albuferonului în asociere cu Ribavirina.

Consensus interferon (CIFN) sau interferon alphacon-1 (Infergen; Valeant) sunt alte tipuri de interferon I deja aprobate în tratamentul hepatitelor cronice C (Tabelul 4). Moleculile “consens”, compuse din aminoacizi “conservati” ai interferonilor tip 1, arată *in vitro* o mai bună activitate biologică decât alți interferoni tip 1 (Blatt 1996; Ozes 1992). Contrar acestui avantaj *in vitro*, un studiu comparativ între CIFN și IFN standard în monoterapie au arătat diferențe minore în privința eficacității. Aceste rezultate sugerează că pacienții cu VHC genotip 1 pot avea un avantaj minim cu CIFN (Tong 1997). Un studiu recent raportează un RVS mai bun la pacienții naivi cu hepatita cronică C când sunt tratați cu CIFN în asociere cu ribavirina comparativ cu IFN standard plus ribavirina (Sjogren 2005). Unele studii ce investighează efectele unei dozări zilnice a CIFN, în asociere cu ribavirina la naivi, ca și la pacienții non-responderi, demonstrează un RVS promitator (Cornberg 2006; Jaeckel 2001). Cu toate acestea dozarea zilnică necesită niveluri înalte de motivare și complianță deoarece aderența la tratament este un factor important ce influențează evoluția.

Alti IFN cu durata lunga de actiune sunt in curs de investigare si includ locteron (OctoPlus, Biolex Therapeutics) si omega-IFN cu administrare subcutana (Intarcia Therapeutics) cel putin 12 saptamani.

Reactii adverse si complicatii

Efectele adverse severe pot reduce aderenta la tratament si pot duce la modificarea dozelor care va duce la un raspuns suboptimal. Ambele, IFN si ribavirina produc efecte adverse ce pot influenta managementul pacientilor cu hepatita cronica C (Tabelul 7). Efectele adverse raportate pentru IFN pot fi impartite in supresie medulara, simptome pseudogripale, tulburari neuropsihiatrice si sindroame autoimune. Principalul efect advers al ribavirinei este anemia hemolitica. In general efectele adverse duc in 10-20% din cazuri la intreruperea prematura a tratamentului si in plus 20-30% din pacienti necesita modificarea dozelor. In studiile mai recente acest numar este mai mic ceea ce denota o mai buna intelegere si un mai bun management al efectelor adverse (Fried 2002), ceea ce potential ar putea duce la un RVS mai ridicat. Cu toate acestea este de remarcat ca aceste procentaje au fost inregistrate in trialuri ce au investigat pacienti atent selectionati. Aceasta poate da rezultate diferite fata de practica clinica unde pacientii cu istoric de depresie, trombocitopenie sau afectiuni tiroidiene spre exemplu sunt inclusi in tratament.

Efecte adverse ale IFN

Efectele adverse ale IFN pe maduva osoasa sunt reprezentate de scaderea numarului de granulocite si trombocite pe perioada tratamentului, de obicei moderate daca valorile la initierea tratamentului sunt in limite normale. Oricum sunt necesare modificari ale dozelor in special la pacientii care prezinta initial granulocito/trombocitopenie. Aceasta limiteaza utilizarea IFN la pacientii cu ciroza hepatica avansata care deseori au numar scazut de trombocite si sunt vulnerabili la infectii. Conceptul terapeutic de a creste nivelul trombocitelor in conditii de siguranta doreste sa aduca un aport semnificativ in managementul pacientilor infectati VHC, in special la cei cu boala hepatica avansata. Un nou agent promitator este un agonist oral pentru receptorii de trombopoietina numit eltrombopag care deja a fost testat la pacientii cu hepatita cronica C sau ciroza hepatica (McHutchison 2007). Eltrombopag creste nivelurile trombocitelor la 75-95% din prepacienti in functie de doza si tratamentul antiviral initiat. In 12 saptamani de tratament antiviral au fost asociate cu 30-75 mg de eltrombopag la 36-65% din pacienti, vs numai 6% din pacienti in grupul placebo (McHutchison 2007). Neutropenia este al motiv obisnuit pentru modificarea dozelor. Factorul de crestere granulo-macrofagic (GM-CSF) poate fi potential utilizat pentru stabilizarea numarului de neutrofile pe perioada tratamentului cu IFN (Shiffman 1998; Van Thiel 1995). Analize cost-beneficiu si alte trialuri sunt necesare pentru recomandarea de rutina a acestor agenti, deoarece neutropenia indusa de IFN este in general asociata cu cresterea riscului pentru infectii bacteriene (Soza 2002).

Simptomele pseudogripale apar de obicei in timpul primelor saptamani de tratament dar severitatea lor scade in timp, incluzand febra, frisoane, cefalee, artralгии si mialгии (Tabelul 7). Medicamentele antitermice de tipul paracetamolului pot preveni sau reduce aceste efecte adverse.

Frecvent apar efecte adverse neuropsihiatrice precum iritabilitate, oboseala severa și apatie (Tabelul 7) și chiar depresie severa sau sinucideri (Janssen 1994) crează mari probleme pentru mulți pacienți afectând viața socială și de familie a pacienților. Tratatamentul psihiatric și utilizarea medicației antidepressivă, în special inhibitori de serotonina (SSRI) pot ajuta la reducerea depresiei induse de interferon (Musselman 2001) și în consecință la îmbunătățirea aderenței la tratament și a ratei de răspuns (Schaefer 2005). Un studiu controlat dublu orb placebo pe o sută de pacienți cu hepatita cronică C s-a încheiat prematur datorită unei superiorități semnificative a SSRI comparativ cu placebo în privința scaderii scorului Anxietății Spitalizate și a Scalei Depresiei (HADS). Toți pacienții tratați cu SSRI au fost capabili să efectueze tratamentul complet cu IFN (Kraus 2008). Tratatamentul cu SSRI este foarte eficient la pacienții cu infecție VHC în timpul terapiei cu IFN atunci când tratamentul este început imediat după debutul semnelor clinice de depresie, un tratament antidepressiv inițiat anterior terapiei nefiind necesar.

IFN are proprietăți imunomodulatorii și astfel tratamentul poate induce fenomene autoimune (Wesche 2001), problema cea mai frecventă fiind apariția tiroiditei autoimune. În cele mai multe cazuri tiroidita produce inițial hipertiroidism, care ulterior se transformă în hipotiroidism. Tiroidita autoimună a fost raportată până la 20% din pacienții în timpul sau după tratamentul cu IFN, putând deveni ireversibilă la oprirea tratamentului (Lisker-Melman 1992). Pacienții cu anticorpi antitiroidieni prezenți anterior tratamentului, au un risc mai mare și este posibil ca tiroidita autoimună să fie cauzată chiar de hepatita C (Marazuela 1996).

Și alte boli autoimune pot fi agravate de tratamentul cu IFN (de exemplu diabetul sau hepatita autoimună), la aceștia boala putând fi agravată de terapia cu IFN, mai ales la pacienții cu anticorpi anti-LKM pozitivi. Acești pacienți necesită o monitorizare atentă dacă IFN este tratamentul de primă intenție, dar cu toate acestea tratamentul cu IFN pare să fie sigur în majoritatea pacienților VHC/anti-LKM-1-pozitivi (Dalekos 1999; Todros 1995).

Reacțiile adverse ale ribavirinei

Principalul efect advers al ribavirinei este anemia hemolitică, ceea ce duce frecvent la scaderi ale dozei de ribavirină și chiar întreruperi, ce poate avea efecte semnificative asupra RVS în general, în special la pacienții cu VHC genotip 1 (Manns 2001).

Tratatamentul cu eritropoietină poate să scadă frecvența anemiei asociată ribavirinei ceea ce permite o creștere a aderenței la tratamentul cu ribavirină (Afdhal 2004). Deși utilizarea eritropoietinei poate reduce incidența și severitatea anemiei produse de ribavirină nu este încă stabilit dacă are efect asupra RVS. Un studiu prospectiv, randomizat a evaluat efectul eritropoietinei asupra RVS, pacienții în tratament cu PEG-IFN α -2b plus 13.3 mg/kg/zi de ribavirină fiind comparați cu pacienții aflați în tratament cu PEG-IFN α -2b, 13.3 mg/kg/zi de ribavirină și eritropoietină în doză de 40.000 U/săptămână. Deși reducerile dozelor de ribavirină au fost semnificativ mai rare la pacienții care au primit eritropoietină în tratament nu s-a observat nici o îmbunătățire a RVS. Un al treilea grup care a primit o doză start mai mare, 15.2 mg/kg/zi, în combinație cu eritropoietină a prezentat un RVS semnificativ crescut, cu toate că nu a fost un grup de control (Shiffman 2007). În general eritropoietina poate îmbunătăți calitatea vieții și în unele cazuri poate crește șansa realizării de RVS, dar tratamentul este scump și neaprobat în multe țări. Această problemă

accentuează nevoia unor medicamente alternative ribavirinei cu un grad mai scăzut de toxicitate și/sau o mai mare eficacitate antivirală. Din păcate mecanismul prin care ribavirina intensifică eficacitatea tratamentului cu IFN și previne recaderile este în cea mai mare parte necunoscut. Mecanismele propuse sunt efectul imunomodulator, inhibarea activității inozin monofosfat dehidrogenazei (IMPDH) și inducerea mutagenzei ARN (Lau 2002; Perelson 2005). Inhibitori IMPDH mai poteni, precum micofenolat mofetil (MMF, Cellcept) sau VX-497 au fost studiați (Sintchak 2000), dar cu efecte limitate (Cornberg 2002). Alta abordare este dezvoltarea unui precursor al ribavirinei, viramidina, care este versiunea amidică a ribavirinei și este transformată în ribavirina de către enzima adenozin deaminază indeosebi în hepatocite. Prin urmare ribavirina este mai puțin asimilată în hematii după administrarea de viramidina, în consecință aparând mai puține cazuri de anemie hemolitică (Watson 2002). Primele rezultate ale unui studiu de fază II au demonstrat că viramidina în asociere cu PEG-IFN α -2a conduce la o scădere semnificativă a apariției anemiei comparativ cu ribavirina plus PEG-IFN (Gish 2005). Cu toate acestea studiile de fază III cu ambele PEG-IFN în asociere cu doze fixe de viramidina sunt inferioare asocierii cu ribavirina (Benhamou 2006; Marcelin 2007).

Între timp monitorizarea ribavirinei poate fi o opțiune în optimizarea dozelor de ribavirina fără scăderea eficacității (Svensson 2000). Farmacocinetica ribavirinei sugerează că nu numai greutatea corporală ci și funcția renală (rata filtrării glomerulare) poate fi luată în considerare la stabilirea dozelor de ribavirina (Bruchfeld 2001).

Reacții adverse	Incidența cu PEG-IFN α plus ribavirina (Fried 2002; Hadziyannis 2004; Manns 2001)
Cefalee	47-62%
Febra	40-46%
Mialgii	37-56%
Contractura musculară	24-48%
Artralgii	24-34%
Greata	35-43%
Pierderea apetitului	21%
Scădere ponderală	29%
Diaree	22%
Alopecie	21-36%
Exantem/Dermatită	20-24%
Inflamație la locul injectării	25%
Prurit	25-29%
Dispnee	26%
Fatigabilitate	48-64%
Insomnie	33-40%
Iritabilitate	24-35%
Depresie	22-31%

Table 7. Reacții adverse obișnuite (>20% din pacienți) raportate în majoritatea studiilor cu PEG-IFN/ribavirina (Fried 2002; Hadziyannis 2004; Manns 2001).

Incidența efectelor adverse în diferite studii este dificil de comparat deoarece studiile au diferențe semnificative din punct de vedere genetic și socioeconomic. Mai mult există diferențe în metodologia de înregistrare a efectelor adverse. Pacienții au fost selectați pe baza unor criterii de includere și excludere bine definite. Niveluri normale ale TSH au fost solicitate anterior tratamentului.

Tratamentul hepatitei C la categorii speciale de pacienți

Pacienții cu valori normale ale transaminazelor

Aproximativ 30% din pacienții cu hepatită cronică C mențin valori normale ale alanin aminotransferazei (ALT) în ciuda RNA VHC detectabil în ser. Indicația de tratament pentru acești pacienți este discutabilă. În primul rând acești pacienți au o afectare hepatică ușoară și prezintă o evoluție lentă către ciroză. În al doilea rând este un lucru dovedit că tratamentul cu IFN este însoțit de creșteri ale ALT (revizuit în Tassopoulos 1999). În al treilea rând eficacitatea tratamentului pare fi mai mică, la pacienții cu transaminaze normale, cei cu transaminaze crescute parând să răspundă mai bine (Zeuzem 2000). Cu toate acestea până la o treime din prepacienții cu ALT normale pot avea fibroză hepatică semnificativă necesitând tratament (Bacon 2002; Zeuzem 2004). Zeuzem a demonstrat că o cură de PEG-IFN α -2a plus ribavirină timp de 48 de săptămâni la pacienții cu hepatită cronică C și ALT persistent normale determină o rată a RVS de 52%. Nu au fost observate creșteri ale ALT în timpul tratamentului (Zeuzem 2004). Eficacitatea și toleranța la terapie cu PEG-IFN/ribavirină la pacienții cu valori persistent normale ale ALT par să fie comparabile cu cele observate la cei cu valori crescute ale ALT. Decizia de inițiere a terapiei la pacienții cu hepatită cronică C și valori persistent normale ale ALT trebuie făcută individual, independent de nivelul ALT.

VHC și transplantul hepatic

Reinfecția VHC apare la aproape toți pacienții după transplantul hepatic. În anii 80 și începutul anilor 90 evoluția hepatitei C la pacienții transplantați hepatic s-a crezut a fi mai degrabă benignă (Boker 1997). Totuși în ultimii ani s-a observat (Berenguer 2005) o progresie rapidă spre ciroză hepatică, a 20-30% dintre pacienți în primii 5-10 ani. VHC are o evoluție posttransplant mult mai rapidă decât la pacienții imunocompetenți și nevoia de tratament este clară.

Tratamentul antiviral al VHC trebuie început înaintea transplantului pentru a preveni reinfecția greșei. Dacă această abordare are succes reinfecția poate fi prevenită în două treimi din pacienți (Forns 2003). Totuși tratamentul cu IFN și ribavirină este puțin tolerat în cirozele decompensate și astfel această abordare este fezabilă doar pentru o minoritate dintre pacienți (Everson 2004). Tratamentul preventiv de 4-6 săptămâni posttransplant a fost dezamăgitor cu RVS între 0% și 33% pentru diferite regimuri de terapie incluzând monoterapia cu IFN și terapia combinată de IFN plus ribavirină (Chalasan 2005; Terrault 2003). Există mai multă experiență în tratarea hepatitei C recurente după instalarea acesteia. Cele mai recente studii care utilizează PEG-IFN în asocieri cu ribavirină indică o rată a răspunsului virologic inițial de până la 55% (Dumortier 2004). Durata

tratamentului trebuie să fie cel puțin egală cu a pacienților netransplantați luând în considerare cinetica virală timpurie și genotipul VHC. Cu toate acestea toxicitatea pe maduva osoasă, depresia și rejecția de grea sunt factori care limitează un management agresiv (e.g., factori de creștere) (Neff 2004; Rodriguez-Luna 2004), iar uneori dozele de ribavirină trebuie ajustate deoarece unii pacienți pot prezenta diverse grade de insuficiență renală. Interesant este faptul că riscul de inducere a rejecției de grea pare să fie mai mare dacă nu se utilizează ribavirină.

În general, câteva soluții care în unele cazuri mai degrabă complică managementul hepatitei C posttransplant nu sunt încă rezolvate. Pacienții cu hepatită instalată la nivelul greței trebuie tratați cu PEG-IFN și ribavirină. Sunt necesare studii ulterioare pentru a determina dacă reinfectia poate fi prevenită în viitor cu noi antivirale care inhibă replicarea virală VHC sau cu o combinație de anticorpi anti-VHC cu proprietăți neutralizante.

Pacienții dializați

Necesitatea tratamentului pentru pacienții dializați cu hepatită C este evidentă în special dacă pacienții sunt pregătiți în vederea unui transplant renal. Evoluția posttransplant renală a pacienților infectați VHC este mai gravă decât la pacienții VHC negativi care au suferit transplant renal. Cu toate acestea tratamentul pe baza de IFN este contraindicat posttransplant deoarece poate induce rejecția greței. Astfel, dacă este posibil infecția VHC ar trebui eliminată înainte de transplantul renal. Există câteva rapoarte privind tratamentul VHC cu IFN în monoterapie la pacienți aflați în stadiul terminal al bolii renale (Fabrizi 2002), și surprinzător, rezultatele monoterapiei cu IFN la pacienții dializați au fost mai bune decât la pacienții nedializați cu un RVS de 21-64%. Date despre terapia combinată cu ribavirină sunt limitate deoarece ribavirină este în mod obișnuit contraindicată la acești pacienți. Oricum ribavirină poate fi administrată la acești pacienți în doze scăzute de la 200-400 mg zilnic (Bruchfeld 2001). Câteva studii care utilizează PEG-IFN plus ribavirină la pacienții dializați sunt în desfășurare și nu există încă date disponibile. Oricum trebuie luate în considerare diferențe semnificative între cele două tipuri de interferon pegylat la pacienții dializați deoarece PEG-IFN α -2a este eliminat mai ales hepatic în timp ce PEG-IFN α -2b este eliminat renal (Cornberg 2002), de aceea numai PEG-IFN α -2a a fost aprobat. Este necesar ca studiile viitoare să evalueze potențialul viramidinei în particular pentru acest grup de pacienți.

Terapii de viitor

Dezideratul pentru viitor este dezvoltarea unui tratament cu mai puține efecte adverse și o eficacitate mai mare decât a IFN. Cunoașterea structurii moleculare a proteinelor virusului hepatitei C a permis realizarea de noi medicamente cu efect direct la nivelul enzimelor codificate de VHC importante în replicarea virală. Acest concept de tratament este definit ca terapie antivirală VHC specifică țintită (STAT-C). Proteaza VHC și polimeraza VHC sunt în prezent țintele principale ale STAT-C (vezi Capitolul 14). Primul medicament care a demonstrat eficiența reală la om a fost un inhibitor de proteaza VHC, BILN-2061 (Boehringer-Ingelheim). BILN-2061 administrat de 2 ori pe zi ca monoterapie pentru 2 zile reduce ARN VHC cu 2-3 \log_{10} la majoritatea pacienților infectați cu VHC genotip 1 (Hinrichsen 2004).

Din păcate mai multe trialuri clinice sunt în așteptare datorită toxicității cardiace demonstrate în studiile preclinice. Alt inhibitor de protează VHC promitator (Reesink 2005; Zeuzem 2005a; Zeuzem 2005b) ca și inhibitori de polimerază (Afdhal 2005; O'Brien 2005) sunt în curs de investigare. Rezistența medicamentelor poate deveni o problemă cu acești compuși noi (Sarrazin 2005) și asocierile terapeutice pot fi inevitabile. Studii de fază II/III care investighează aceste noi medicamente în asociere cu PEG-IFN sunt în desfășurare. Majoritatea acestor compuși noi s-au obținut folosind sisteme de replicare *in vitro* (Lohmann 1995) derivând de la pacienți cu VHC genotip 1. Asadar este subînțeles că, de exemplu, BILN-2061, este mai puțin eficient la pacienții cu VHC genotip 2 și 3 (Reiser 2005). Este o necunoscută nevoia de a dezvolta alte sisteme replicate *in vitro* derivate de la pacienți cu genotip non-1. Recent, a fost generată o nouă clonă VHC *in vitro*, derivată de la un pacient cu VHC genotip 2a și pentru prima dată aceasta s-a dovedit a fi infecțioasă la cimpanzei (Wakita 2005).

Alta abordarea a tratamentului infecției VHC este inducerea unui răspuns imun specific pentru VHC. Vindecarea spontană după infecția acută VHC este asociată cu un răspuns imun puternic, în timp ce cronicizarea hepatitei C este asociată cu un răspuns imun slab (Rehermann 2005; Wedemeyer 2002). Scopul vaccinării terapeutice este de a stimula răspunsul imun specific în vederea inhibării replicării virale. Primele vaccinuri terapeutice sunt actualmente testate în diferite studii de fază I/II (Manns 2004; Nevens 2003).

Alte direcții includ dezvoltarea unor molecule mici de tipul ribozome, oligonucleotide antisens și molecule de ARNs interferent (siRNAs) care sunt construite pentru controlul expresiei genelor virale, existând în prezent multe abordări noi în lupta contra hepatitei C și a complicațiilor sale (vezi Capitolul 14).

Tratamentul pacienților cu eșec anterior al tratamentului antiviral

Deoarece tot mai mulți pacienți sunt tratați, și numărul pacienților care suferă eșec terapeutic este în creștere, mulți pacienți non-responderi au leziuni hepatice avansate și un tratament reușit va crește durata de viață (Veldt 2007). Medicatia STAT-C are câțiva ani de la aprobare și date recente arată că medicatia STAT-C plus PEG-IFN și ribavirina pot să nu fie suficiente pentru realizarea unui RVS la mulți non-responderi. Astfel retratarea pacienților cu eșec terapeutic anterior este una din cele mai importante teme în tratamentul hepatitelor cronice C.

Definiția eșecului terapeutic

Definiția eșecului la tratamentul antiviral este foarte importantă când stabilim pacienții de retratat pentru hepatita cronică C. Regimurile de tratament și complianța la tratamentele anterioare pot fi diferite între pacienți. Cel mai important, cinetica ARN VHC și profilul de răspuns în timpul primului tratament trebuie avute în vedere la inițierea noului tratament. Astfel, este important screeningul datelor pacienților și a duratei de tratament, dozarea medicamentului și valorile ARN VHC în timpul tratamentului anterior. Non-responderul este definit ca eșecul de a nega ARN VHC în orice moment pe perioada tratamentului. Definițiile utilizate de studiile ce investighează noi abordări terapeutice, e.g.,

STAT-C (vezi Capitolul 14) au definit non-responderul ca lipsa unei reduceri de $\geq 2 \log_{10}$ a ARN VHC dupa 12 saptamani. Clasificarea lipsei de raspuns terapeutic include raspuns nul, care este definit prin scaderea ARN VHC $< 2 \log_{10}$ in orice moment al terapiei. Raspunsul virusologic partial este definit ca scaderea cu $\geq 2 \log_{10}$ a ARN VHC in timpul tratamentului fara negativarea ARN VHC dupa 24 saptamani de tratament. Recaderea este negativarea ARN VHC la sfarsitul terapiei cu pozitivarea viremiei dupa intreruperea tratamentului. Recurenta reflecta obtinerea negativarii ARN VHC in timpul tratamentului cu recurenta viremiei pe perioada tratamentului (Figura 2).

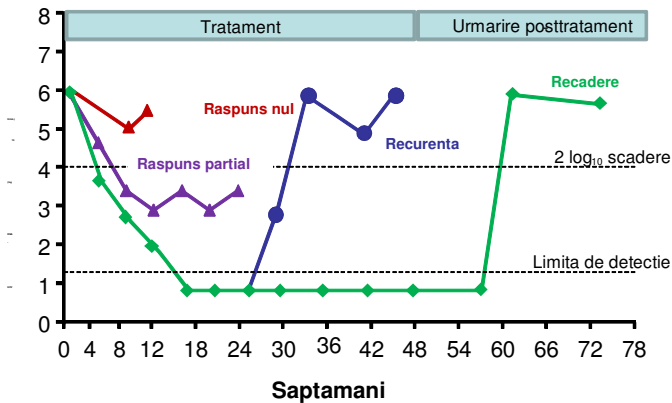


Figure 2. Scenarii diferite ale esecului tratamentului antiviral in hepatita cronica C.

Re-tratarea pacientilor cu recaderi dupa tratamentul standard

Re-tratamentul cu PEG-IFN/ribavirina la pacientii cu recadere dupa tratament cu IFN sau PEG-IFN asociat cu ribavirina determina RVS in 32-50% din cazuri (Tabelul 8). Pacientii cu VHC genotip 1 si scor inalt de fibroza au sanse scazute de a realiza RVS (Jacobson 2005; Poynard 2008). Dupa recadere pacientii ar trebui tratati pentru cel puțin 48 de saptamani indiferent de genotip. Studiile au aratat ca pacientii care nu au realizat negativarea ARN VHC in saptamana 12 au doar 5% sanse de a obtine RVS, dar reguli mult mai stricte pentru intreruperea tratamentului trebuie folosite la pacientii retratati dupa recadere. Alte motive pentru recadere, ca raspuns lent pe perioada tratamentului anterior, lipsa completarii a 72 de saptamani de tratament sau aderenta scazuta la tratament trebuie evaluate si imbunatatite in timpul retratamentului.

Studiu (pacienti)	Tipul de pacienti	Regimul de tratament	RVS
EPIC ³ (Poynard 2008)	Recadere după	48 săptămâni	34%
	PEG-IFN α -2a/ribavirina	1.5 μ g/kg PEG-IFN α -2b + 800-1400 mg ribavirina	
EPIC ³ (Poynard 2008)	Recadere după	48 săptămâni	32%
	PEG-IFN α -2b/ribavirina	1.5 μ g/kg PEG-IFN α -2b + 800-1400 mg ribavirina	
EPIC ³ (Poynard 2008)	Recadere după	48 săptămâni	43%
	IFN/ribavirina	1.5 μ g/kg PEG-IFN α -2b + 800-1400 mg ribavirina	
(Jacobson 2005)	Recadere după	48 săptămâni	50%
	IFN/ribavirina	1.5 μ g/kg PEG-IFN α -2b + 800 mg ribavirina	
(Jacobson 2005)	Recadere după	48 săptămâni	32%
	IFN/ribavirina	1.0 μ g/kg PEG-IFN α -2b + 1000-1200 mg ribavirina	

Tabel 8. RVS la pacienții cu recadere tratați cu IFN/ribavirin or PEG-IFN/ribavirina.

Re-tratarea non-responderilor cu terapia standard actuala

La pacienții care nu răspund la tratamentul standard cu PEG-IFN/ribavirina s-a demonstrat o rată a RVS de la 2% la 12% la un nou tratament standard cu PEG-IFN/ribavirina (Jacobson 2005; Marcellin 2008; Poynard 2008; Schiff 2008; Shiffman 2004) (Tabelul 9). Astfel indicația pentru un nou tratament este limitată, acesta fiind justificat numai dacă aderența la tratament a fost problema majoră în timpul primului tratament. Reducerea anterioară a ARN VHC are valoare predictivă pentru posibilitatea obținerii unui RVS. Astfel pacienții cu un răspuns parțial anterior pot beneficia de re-tratament printr-o optimizare a regimului terapeutic, de exemplu prin prelungirea duratei de tratament.

Dacă pacienții au fost anterior non-responder la tratamentul cu IFN sau PEG-IFN și au avut ARN VHC detectabil în săptămâna 12, tratamentul trebuie întrerupt. Studiul EPIC³ a indicat faptul că orice nivel al ARN VHC >750 UI/mL a fost asociat cu șanse nule de obținere a unui RVS următor (Poynard 2008). Pe de altă parte dacă un non-responder anterior are ARN VHC nedetectabil în săptămâna 12, tratamentul poate continua cu șanse semnificative de a realiza un RVS. Pe baza rezultatelor studiului REPEAT, trebuie luată în considerare o durată a tratamentului de 72 de săptămâni, rată RVS pentru pacienții care au primit 72 de săptămâni de tratament fiind dubla față de pacienții care au primit 48 de săptămâni de tratament (Tabelul 9). O analiză multiplă a factorilor predictivi ai răspunsului a identificat durata tratamentului de 72 de săptămâni vs. 48 de săptămâni ca fiind cel mai bun predictor în acest trial. Terapia indusă nu a condus la diferențe semnificative (Marcellin 2008) (Tabelul 9), confirmând datele mai vechi (Cornberg 2006).

Studiu (pacienti)	Grupul de pacienti	Regim de tratament	RVS
Bocepravir Non-responder brat control (Schiff 2008)	Nonresponder (zero-responder) la PEG-IFN/ribavirin	48 saptamani 1.5 µg/kg PEG-IFN α-2b + 800-1400 mg ribavirina	2%
EPIC ³ (Poy-nard 2008)	Nonresponder la PEG-IFN α-2a/ribavirina	48 saptamani 1.5 µg/kg PEG-IFN α-2b + 800-1400 mg ribavirina	6%
EPIC ³ (Poy-nard 2008)	Nonresponder la PEG-IFN α-2b/ribavirina	48 saptamani 1.5 µg/kg PEG-IFN α-2b + 800-1400 mg ribavirina	7%
REPEAT (Marcellin 2008)	Nonresponder la PEG-IFN α-2b/ribavirina	48 saptamani 180 µg PEG-IFN α-2a + 1000/1200 mg ribavirina	9%
REPEAT (Marcellin 2008)	Nonresponder la PEG-IFN α-2b/ribavirina	72 saptamani 180 µg PEG-IFN α-2a + 1000/1200 mg ribavirina	14%
REPEAT (Marcellin 2008)	Nonresponder la PEG-IFN α-2b/ribavirina	48 saptamani (Induction) 360/180µg PEG-IFN α-2a + 1000/1200 mg ribavirina	7%
REPEAT (Marcellin 2008)	Nonresponder la PEG-IFN α-2b/ribavirina	72 saptamani (Induction) 360/180µg PEG-IFN α-2a + 1000/1200 mg ribavirina	16%
(Jacobson 2005)	Nonresponder la IFN/ribavirina	48 saptamani 1.5 µg/kg PEG-IFN α-2b + 800 mg ribavirina	10%
(Jacobson 2005)	Nonresponder la IFN/ribavirina	48 saptamani 1.0 µg/kg PEG-IFN α-2b + 1000-1200 mg ribavirina	6%
HALT-C (Shiffman 2004)	Nonresponder la IFN/ribavirina	48 saptamani 180µg PEG-IFN α-2a + 1000-1200 mg ribavirina	12%

Tabelul 9. RVS după PEG-IFN/ribavirin la non-responderi.

Tratamentul de intretinere cu PEG-IFN

Au existat mai multe inițiative referitor la utilizarea terapiei de susținere cu PEG-IFN în doze mici, datele sugerând că IFN poate stopa progresia afectării hepatice (Nishiguchi 1995). Sunt două studii majore care au analizat efectul tratamentului de susținere cu IFN asupra evoluției hepatitei cronice C. Colchicina vs. PEG-interferon alfa-2b este un studiu pe termen lung (COPILOT) condus de Afdhal și colaboratorii care a comparat doze mici de 0.5 µg/kg PEG-IFN α-2b cu colchicina la pacienții non-responderi anterior tratați cu IFN standard sau PEG-IFN cu ribavirina și care aveau scor fibroză Ishak >3. Comparativ nu există nici o diferență semnificativă cu privire la supraviețuirea între grupul tratat cu PEG-IFN și cel tratat cu colchicina.

Cu toate acestea o analiză de intenție de tratament a evidențiat că între pacienții cu hipertensiune portală (varice sau gastropatie portal hipertensivă), există o tendință de superioritate a tratamentului cu PEG-IFN versus colchicina (Afdhal 2008). Autorii concluzionează că terapia de susținere poate avea un rol la pacienții cu hipertensiune portală. Cu toate acestea alte analize precum cea asupra extinderii utilizării beta-blocanților sunt în așteptare și există alte întrebări care necesită răspuns înaintea unor concluzii finale.

Alt studiu, HALT-C, este un tratament pe termen lung susținut de către Institutul Național de Sănătate ce evaluează o cohortă mare de pacienți infectați cronic VHC care anterior au avut eșec terapeutic cu IFN și sunt în stadiul METAVIR F2-F4. Pacienții au primit 90 μg PEG-IFN α-2a tratament de susținere dacă nu au răspuns în timpul primelor 20 de săptămâni de terapie standard. În ciuda faptului că există o scădere importantă a viremiei, a alanil aminotransferazei și a necroinflamatiei la pacienții care au primit PEG-IFN, nici unul din parametrii clinici importanți (rata deceselor, decompensarea, carcinomul hepatocelular și scăderea fibrozei) nu sunt influențate favorabil de tratamentul cu PEG-IFN (Di Bisceglie 2007). În concluzie, tratamentul pe termen lung cu doze scăzute de PEG-IFN nu este recomandat pentru pacienții non-responderi.

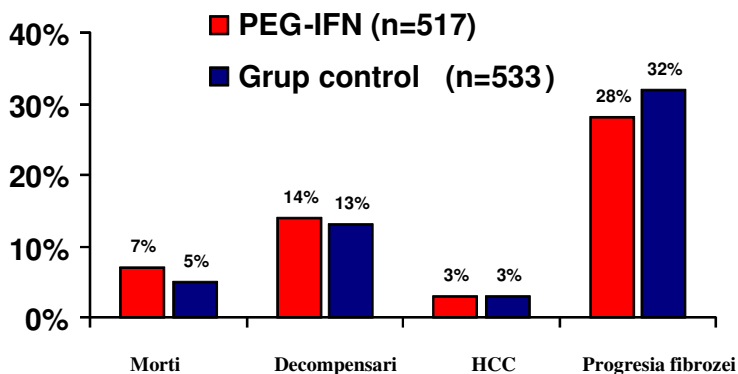


Figura 3. Rezultatele studiului HALT-C. Eficacitatea tratamentului cu doze scăzute de (90 μg/săptămână) PEG-IFN alpha-2a pe termen lung (3.5 ani) la pacienții non-responderi (Di Bisceglie 2007).

Referințe

- Afdhal N, Rodriguez-Torres M, Lawitz E *et al.* Enhanced antiviral efficacy for valopicitabine (NM283) plus PEG-Interferon in hepatitis C patients with HCV genotype-1 infection: Results of a phase IIa multicenter trial. *J Hepatol* 2005;42:39-40.
- Afdhal NH, Dieterich DT, Pockros PJ *et al.* Epoetin alfa maintains ribavirin dose in HCV-infected patients: a prospective, double-blind, randomized controlled study. *Gastroenterology* 2004;126(5):1302-11.
- Afdhal NH, Levine R, Brown R *et al.* Colchicine versus PEG-interferon alfa 2b long term therapy: Results of the 4 year copilot trial. *Journal of Hepatology* 2008;48:S4.

- Aghemo A, Rumi MG, Soffredini R *et al.* Impaired response to interferon-alpha2b plus ribavirin in cirrhotic patients with genotype 3a hepatitis C virus infection. *Antivir Ther* 2006;11(6):797-802.
- Bacon BR. Treatment of patients with hepatitis C and normal serum aminotransferase levels. *Hepatology* 2002;36(5 Suppl 1):S179-S184.
- Benhamou Y, Pockros P, Rodriguez-Torres M *et al.* The safety and efficacy of Viramidine((R)) plus pegylated interferon alpha-2B versus ribavirin plus pegylated interferon alpha-2B in therapy-naive patients infected with HCV: Phase 3 results. *Journal of Hepatology* 2006;44:S273.
- Berenguer M. What determines the natural history of recurrent hepatitis C after liver transplantation? *J Hepatol* 2005;42(4):448-56.
- Berg T, Kronenberger B, Hinrichsen H *et al.* Triple therapy with amantadine in treatment-naive patients with chronic hepatitis C: a placebo-controlled trial. *Hepatology* 2003;37(6):1359-67.
- Berg T, Sarrazin C, Herrmann E *et al.* Prediction of treatment outcome in patients with chronic hepatitis C: significance of baseline parameters and viral dynamics during therapy. *Hepatology* 2003;37(3):600-9.
- Berg T, von Wagner M, Nasser S *et al.* Extended treatment duration for hepatitis C virus type 1: comparing 48 versus 72 weeks of peginterferon-alfa-2a plus ribavirin. *Gastroenterology* 2006;130(4):1086-97.
- Blatt LM, Davis JM, Klein SB *et al.* The biologic activity and molecular characterization of a novel synthetic interferon-alpha species, consensus interferon. *J Interferon Cytokine Res* 1996;16(7):489-99.
- Boker KH, Dalley G, Bahr MJ *et al.* Long-term outcome of hepatitis C virus infection after liver transplantation. *Hepatology* 1997;25(1):203-10.
- Brillanti S, Levantesi F, Masi L *et al.* Triple antiviral therapy as a new option for patients with interferon nonresponsive chronic hepatitis C. *Hepatology* 2000;32(3):630-4.
- Broers B, Helbling B, Francois A *et al.* Barriers to interferon-alpha therapy are higher in intravenous drug users than in other patients with acute hepatitis C. *J Hepatol* 2005;42(3):323-8.
- Bruchfeld A, Lindahl K, Schvarcz R *et al.* Dosage of ribavirin in patients with hepatitis C should be based on renal function: a population pharmacokinetic analysis. *Ther Drug Monit* 2002;24(6):701-8.
- Bruchfeld A, Stahle L, Andersson J *et al.* Ribavirin treatment in dialysis patients with chronic hepatitis C virus infection--a pilot study. *J Viral Hepat* 2001;8(4):287-92.
- Chalasani N, Manzarbeitia C, Ferenci P *et al.* Peginterferon alfa-2a for hepatitis C after liver transplantation: two randomized, controlled trials. *Hepatology* 2005;41(2):289-98.
- Choo QL, Kuo G, Weiner AJ *et al.* Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science* 1989;244(4902):359-62.
- Cornberg M, Hadem J, Herrmann E *et al.* Treatment with daily consensus interferon (CIFN) plus ribavirin in non-responder patients with chronic hepatitis C: A randomized open-label pilot study. *J Hepatol* 2006;44(2):291-301.
- Cornberg M, Hinrichsen H, Teuber G *et al.* Mycophenolate mofetil in combination with recombinant interferon alfa-2a in interferon-nonresponder patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2002;37(6):843-7.
- Cornberg M, Huppe D, Wiegand J *et al.* [Treatment of chronic hepatitis C with PEG-interferon alpha-2b and ribavirin: 24 weeks of therapy are sufficient for HCV genotype 2 and 3]. *Z Gastroenterol* 2003;41(6):517-22.
- Cornberg M, Wedemeyer H, Manns MP. Treatment of chronic hepatitis C with PEGylated interferon and ribavirin. *Curr Gastroenterol Rep* 2002;4(1):23-30.

- Dalekos GN, Wedemeyer H, Obermayer-Straub P *et al*. Epitope mapping of cytochrome P450D6 autoantigen in patients with chronic hepatitis C during alpha-interferon treatment. *J Hepatol* 1999;30(3):366-75.
- Dalgard O, Bjoro K, Hellum KB *et al*. Treatment with pegylated interferon and ribavirin in HCV infection with genotype 2 or 3 for 14 weeks: a pilot study. *Hepatology* 2004;40(6):1260-5.
- Dalgard O, Bjoro K, Ring-Larsen H *et al*. Pegylated interferon alfa and ribavirin for 14 versus 24 weeks in patients with hepatitis C virus genotype 2 or 3 and rapid virological response. *Hepatology* 2008;47(1):35-42.
- Davis GL, Albright JE, Cook SF *et al*. Projecting future complications of chronic hepatitis C in the United States. *Liver Transpl* 2003;9(4):331-8.
- Davis GL, Rodrigue JR. Treatment of chronic hepatitis C in active drug users. *N Engl J Med* 2001;345(3):215-7.
- Davis GL, Wong JB, McHutchison JG *et al*. Early virologic response to treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38(3):645-52.
- Di Bisceglie AM, Shiffman ML, Everson GT *et al*. Prolonged Antiviral Therapy With Peginterferon to Prevent Complications of Advanced Liver Disease Associated With Hepatitis C: Results of the Hepatitis C Antiviral Long-term Treatment against Cirrhosis (HALT-C) Trial. *Hepatology* 2007;46(4):80A.
- Dumortier J, Scoazec JY, CVHEallier P *et al*. Treatment of recurrent hepatitis C after liver transplantation: a pilot study of peginterferon alfa-2b and ribavirin combination. *J Hepatol* 2004;40(4):669-74.
- Everson GT. Treatment of chronic hepatitis C in patients with decompensated cirrhosis. *Rev Gastroenterol Disord* 2004;4 Suppl 1:S31-S38.
- Fabrizi F, Poordad FF, Martin P. Hepatitis C infection and the patient with end-stage renal disease. *Hepatology* 2002;36(1):3-10.
- Ferenci P, Laferl H, Scherzer TM *et al*. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 24 weeks in hepatitis C type 1 and 4 patients with rapid virological response. *Gastroenterology* 2008;135(2):451-8.
- Fleig WE, Krummenerl P, Lesske J *et al*. [Diagnosis, progression and therapy of hepatitis C virus infection as well as viral infection in children and adolescents--results of an evidenced based consensus conference of the German Society for Alimentary Metabolic Disorders and in cooperation with the Hepatitis Competence Network]. *Z Gastroenterol* 2004;42(8):703-4.
- Forns X, Garcia-Retortillo M, Serrano T *et al*. Antiviral therapy of patients with decompensated cirrhosis to prevent recurrence of hepatitis C after liver transplantation. *J Hepatol* 2003;39(3):389-96.
- Fried MW. Side effects of therapy of hepatitis C and their management. *Hepatology* 2002;36(5 Suppl 1):S237-S244.
- Fried MW, Shiffman ML, Reddy KR *et al*. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002;347(13):975-82.
- Gerlach JT, Diepolder HM, Zachoval R *et al*. Acute hepatitis C: high rate of both spontaneous and treatment-induced viral clearance. *Gastroenterology* 2003;125(1):80-8.
- Gish RG, Nelson D, Arora S *et al*. Virological response and safety outcomes in therapy-naive patients treated for chronic hepatitis C with viramidine in combination with pegylated interferon alfa-2a. *J Hepatol* 2005;42:39.
- Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR *et al*. Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004;140(5):346-55.

- Hinrichsen H, Benhamou Y, Wedemeyer H *et al.* Short-term antiviral efficacy of BILN 2061, a hepatitis C virus serine protease inhibitor, in hepatitis C genotype 1 patients. *Gastroenterology* 2004;127(5):1347-55.
- Hofer H, Watkins-Riedel T, Janata O *et al.* Spontaneous viral clearance in patients with acute hepatitis C can be predicted by repeated measurements of serum viral load. *Hepatology* 2003;37(1):60-4.
- Hoofnagle JH, Mullen KD, Jones DB *et al.* Treatment of chronic non-A,non-B hepatitis with recombinant human alpha interferon. A preliminary report. *N Engl J Med* 1986;315(25):1575-8.
- Jacobson IM, Brown RS, Jr., Freilich B *et al.* Peginterferon alfa-2b and weight-based or flat-dose ribavirin in chronic hepatitis C patients: a randomized trial. *Hepatology* 2007;46(4):971-81.
- Jacobson IM, Gonzalez SA, Ahmed F *et al.* A randomized trial of pegylated interferon alpha-2b plus ribavirin in the retreatment of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol* 2005;100(11):2453-62.
- Jaeckel E, Cornberg M, Wedemeyer H *et al.* Treatment of acute hepatitis C with interferon alfa-2b. *N Engl J Med* 2001;345(20):1452-7.
- Janssen HL, Brouwer JT, van der Mast RC *et al.* Suicide associated with alfa-interferon therapy for chronic viral hepatitis. *J Hepatol* 1994;21(2):241-3.
- Jensen DM, Morgan TR, Marcellin P *et al.* Early identification of HCV genotype 1 patients responding to 24 weeks peginterferon alpha-2a (40 kd)/ribavirin therapy. *Hepatology* 2006;43(5):954-60.
- Kaiser S, Hass HG, Gregor M. Successful retreatment of interferon/ribavirin nonresponders with daily dosing of consensus interferon. *J Hepatol* 2005;42 (Suppl. 2):207-8.
- Kamal SM, El Tawil AA, Nakano T *et al.* Peginterferon {alpha}-2b and ribavirin therapy in chronic hepatitis C genotype 4: impact of treatment duration and viral kinetics on sustained virological response. *Gut* 2005;54(6):858-66.
- Kraus MR, Schafer A, Schottker K *et al.* Therapy of interferon-induced depression in chronic hepatitis C with citalopram: a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Gut* 2008;57(4):531-6.
- Lau JY, Tam RC, Liang TJ *et al.* Mechanism of action of ribavirin in the combination treatment of chronic HCV infection. *Hepatology* 2002;35(5):1002-9.
- Lisker-Melman M, Di Bisceglie AM, Usala SJ *et al.* Development of thyroid disease during therapy of chronic viral hepatitis with interferon alfa. *Gastroenterology* 1992;102(6):2155-60.
- Lohmann V, Korner F, Koch J *et al.* Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line. *Science* 1999;285(5424):110-3.
- Mangia A, Minerva N, Bacca D *et al.* Individualized treatment duration for hepatitis C genotype 1 patients: A randomized controlled trial. *Hepatology* 2008;47(1):43-50.
- Mangia A, Santoro R, Minerva N *et al.* Peginterferon alfa-2b and ribavirin for 12 vs. 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med* 2005;352(25):2609-17.
- Manns M, Lindsay KL, Gordon SC *et al.* Sustained virologic response after peginterferon alfa-2b and ribavirin treatment predicts long-term clearance of HCV at 5-year follow-up. *Journal of Hepatology* 2008;48:S300.
- Manns MP, Berg T, Wedemeyer H *et al.* Immunization with the therapeutic hepatitis C virus (HCV) peptide vaccine IC41 in 66 chronic hepatitis C non-responder patients. *Hepatology* 2004;40(4):251A.
- Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC *et al.* Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001;358(9286):958-65.

- Manns MP, Meyer S, Wedemeyer H. The German network of excellence for viral hepatitis (Hep-Net). *Hepatology* 2003;38(3):543-4.
- Marazuela M, Garcia-Buey L, Gonzalez-Fernandez B *et al.* Thyroid autoimmune disorders in patients with chronic hepatitis C before and during interferon-alpha therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996;44(6):635-42.
- Marcellin P, Freilich B, Andreone P *et al.* HCV-RNA status at week 12 of treatment with peginterferon alfa-2a/RBV predicts SVR in patients with prior non-response to pegylated interferon alfa-2b/RBV: Results from repeat study. *Journal of Hepatology* 2008;48:S301.
- Marcellin P, Lurie Y, Rodrigues-Torres M *et al.* The safety and efficacy of taribavirin plus pegylated interferon alfa-2a versus ribavirin plus pegylated interferon alfa-2a in therapy-naive patients infected with hcv: Phase 3 results. *Journal of Hepatology* 2007;46:S7.
- Mauss S, Berger F, Felten G *et al.* Peginterferon alfa-2a versus peginterferon alfa-2b in the treatment of chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2005;42:213.
- Mazzaro C, Zorat F, Caizzi M *et al.* Treatment with peg-interferon alfa-2b and ribavirin of hepatitis C virus-associated mixed cryoglobulinemia: a pilot study. *J Hepatol* 2005;42(5):632-8.
- McHutchison JG, Dusheiko G, Shiffman ML *et al.* Eltrombopag for thrombocytopenia in patients with cirrhosis associated with hepatitis C. *N Engl J Med* 2007;357(22):2227-36.
- McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER *et al.* Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group. *N Engl J Med* 1998;339(21):1485-92.
- McHutchison JG, Manns M, Patel K *et al.* Adherence to combination therapy enhances sustained response in genotype-1-infected patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2002;123(4):1061-9.
- McHutchison JG, Shiffman ML, Gordon SC *et al.* Sustained virologic response (SVR) to interferon-alpha-2b +/- ribavirin therapy at 6 months reliably predicts long-term clearance of HCV at 5-year follow-up. *Journal of Hepatology* 2006;44:S275.
- Misiani R, Bellavita P, Fenili D *et al.* Interferon alfa-2a therapy in cryoglobulinemia associated with hepatitis C virus. *N Engl J Med* 1994;330(11):751-6.
- Musselman DL, Lawson DH, Gumnick JF *et al.* Paroxetine for the prevention of depression induced by high-dose interferon alfa. *N Engl J Med* 2001;344(13):961-6.
- Neff GW, Montalbano M, O'Brien CB *et al.* Treatment of established recurrent hepatitis C in liver-transplant recipients with pegylated interferon-alfa-2b and ribavirin therapy. *Transplantation* 2004;78(9):1303-7.
- Nevens F, Roskams T, Van Vlierberghe H *et al.* A pilot study of therapeutic vaccination with envelope protein E1 in 35 patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38(5):1289-96.
- Nishiguchi S, Kuroki T, Nakatani S *et al.* Randomised trial of effects of interferon-alpha on incidence of hepatocellular carcinoma in chronic active hepatitis C with cirrhosis. *Lancet* 1995;346(8982):1051-5.
- O'Brien C, Godofsky E, Rodriguez-Torres M *et al.* Randomized trial of valopicitabine (NM283), alone or with peg-interferon, vs. retreatment with peg-interferon plus ribavirin (pegifn/RBV) in hepatitis C patients with previous non-response to pegifn/RBV: First interim results. *Hepatology* 2005;42(4):234A.
- Ozes ON, Reiter Z, Klein S *et al.* A comparison of interferon-Con1 with natural recombinant interferons-alpha: antiviral, antiproliferative, and natural killer-inducing activities. *J Interferon Res* 1992;12(1):55-9.
- Pawlotsky JM. Use and interpretation of virological tests for hepatitis C. *Hepatology* 2002;36(5 Suppl 1):S65-S73.

- Pearlman BL, Ehleben C, Saifee S. Treatment extension to 72 weeks of peginterferon and ribavirin in hepatitis c genotype 1-infected slow responders. *Hepatology* 2007;46(6):1688-94.
- Pedder SC. Pegylation of interferon alfa: structural and pharmacokinetic properties. *Semin Liver Dis* 2003;23 Suppl 1:19-22.
- Perelson AS, Ribeiro RM. Mutagenic effects of ribavirin in vivo. *J Hepatol* 2005;43(4):553-5.
- Pischke S, Cornberg M, Manns MP. [Hepatitis associated cryoglobulinemia.]. *Internist (Berl)* 2008;49(3):297-304.
- Poynard T, Marcellin P, Lee SS *et al*. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. International Hepatitis Interventional Therapy Group (IHIT). *Lancet* 1998;352(9138):1426-32.
- Poynard T, Schiff E, Terg R *et al*. Sustained viral response (SVR) is dependent on baseline characteristics in the retreatment of previous alfa interferon/ribavirin (I/R) nonresponders (NR): Final results from the epic3 program. *Journal of Hepatology* 2008;48:S369.
- Reddy KR, Shiffman ML, Morgan TR *et al*. Impact of ribavirin dose reductions in hepatitis C virus genotype 1 patients completing peginterferon alfa-2a/ribavirin treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5(1):124-9.
- Reesink HW, Zeuzem S, van Vliet A *et al*. Initial results of a phase 1B, multiple-dose study of VX-950, a hepatitis C virus protease inhibitor. *Gastroenterology* 2005;128 (Suppl.2):A-697.
- Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nat Rev Immunol* 2005;5(3):215-29.
- Reiser M, Hinrichsen H, Benhamou Y *et al*. Antiviral efficacy of NS3-serine protease inhibitor BILN-2061 in patients with chronic genotype 2 and 3 hepatitis C. *Hepatology* 2005;41(4):832-5.
- Rodriguez-Luna H, Khatib A, Sharma P *et al*. Treatment of recurrent hepatitis C infection after liver transplantation with combination of pegylated interferon alpha2b and ribavirin: an open-label series. *Transplantation* 2004;77(2):190-4.
- Sanchez-Tapias JM, Diago M, Escartin P *et al*. Longer treatment duration with peginterferon alfa-2A (40kd) (Pegasys (R)) and ribavirin (Copegus (R)) in naive patients with chronic hepatitis C and detectabel HCV RNA by week 4 of therapy: Final results of the randomized, multicenter TeraViC-4 study. *Hepatology* 2004;40(4):218A.
- Sanchez-Tapias JM, Diago M, Escartin P *et al*. Peginterferon-alfa2a plus ribavirin for 48 versus 72 weeks in patients with detectabel hepatitis C virus RNA at week 4 of treatment. *Gastroenterology* 2006;131(2):451-60.
- Santantonio T, Fasano M, Sinisi E *et al*. Efficacy of a 24-week course of PEG-interferon alpha-2b monotherapy in patients with acute hepatitis C after failure of spontaneous clearance. *J Hepatol* 2005;42(3):329-33.
- Sarrazin C, Kieffer T, Bartels D *et al*. Characterization of viral variants in the HCV NS3 protease domain of genotype 1 patients that are selected during 14 days of dosing with VX-950. *Hepatology* 2005;42(4):751A.
- Schaefer M, Schwaiger M, Garkisch AS *et al*. Prevention of interferon-alpha associated depression in psychiatric risk patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2005;42(6):793-8.
- Schiff E, Poordad E, Jacobson I *et al*. Boceprevir (B) combination therapy in null responders (NR): Response dependent on interferon responsiveness. *Journal of Hepatology* 2008;48:S46.

- Shiffman ML, Di Bisceglie AM, Lindsay KL *et al*. Peginterferon alfa-2a and ribavirin in patients with chronic hepatitis C who have failed prior treatment. *Gastroenterology* 2004;126(4):1015-23.
- Shiffman ML, Hofmann CM, Luketic VA *et al*. Use of granulocyte macrophage colony stimulating factor alone or in combination with interferon-alpha-2b for treatment of chronic hepatitis C. *J Hepatol* 1998;28(3):382-9.
- Shiffman ML, Salvatore J, Hubbard S *et al*. Treatment of chronic hepatitis C virus genotype 1 with peginterferon, ribavirin, and epoetin alpha. *Hepatology* 2007;46(2):371-9.
- Shiffman ML, Suter F, Bacon BR *et al*. Peginterferon alfa-2a and ribavirin for 16 or 24 weeks in HCV genotype 2 or 3. *N Engl J Med* 2007;357(2):124-34.
- Sintchak MD, Nimmesgern E. The structure of inosine 5'-monophosphate dehydrogenase and the design of novel inhibitors. *Immunopharmacology* 2000;47(2-3):163-84.
- Sjogren MH, Sjogren R, Holtzmueller K *et al*. Interferon alfacon-1 and ribavirin versus interferon alpha-2b and ribavirin in the treatment of chronic hepatitis C. *Dig Dis Sci* 2005;50(4):727-32.
- Smith JP. Treatment of chronic hepatitis C with amantadine. *Dig Dis Sci* 1997;42(8):1681-7.
- Snoeck E, Wade JR, Duff F *et al*. Predicting sustained virological response and anaemia in chronic hepatitis C patients treated with peginterferon alfa-2a (40KD) plus ribavirin. *Br J Clin Pharmacol* 2006;62(6):699-709.
- Soza A, Everhart JE, Ghany MG *et al*. Neutropenia during combination therapy of interferon alfa and ribavirin for chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36(5):1273-9.
- Svensson JO, Bruchfeld A, Schvarcz R *et al*. Determination of ribavirin in serum using highly selective solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *Ther Drug Monit* 2000;22(2):215-8.
- Swain MG, Lai MY, Shiffman ML *et al*. Durable sustained virological response after treatment with peginterferon alpha-2a (PEGASYS (R)) alone or in combination with ribavirin (COPEGUS (R)): 5-year follow-up and the criteria of a cure. *Journal of Hepatology* 2007;46:S3.
- Tassopoulos NC. Treatment of patients with chronic hepatitis C and normal ALT levels. *J Hepatol* 1999;31 Suppl 1:193-6.
- Terrault NA. Prophylactic and preemptive therapies for hepatitis C virus-infected patients undergoing liver transplantation. *Liver Transpl* 2003;9(11):S95-S100.
- Todros L, Saracco G, Durazzo M *et al*. Efficacy and safety of interferon alfa therapy in chronic hepatitis C with autoantibodies to liver-kidney microsomes. *Hepatology* 1995;22(5):1374-8.
- Tong MJ, Reddy KR, Lee WM *et al*. Treatment of chronic hepatitis C with consensus interferon: a multicenter, randomized, controlled trial. Consensus Interferon Study Group. *Hepatology* 1997;26(3):747-54.
- Van Thiel DH, Faruki H, Friedlander L *et al*. Combination treatment of advanced HCV associated liver disease with interferon and G-CSF. *Hepatogastroenterology* 1995;42(6):907-12.
- Veldt BJ, Heathcote EJ, Wedemeyer H *et al*. Sustained virologic response and clinical outcomes in patients with chronic hepatitis C and advanced fibrosis. *Ann Intern Med* 2007;147(10):677-84.
- Vogel W, Graziadei I, Umlauf F *et al*. High-dose interferon-alpha2b treatment prevents chronicity in acute hepatitis C: a pilot study. *Dig Dis Sci* 1996;41(12 Suppl):81S-5S.
- von Wagner M, Hofmann WP, Teuber G *et al*. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of peginterferon alfa-2a (40KD) and ribavirin with and without 400 mg amantadine-sulphate for 48 weeks in treatment naive HCV genotype 1-infected patients. *Hepatology* 2007;46(4):342A-3A.

- von Wagner M, Huber M, Berg T *et al.* Peginterferon-alpha-2a (40KD) and ribavirin for 16 or 24 weeks in patients with genotype 2 or 3 chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005;129(2):522-7.
- Wakita T, Pietschmann T, Kato T *et al.* Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome. *Nat Med* 2005;11(7):791-6.
- Watson J. Prospects for hepatitis C virus therapeutics: levovirin and viramidine as improved derivatives of ribavirin. *Curr Opin Investig Drugs* 2002;3(5):680-3.
- Wedemeyer H, He XS, Nascimbeni M *et al.* Impaired effector function of hepatitis C virus-specific CD8+ T cells in chronic hepatitis C virus infection. *J Immunol* 2002;169(6):3447-58.
- Wesche B, Jaeckel E, Trautwein C *et al.* Induction of autoantibodies to the adrenal cortex and pancreatic islet cells by interferon alpha therapy for chronic hepatitis C. *Gut* 2001;48(3):378-83.
- Wiegand J, Buggisch P, Boecher W *et al.* Early monotherapy with pegylated interferon alfa-2b for acute hepatitis C infection: The HEP-NET Acute-HCV-II Study. *Hepatology* 2006;43(2):250-6.
- Zeuzem S, Buti M, Ferenci P *et al.* Efficacy of 24 weeks treatment with peginterferon alfa-2b plus ribavirin in patients with chronic hepatitis C infected with genotype 1 and low pretreatment viremia. *J Hepatol* 2006;44(1):97-103.
- Zeuzem S, Diago M, Gane E *et al.* Peginterferon alfa-2a (40 kilodaltons) and ribavirin in patients with chronic hepatitis C and normal aminotransferase levels. *Gastroenterology* 2004;127(6):1724-32.
- Zeuzem S, Feinman SV, Rasenack J *et al.* Peginterferon alfa-2a in patients with chronic hepatitis C. *N Engl J Med* 2000;343(23):1666-72.
- Zeuzem S, Hultcrantz R, Bourliere M *et al.* Peginterferon alfa-2b plus ribavirin for treatment of chronic hepatitis C in previously untreated patients infected with HCV genotypes 2 or 3. *J Hepatol* 2004;40(6):993-9.
- Zeuzem S, Sarrazin C, Rouzier R *et al.* Anti-viral activity of SCH 503034, a HCV protease inhibitor, administered as monotherapy in hepatitis C genotype-1 (HCV-1) patients refractory to pegylated interferon (PEG-IFN-alpha). *Hepatology* 2005;42(4):233A-4A.
- Zeuzem S, Sarrazin C, Wagner F *et al.* Combination therapy with the HCV protease inhibitor, SCH 503034, plus peg-intron in hepatitis C genotype-1 peg-intron non-responders: Phase IB results. *Hepatology* 2005;42(4):276A-7A.
- Zeuzem S, Yoshida EM, Benhamou Y *et al.* Albinterferon alfa-2b dosed every two or four weeks in interferon-naive patients with genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2008;48(2):407-17.
- Zignego AL, Ferri C, Pileri SA *et al.* Extrahepatic manifestations of Hepatitis C Virus infection: a general overview and guidelines for a clinical approach. *Dig Liver Dis* 2007;39(1):2-17.

Capitolul 14: Noi agenti terapeutici

Christian Lange and Christoph Sarrazin

Introducere

Tratamentul hepatitei virale C a avut o evolutie ascendenta din momentul izolarii virusului in anul 1989. De la introducerea monoterapiei cu IFN alfa pana la tratamentul combinat actual INF alfa pegylat plus ribavirina, a crescut in mod semnificativ raspunsul virusologic sustinut (RVS), adica obtinerea unei valori nedetectabile a incarcaturii virale la 24 de saptamani de la terminarea tratamentului (McHutchison 1998; Manns 2001; Fried 2002). Cu toate acestea, aproape jumatate dintre pacientii cu hepatita C nu obtin raspuns virusologic sustinut. In prezent, succesul tratamentului depinde de genotipul viral, 40-50% dintre pacientii cu genotip 1 obtin RVS, iar cei cu genotipul 2 sau 3 ajung la RVS in aproximativ 80% din cazuri (Manns 2001; Fried 2002; Hadziyannis 2004; McHutchison 2004) (Fried 2002). Tratamentul cu interferon alfa plus ribavirina este de lunga durata (mai mult de 72 de saptamani) si prezinta numeroase efecte secundare care duc la intreruperea timpurie a acestuia la mai mult de 20% dintre pacienti, in plus alti pacienti prezinta contraindicatii la terapia cu interferon datorita asociierilor patologice.

Cunoasterea cu ajutorul analizei cristalografice si a sistemelor de cultivare a ciclului replicativ viral si a structurii externe proteice a VHC, a dus la dezvoltarea unor posibile medicamente specifice antivirale pentru virusul hepatitei C (STAT-C) (Kim 1996; Lohmann 1999; Lindenbach 2005; Wakita 2005) (Figura 1; Tabelul 1).

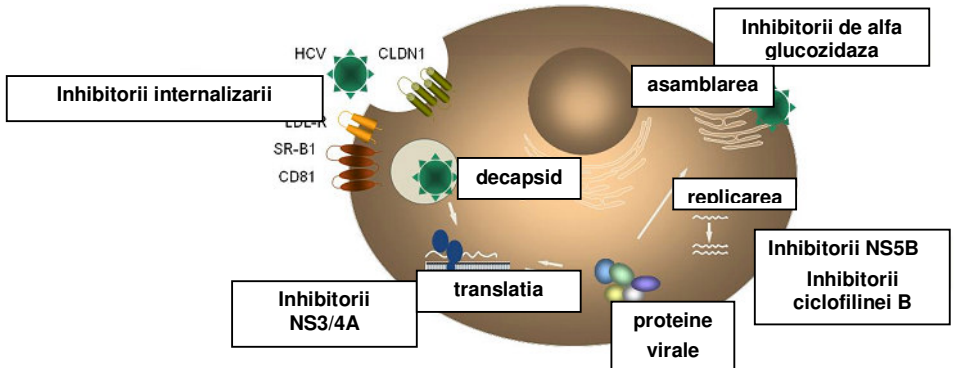


Figura 1. Ciclul replicativ VHC si componente tinta pentru STAT-C

Numele medicamentului	Compania	Faza studiului
Inhibitori de proteaza NS3/4A		
Ciluprevir (BILN 2061)	Boehringer Ingelheim	Incheiat
Telaprevir (VX-950)	Vertex	Faza III
Boceprevir (SCH503034)	Schering-Plough	Faza III
TMC435350	Tibotec & Medivir	Faza II
ITMN-191 (R7227)	InterMune, Roche	Faza II
VX-500	Vertex	Faza II
MK-7009	Merck	Faza II
BILN 12202	Boehringer Ingelheim	Faza II
Inhibitori nucleozidici ai polimerazei NS5B		
Valopicitabine (NM283)	Idenix/Novartis	Terminat
R7128 (prodrug) / PSI-6130	Roche /Pharmaset	Faza I
MK-0608	Merck	Faza I
R1626 (prodrug) / R1479	Roche	Terminat
Inhibitori non-nucleozidici ai polimerazei NS5B		
HCV-796	ViroPharma/Wyeth	Faza II
BILB 1941	Boehringer Ingelheim	Terminat
PF-868554	Pfizer	Faza I
GS 9190	Gilead	Faza I
GSK625433	GlaxoSmithKline	Faza I
VCH-759	ViroChem Pharma	Faza I
Inhibitori NS5A		
BMI-790052	BMI	Faza I
Inhibitori ai proteinelor gazda		
Celgosivir (α -glucosidase inhibitor)	Migenix	Faza II
Debio-025 (cyclophilin B inhibitor)	Debiopharm	Faza II
Nitazoxanide (unknown mechanism)	Romark Laboratories	Faza II

Tabelul 1. Medicamente antivirale studiate.

Cateva medicamente sunt in prezent in faza I-III de testare si vor schimba in mod esential optiunile tratamentului standard ale infectiei VHC. In urmatorul paragraf va fi prezentat ciclul replicativ viral, componentele tinta STAT-C care sunt

momentan in studiu, detaliindu-se noile descoperiri terapeutice pentru optimizarea eficientei si a profilului de siguranta a tratamentului cu IFN alfa si ribavirina.

Ciclul replicativ VHC si componentele tinta pentru STAT-C

VHC este un virus ARN monocatenar, cu polaritate pozitiva, alcatuit din aproximativ 9600 de nucleotide. Genomul VHC contine un singur cadru deschis de citire care codifica o poliproteina formata din 3100 aminoacizi. Poliproteina este procesata de catre polimerazele virale si ale gazdei in proteine structurale: core (C), proteinele anvelopei (E1, E2) si sase proteine nonstructurale: NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A si NS5B. Proteina core formeaza nucleocapsida virala, care cuprinde si proteinele E1 si E2, receptori in procesul de adsorbtie si internalizare virala. Proteinele nestructurale au in principal functie enzimatica in ciclul replicativ viral (Bartenschlager 2004; Pawlotsky 2007). P7 este o proteina mica hidrofoba care polimerizeaza intr-un hexamer circular, formand un canal ionic in membrana lipidica virala (Carrere-Kremer 2002; Clarke 2006). Secventa tradusa a virusului este marginita de doua regiuni inalt conservate, netraduse: 3' si 5'. Regiunea 5'NC este alcatuita din patru domenii structurale care formeaza situsul intern de intrare in ribozomi (IRES), cu rol important in replicarea virala (Figura 2).

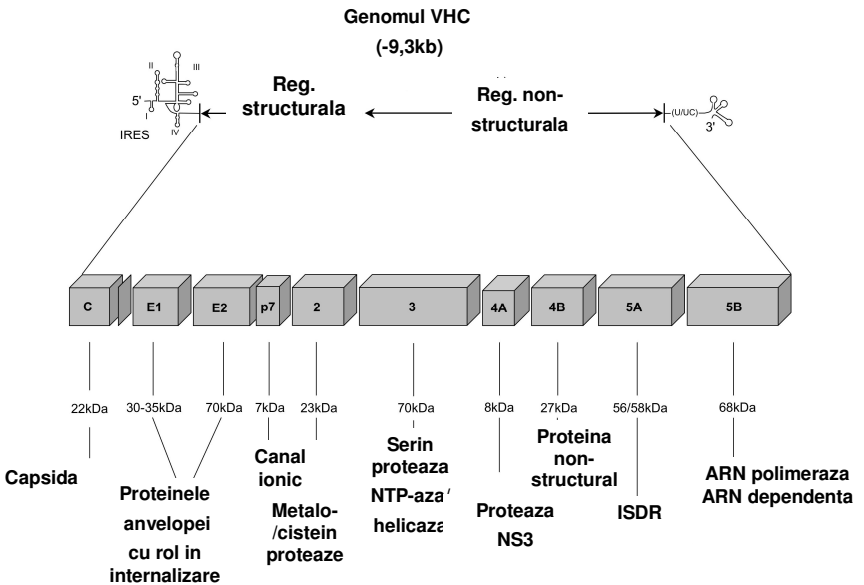


Figura 2. Organizarea genomica a VHC

Adsorbția și internalizarea virusului

Biologia moleculară a adsorbției și a internalizării virale

Internalizarea VHC are loc prin endocitoza mediata clatrin, inițiată de interacțiunea specifică dintre E1 și E2 și receptorii lor de pe suprafața celulei gazdă (Barth 2006; Bartosch 2006; Moradpour 2007). Posibile liganzi pentru E1 și E2 sunt : tetraspanina CD81, claudin-1, receptorul scavenger tipul 1 clasa B (SR-B1), receptorul LDL, glicozaminoglicanii, molecule de adeziune din celulele dendritice și limfoide (DC-SIGN/L-SIGN) (Pileri 1998; Bartosch 2003; Bartosch 2003; Lozach 2004; Diedrich 2006; Evans 2007).

Compușii țintă pentru procesele de adsorbție virală și internalizare

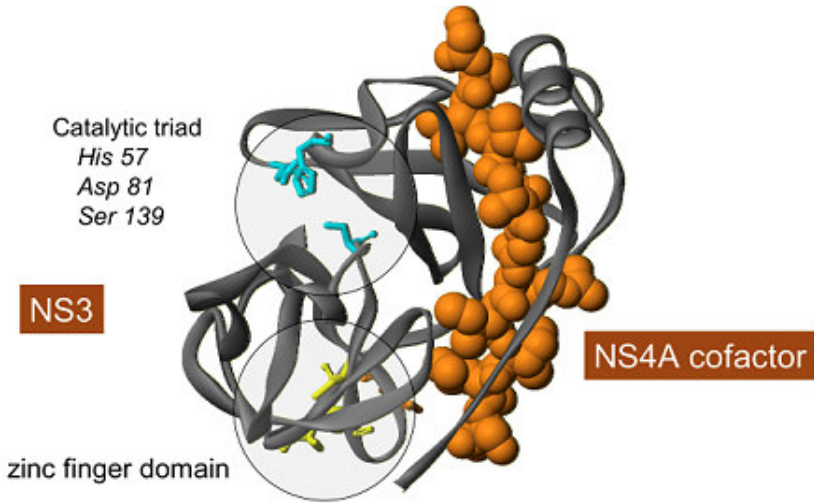
Inhibarea procesului de internalizare virală poate crește numărul opțiunilor terapeutice viitoare și poate fi obținut prin utilizarea unor anticorpi specifici sau a unor compuși moleculari care blochează fie proteinele E1 și E2, fie receptorii lor celulari. În prezent, sunt disponibile doar rezultatele unor trialuri clinice care utilizează anticorpi specifici policlonali (Civacir) (Davis 2005) sau anticorpi specifici monoclonali (VHC-AB68) (Schiano 2006), dar beneficiul clinic al acestor anticorpi nu a fost semnificativ. Dezvoltarea unor molecule inhibitorii ale procesului de internalizare se află în etapa de studiu preclinic și prezintă dificultăți în descrierea cristalografică a proteinelor anvelopei virale (VanCompernelle 2003).

Procesul de translație a ARN VHC și de traducere a proteinelor virale

Biologia moleculară a procesului de translație și de traducere a proteinei virale

După fuziunea virusului cu membrana celulară și decapsidarea acestuia - procesul de endocitoză mediata de receptor - ARN-ul viral monocatenar de polaritate pozitivă este eliberat în citoplasma și va servi ca ARNm în etapa de sinteză a poliproteinei precursoră. Procesul de translație a ARNm este coordonat de situsul intern de intrare în ribozomi (IRES), format din cele patru domenii structurale II-IV de la capatul 5' necodant (Collier 2002; Gallego 2002). Situsul intern de intrare în ribozomi mediază traducerea poliproteinei precursoră prin formarea unui complex stabil între subunitatea 40S, factorul eucariotic de inițiere și proteinele virale. Poliproteina precursoră este tradusă încă de la început, de către proteazele virale și ale gazdei, în trei proteine structurale și șapte proteine nonstructurale (Bartenschlager 2004). Cele două proteaze virale NS2 și NS3 sunt molecule țintă promitatoare pentru STAT-C. NS2 este o metaloproteinază care se clivează din proteina NS2/NS3, își pierde funcția și va ajuta la eliberarea proteinei NS3 (Lorenz 2006). NS3 are activitate serin proteazică și helicazică/ATP-azică. Domeniul serin-proteazic este alcătuit din două regiuni beta-sheet și patru alfa helixuri. Triada catalitică serin proteazică-histidina 57, asparagina 81, serina 139- este localizată

intr-un mic sant intre cele doua zone beta sheet (Kim 1996; Kim 1998). NS3 stabileste un complex strans cu amplificatorul si cofactorul sau, proteina NS4A, un complex strans care este esential asamblarii proteice specifice (Kim 1996) (Figure 3). Proteaza NS3/4A cliveaza legaturile dintre NS3/NS4A, NS4A/NS4B, NS4B/NS5A si NS5A/NS5B. Pe langa rolul principal in procesarea proteica, NS3 se integreaza in complexul replicativ ARN VHC, sustinand desfacerea ARN-ului viral cu ajutorul functiei sale de helicaza. NS3 poate avea un rol important in persistenta virala prin blocarea receptorilor toll like, inhiband in primul rand imunitatea innascuta si secundar caile de semnalizare pentru interferon (Meylan 2005; Kaukinen 2006; Malcolm 2006). Inhibarea farmacologica a NS3 poate asigura clearancelul viral prin restaurarea raspunsului imun innascut.



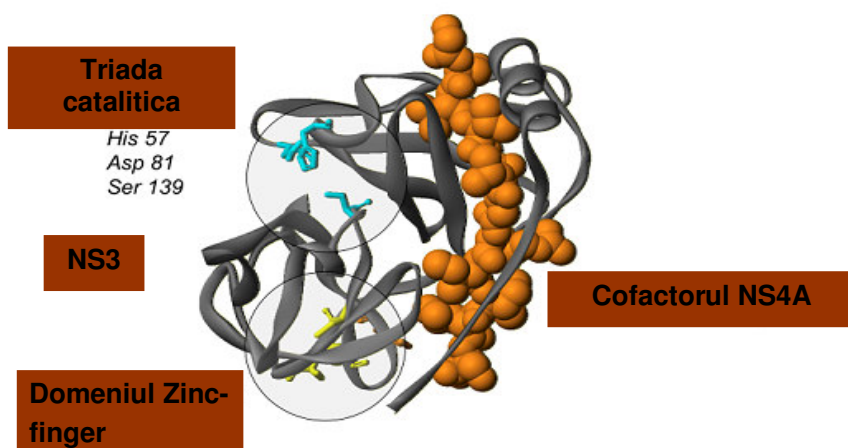


Figura 3. Structura moleculară a proteazei NS3/4A

Compusi tinta ai proceselor de translatie virale si ai procesarii proteice

Inhibitorii proteazei NS3/4A

Producerea compusilor care sa inhibe proteaza virala NS3/4A este dificila deoarece situsul activ al proteazei NS3/4A se afla intr-un mic sant intre cele doua axe beta ale proteazei. Sunt in studiu o serie de inhibitori ai proteazei NS3/4^o care sunt impartiti in doua clase chimice, inhibitori macrolitici si derivati alfa cetoaminici. Inhibitorii proteazei NS3/4A stopeaza replicarea virala in timpul monoterapiei si pot determina aparitia de mutante rezistente, ducand la reaparitia replicarii virale active. Administrarea suplimentara a interferonului si a ribavirinei scade frecventa de instalare a rezistentei virale. Pentru a preveni dezvoltarea rezistentei, strategiile terapeutice viitoare se axeaza pe tratamente combinate cu diferite medicamente antivirale. Cei mai promovati compusi sunt telaprevir si boceprevir care au ajuns in faza III a studiilor clinice (Figura 4).

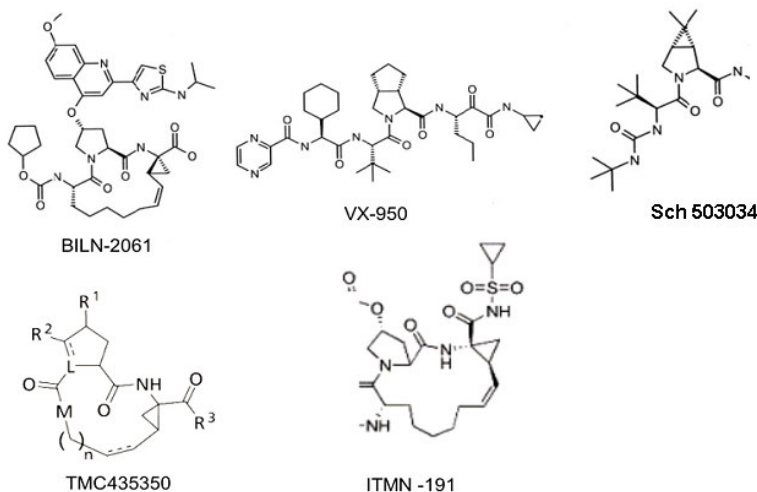


Figura 4. Structura moleculara a inhibitorilor de proteaza NS3/4A

Ciluprevir (BILN 2061)

Primul inhibitor NS3/4A testat clinic a fost ciluprevir (BILN 2061), care se administrează oral, este un medicament peptidomimetic, macrolitic care se leagă necovalent de centrul activ al enzimei (Lamarre 2003). Monoterapia cu ciluprevir a fost evaluată într-un studiu pilot, dublu orb, de tip control-placebo la pacienții naivi, cu genotipul 1, cu fibroza hepatică și ciroza compensată (Hinrichsen 2004). Ciluprevir a fost administrat în acest studiu, de două ori pe zi în doze cuprinse între 25 și 500/mg, obținându-se o scădere cu 2-3 \log_{10} a nivelului ARN VHC în ser, la majoritatea pacienților. De reținut faptul că stadiul bolii nu influențează eficiența antivirală a ciluprevirului. Tolerabilitatea și eficiența ciluprevirului a fost determinată la pacienții cu genotip 2 și 3 într-un studiu asemănător cu cel prezentat anterior, pentru a stabili influența genotipului VHC în tratamentul cu inhibitori ai proteazei. La pacienții cu genotip 2 sau 3, comparativ cu cei care au genotipul 1 activitatea antivirală a ciluprevirului a fost mai puțin pronunțată și constantă. (Reiser 2005), stabilindu-se astfel ca alți inhibitori ai proteazei studiați la pacienții cu genotipul 1, ar putea fi mai puțin eficienți în cazul altor genotipuri.

Cercetarea ciluprevirului a fost oprită din cauza cardiotoxicității, efect secundar observat pe modele animale, totuși acest medicament reprezintă dovada succesului supresiei replicării virale la pacienții cu hepatită cronică C.

Telaprevir (VX-950)

Telaprevirul este un inhibitor de proteaza NS3/4A peptidomimetic, derivat de alfa cetoamida, care formeaza legaturi covalente, reversibile cu enzima. Compusul are biudisponibilitate orala, iar timpul de injumatatire al complexului enzima-inhibitor este de 58 de minute (Lin 2006). In prezent, telaprevirul este in studiu de faza III.

Monoterapia cu Telaprevir in studiu de faza I

Un studiu clinic de faza Ib randomizat, dublu orb, placebo-control evalueaza monoterapia cu telaprevir, administrat mai mult de 14 zile, la pacientii cu infectie cronica cu genotipul 1 VHC (Reesink 2006). In acest studiu, au fost evaluate activitatea antivirala, profilul de siguranta, doza optima si farmacocinetica, pentru pacientii naivi, cei cu recaderi si cei non responderi la tratamentul standard. Telaprevirul a fost administrat intr-o doza de 450 mg sau 750 mg la fiecare opt ore sau 1250 mg la fiecare 12 ore, timp de 14 zile, fiind bine tolerat si ducand la o scadere rapida a nivelului de ARN VHC. Cel mai bun rezultat a fost obtinut la pacientii carora li s-a administrat o doza de 750 mg, rezultand o scadere mediana a incarcaturii virale de $4.4 \log_{10}$ dupa 14 zile de tratament. Totusi o noua crestere a incarcaturii virale apare la toti pacientii dupa terminarea tratamentului datorita selectei mutantelor rezistente, iar la unii chiar in timpul terapiei daca li se administreaza doze suboptimale.

Terapia combinata telaprevir/interferon alfa 2a in studiu de faza I

Al doilea studiu de faza I, investigheaza cinetica virala si dezvoltarea mutantelor rezistente la pacientii naivi cu genotip 1 VHC carora li s-a administrat monoterapia cu telaprevir si la cei cu tratament combinat: telaprevir plus IFN pegylat alfa 2a (Forestier 2007). Telaprevir a fost administrat in doze de 750 mg la 8 ore, dupa o doza de incarcature initiala de 1250 mg, fie singur, fie in combinatie cu IFN pegylat alfa 2a, comparativ cu alt lot de pacienti care a primit IFN pegylat alfa 2a singur. Tratamentul a durat timp de 14 zile si a determinat o scadere mediana a ARN VHC in ziua a 15 de administrare astfel: scaderea cu $1,09 \log_{10}$ la cei care au primit IFN pegylat alfa2a fata de grupul placebo; reducerea cu $3,99 \log_{10}$ la cei cu telaprevir fata de grupul placebo si cu $5,49 \log_{10}$ la cei cu terapie combinata telaprevir/IFN pegylat alfa 2a. Selectia mutantelor rezistente la telaprevir apare in principal in cazul monoterapiei, nedetectandu-se o replicare virala activa in ziua 14 de administrare a tratamentului combinat.

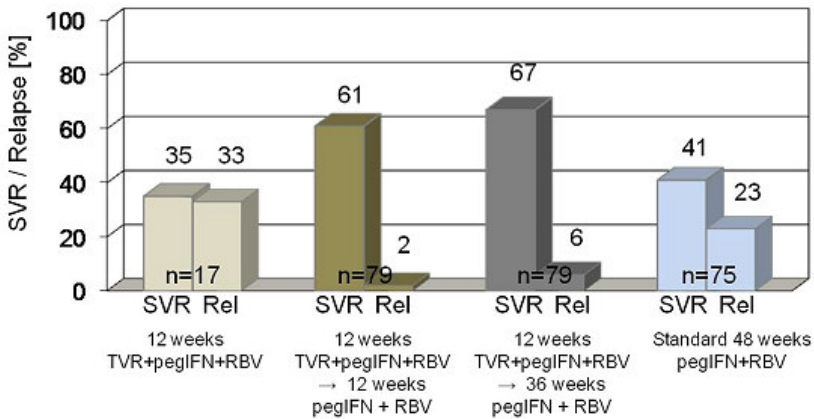
Terapia tripla cu telaprevir/INF pegylat alfa 2a si ribavirina intr-un studiu de faza I

Un studiu paralel evalueaza profilul de siguranta si eficienta tratamentului cu telaprevir (750mg la fiecare 8 ore), in combinatie cu IFN pegylat alfa 2a si doze scazute de ribavirina la pacientii cu genotip 1 VHC, pe o perioada de 28 de zile (Lawitz 2008). La sfarsitul perioadei de tratament, toti pacientii aveau ARN VHC nedetectabil, iar 8 din 12 pacienti au obtinut raspuns virusologic sustinut (RVS).

Telaprevir si INF pegylat cu si fara ribavirina in tratamentul pacientilor naivi, in studiu de faza II (PROVE 1 si 2)

S-au initiat doua trialuri clinice de faza II (PROVE 1 si 2) la pacientii cu genotip 1 VHC, pentru imbunatatirea ratei de obtinere a RVS prin adaugarea la terapia cu telaprevir a IFN pegylat alfa 2a si a ribavirinei (vezi schema studiului in tabelul 2) (McHutchison 2008).

In studiul PROVE 1, s-a administrat telaprevir, IFN pegylat alfa 2a si ribavirina timp de 12 saptamani, tratamentul a fost continuat doar cu IFN pegylat alfa 2a si ribavirina timp de 0, 12 sau 36 saptamani, rezultatele fiind comparate cu cele obtinute dupa tratamentul standard. RVS apare in procent de 35%, 61% si 67%, iar in urma terapiei standard procentul a fost de 41% (Figura 5). Respectand protocolul studiului, tratamentul a fost oprit doar dupa 12 sau 24 saptamani atunci cand s-a ajuns la un raspuns virologic rapid (RVR). La 18% dintre pacientii tratati cu telaprevir reactiile adverse grave duc la intreruperea prematura a tratamentului, in timp ce doar la 4% dintre pacientii cu medicatie standard li se recomanda oprirea tratamentului. Reactiile adverse cele mai frecvente sunt eruptiile cutanate, anemia si bolile digestive.



Main side effects:
 Skin rash: 53-61% TVR, 41% standard
 Premature treatment termination: 18% TVR, 4% standard
 Resistance: 7% TVR, 0% standard

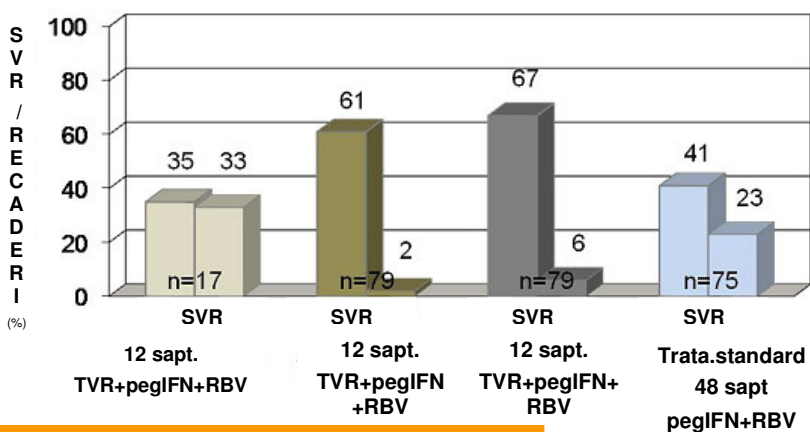


Figura 5. Rezultatele studiului PROVE 1 (USA).

Terapia combinata telaprevir (TVR) si PEG-IFN α -2a +/- ribavirina (RBV) administrata pacientilor naivi cu genotipul 1VHC

Studiul PROVE 2 este asemanator cu PROVE 1, diferenta principala constand in faptul ca momentul terminarii tratamentului dupa 12 sau 24 de saptamani este independent de obtinerea RVR, iar unul dintre grupuri nu a primit ribavirina (Tabelul 2). Rezultatele publicatiilor recente arata procentele de obtinere ale RVS ca fiind de 30%, 60% si 69% pentru pacientii tratati cu telaprevir plus IFN pegylat timp de 12 saptamani, cu telaprevir si IFN pegylat alfa 2a si ribavirina pentru 12 saptamani si respectiv dupa 12 saptamani cu telaprevir plus IFN pegylat alfa 2a si ribavirina, urmat de alta 12 saptamani de terapie cu IFN pegylat alfa 2a si ribavirina, urmat de alta 12 saptamani de terapie cu IFN pegylat alfa 2a si ribavirina, urmat de alta 12 saptamani de terapie cu IFN pegylat alfa 2a si ribavirina, urmat de alta 12 saptamani de terapie cu IFN pegylat alfa 2a si ribavirina (Figure 6). Rata RVS dupa tratamentul standard este de 46%. Totusi rata de recadere in lotul de pacienti tratati pe o perioada de 12 saptamani a fost relativ ridicata (Zeuzem 2008).

Tratamentul pacientilor naivi cu genotipul 1 VHC		Reguli de intrerupere a tratamentului dupa 12/24 sapt	
TVR 3x750 mg/zi pegIFN alfa 2a 180 µg/sapt, RBV 1000/1200 mg/zi		PROVE 1: Oprirea tratamentului doar daca s-a obtinut RVR PROVE 2: Oprirea tratamentului independent de raspunsul virusologic	
Schema studiului	Tratament	Numar de pacienti	
		PROVE 1 (USA)	PROVE 2 (Europa)
12 sapt. tripla terapie	12 sapt : TVR+pegIFN alfa 2a + RBV	17	80
12 sapt. dubla terapie	12 sapt : TVR+pegIFN alfa 2a	0	80

24 sapt. 12 sapt tripla terapie + 12 sapt. tratament standard	12 sapt : TVR+pegIFN alfa 2a + RBV 12 sapt : pegIFN alfa 2a + RBV	80	80
48 sapt. 12 sapt tripla terapie + 36 sapt. tratament standard	12 sapt : TVR+pegIFN alfa 2a + RBV 36 sapt : pegIFN alfa 2a + RBV	82	0
Tratament standard	48 sapt : pegIFN alfa 2a + RBV	81	80

Tabelul 2. Schema terapeutică a studiilor PROVE-1 și 2

Terapia combinată cu telaprevir (TVR) și PEG-IFN alfa2a +/- Ribavirina în cazul pacienților naivi cu genotip 1 VHC

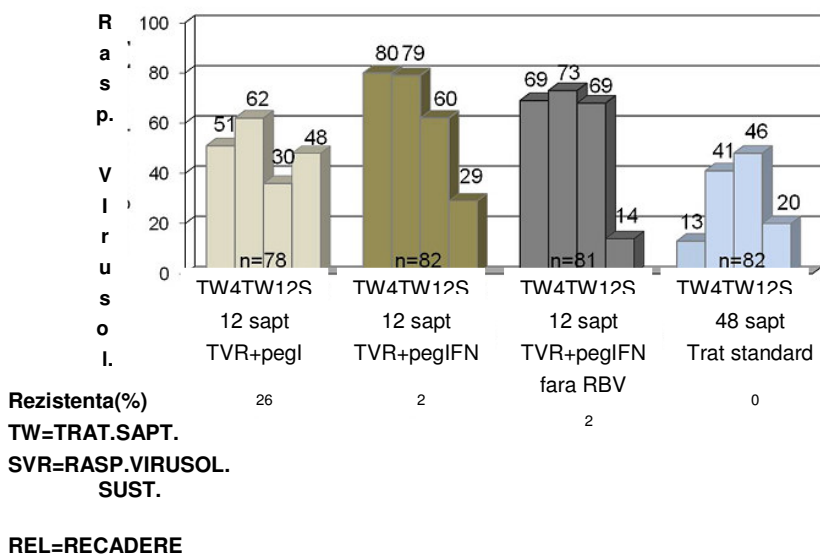


Figura 6. Rezultate interimare ale studiului PROVE 2 (Europa).

Terapia combinată cu telaprevir (TVR) și PEG-IFN α -2a +/- ribavirina (RBV) în cazul pacienților naivi cu genotip 1

În concluzie, studiile PROVE 1 și 2 au arătat că cele 12 săptămâni de terapie triplă sunt insuficiente din cauza ratei crescute de recaderi după terminarea acesteia. La pacienții naivi cu genotip 1 VHC cărora li s-a administrat 12 săptămâni triplă terapie cu telaprevir, după care li s-a administrat alte 12 săptămâni tratamentul standard, s-a observat o creștere semnificativă a RVS în comparație cu terapia

standard, telaprevirul este un potential candidat pentru viitoarele tratamente standard. Obținerea RVR în timpul triplei terapii reprezintă un factor predictiv important pentru succesul terapeutic și probabil va fi folosit la determinarea duratei unui tratament individualizat.

Non responderi sau pacienți cu recaderi în faza a doua a studiilor (PROVE 3)

Descrierea abordării terapeutice din studiul PROVE 3 se observă în tabelul 3, telaprevirul plus IFN pegylat alfa 2a și ribavirina fiind administrat timp de 12-24 săptămâni, terapia fiind continuată doar cu IFN pegylat alfa 2a și ribavirina pentru alte 0-24 săptămâni. Reluarea medicației, a dus la obținerea unui RV în săptămâna 12 de 52% per total (73% la cei cu recaderi, 41% la non responderi) la pacienții fără răspuns virusologic la tripla terapie administrată pe o perioadă de 12 săptămâni și continuată cu alte 12 săptămâni de tratament standard, acest rezultat este semnificativ mai crescut. La fel ca în studiile PROVE 1 și 2, reapariția replicării virale activă este mai frecventă la pacienții cu genotip 1a decât la cei cu genotip 1b (McHutchison 2008). Un trial clinic de faza III (REALIZE) care evaluează terapia cu telaprevir la non responderi este în curs de desfășurare.

Pacienții cu genotipul 1 VHC - non responderi și cu recaderi			
TVR 3x750 mg/zi			
pegIFN alfa 2a 180 μg/sapt			
RBV 1000/1200 mg/zi			
Schema studiului	Tratament		Nr. de pacienți
24 sapt. dubla terapie	24 sapt	TVR + pegIFN- _{2a}	110
24 sapt (12 sapt de tripla terapie+12 sapt 48 sapt (24 sapt tripla terapie+ 24 sapt	12sapt	TVR + pegIFN- _{2a} + RBV	110
	12sapt	pegIFN- _{2a} + RBV	
48 sapt (24 sapt tripla terapie+ 24 sapt	24 sapt	TVR + pegIFN- _{2a} + RBV	110
	24 sapt	pegIFN- _{2a} + RBV	
Tratament standard	48	pegIFN- _{2a} + RBV	110

Tabel 3. Descrierea studiului PROVE

Terapia combinată cu telaprevir (TVR) și PEG-IFN α -2a +/- ribavirin a(RBV) la pacienții cu genotip 1 VHC nonresponderi sau cu recaderi

Boceprevir (SCH 503034)

Boceprevir este un alfa cetoamid peptidomimetic, cu biodisponibilitate orală (Figura 5), ajuns în faza III a studiilor clinice.

Monoterapia cu Boceprevir intr-un studiu de faza I

Primul trial clinic de faza I a evaluat profilul de siguranta, tolerabilitatea si eficienta antivirala a monoterapiei cu boceprevir (in doze de 100-400 mg pe zi) la pacientii cu genotip 1 VHC care nu au raspuns la tratamentul anterior (Zeuzem 2005). Dupa 14 zile de tratament a fost obtinuta o scadere medie a incarcaturii virale de 2,06 \log_{10} la pacientii tratati cu 400 mg boceprevir zilnic. Toate dozele de boceprevir au fost bine tolerate, nefiind observate efecte adverse importante. Reaparitia incarcaturii virale se observa la pacientii tratati cu boceprevir in doze scazute.

Terapia combinata cu boceprevir si IFN pegylat alfa 2b intr-un studiu de faza I

Urmatorul studiu de faza Ib a evaluat terapia combinata cu boceprevir si IFN pegylat alfa 2b la pacientii cu genotip 1 VHC care nu raspund la terapia standard. (Sarrazin 2007). Intr-un studiu randomizat dublu orb, cross-reactiv, s-a administrat boceprevir in doze de 200 mg sau 400mg la fiecare 8 ore, fie singur pentru sapte zile, fie in combinatie cu IFN pegylat alfa 2b timp de 14 zile, in comparatie cu monoterapia cu INF pegylat alfa 2b administrata pe o perioada de 14 zile (Figura 7). Deoarece pacientii non responderi cu genotipul 1 VHC sunt heterogeni dpdv terapeutic, in acest studiu s-a intentionat administrarea boceprevirului singur sau in combinatie cu IFN pegylat alfa 2b sau administrarea de IFN pegylat alfa 2b singur, intr-o secventa de administrare bine structurata. Scaderea maxima a incarcaturii virale a fost de 2,45 si 2,88 \log_{10} pentru boceprevir in doze de 200 mg, respectiv 400 mg administrat impreuna cu IFN pegylat alfa 2b, de asemenea in urma monoterapiei cu boceprevir scaderea principala a fost de 1,08 si 1,61 \log_{10} , iar monoterapia cu IFN pegylat alfa 2b a inregistrat o reducere a incarcaturii virale de 1,08 si 1,26 \log_{10} . Boceprevirul a fost bine tolerat in monoterapie, cat si in tratamentul combinat cu IFN pegylat alfa 2b. Cele mai frecvente reactii adverse observate au fost : cefalee, mialgii, contractura musculara si febra. La unii pacienti, mai ales carora li s-a administrat monoterapia cu boceprevir, poate reaparea replicare virala din cauza selectiei mutantelor rezistente.

Boceprevir si INF pegylat cu si fara ribavirina, intr-un studiu de faza II

Tratamentul pacientilor naivi intr-un studiu de faza II (SPRINT-1)

Trialul clinic SPRINT 1 investigheaza la pacientii naivi infectati cu genotipul 1 VHC, profilul de siguranta, tolerabilitatea si eficienta antivirala a boceprevirului (800 mg de trei ori pe zi) in combinatie cu IFN pegylat alfa 2b si ribavirina. (Tabelul 4) (Kwo 2008).

Tratamentul pacienților naivi cu genotipul 1

Boceprevir 3x800mg/zi
 pegIFN alfa2b 1,5μg/kgc
 Ribavirina 800/1200mg/zi

Schema studiului	Tratament	Nr. de pac.
28 terapie	28 terapie tripla: Boceprevir+pegIFN	80
4 sapt+24 terapie tripla	4 sapt:pegIFNalfa2b+RBV 24 terapie	80
4 sapt+44 terapie tripla	4 sapt:pegIFNalfa2b+RBV 44 terapie	80
48 terapie tripla	48	80
48 terapie tripla(doze scazute)	48 terapie tripla:Boceprevir+pegIFNalfa	80
Trat. standard	48 terapie	80

Tabelul 4. : Schema studiului SPRINT-1 (USA, Canada, Europe).

Terapia combinata cu boceprevir si INF pegylat α -2a +/- ribavirina (RBV) la pacientii naivi cu genotipul 1 VHC

Terapia combinata cu boceprevir, IFN pegylat alfa 2a si ribavirina a fost administrata continu fie pentru 28 sau 48 de saptamani, fie pentru 24 sau 44 de saptamani, dupa un tratament anterior de 4 saptamani cu IFN pegylat alfa 2b si ribavirina. Schema studiului a fost aleasa pentru efectele antivirale si eludarea rezistentei prin adaugarea la tratament a IFN pegylat alfa 2b si a ribavirinei. Grupul control a fost tratat cu IFN pegylat alfa 2b si ribavirin timp de 48 de saptamani. RVS dupa 28 de saptamani de tripla terapie a fost 55% versus 56% cat s-a obtinut in primele 4 saptamani de tratament cu IFN pegylat si ribavirina, urmate de alte 24 saptamani de tripla terapie. RV dupa 48 de saptamani de terapie tripla a fost de 66% versus 74% obtinut in primele 4 saptamani de tratament cu IFN pegylat si ribavirina, urmate de alte 44 saptamani de tripla terapie (Figura 8, vezi <http://hepatologytextbook.com/link.php?id=4>). Dupa 4 saptamani de tripla terapie cu boceprevir, IFN pegylat alfa 2b si ribavirina , 39% dintre pacienti au obtinut raspuns virusologic rapid. Cele mai frecvente efecte secundare ale tratamentului cu boceprevir sunt oboseala, greata, depresia, anemia, neutropenia. In general, studiul SPRINT-1 a aratat eficienta antivirala crescuta a terapiei combinate cu boceprevir comparativ cu tratamentul standard, rezultatele au fost mai bune in primele 4 saptamani de tratament, in special pentru cel cu durata de 48 de saptamani.

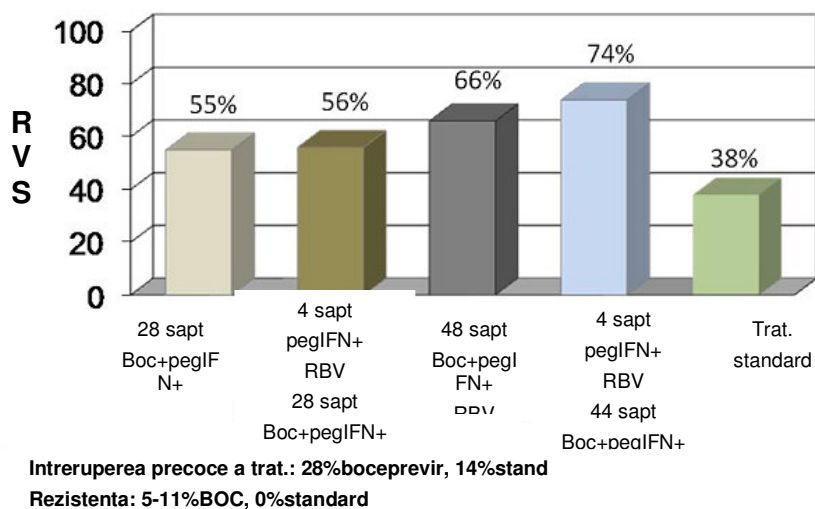


Figura 8. Rezultate intermediare ale schemei terapeutice din studiul SPRINT-1.

Terapia combinata cu boceprevir si INF pegylat alfa 2b + ribavirina (RBV) la pacientii naivi cu genotipul 1.

Pacienti care nu raspund sau care au recaderi in studii de faza II

Un studiu complex asupra pacienti non responderi cu genotip 1 VHC, a aratat o usoara crestere a RVS (14% versus 2%) dupa adaugarea boceprevirului la tratamentul cu IFN pegylat alfa 2b si cu ribavirina, comparativ cu terapia standard (Schiff 2008).

TMC435350

TMC435350 este un nou inhibitor macrolitic de serin proteaza care se administreaza singura data pe zi (Figura 4). La voluntarii sanatosi, tolerabilitatea unei singure doze de 600 mg, urmata de doze zilnice de 400 mg timp de patru zile, a fost foarte buna (Reesink 2008). Monoterapia cu TMC435350 (200 mg) timp de 5 zile la sase pacienti non responderi cu genotipul 1 VHC, a fost evaluata intr-un studiu de faza Ib. Scaderea maxima a incarcaturii virale a fost de $3.9 \log_{10}$, iar reaparitia replicarii virale activa nu a fost observata in aceasta perioada scurta de tratament. In urma secventierii au fost identificate cvasispecii mai putin sensibile la terapia cu TMC435350. Recent, TMC435350 se foloseste intr-un studiu de faza II (trialul OPERA-1) in care s-a obtinut un RVR mai mare de 89% dupa 28 de zile de tripla terapie (Manns 2008).

ITMN-191 (R7227)

ITMN-191 este un nou inhibitor macrolitic de NS3/4A care prin legaturi necovalente se ataseaza la situsul activ al enzimei (Courcambeck 2008) (Figura 4). Administrarea orala a ITMN-191 la voluntarii sanatosi a fost lipsita de riscuri si a fost bine tolerata. In prezent, la pacientii cu infectie cronica cu genotip 1 VHC, se studiaza eficienta antivirala, profilul de siguranta si tolerabilitatea medicamentului. ITMN-191 se administreaza in doze de 200-600 mg in monoterapie sau in combinatie cu INF pegylat alfa 2a si cu ribavirina. In cazul pacientilor naivi datele preliminare sugereaza ca monoterapia cu ITMN-191 poate scadea incarcatura virala cu mai mult 4 \log_{10} dupa 2 saptamani de tratament (Forestier 2008). Sunt in desfasurare studii de faza II care evalueaza la pacientii naivi si la nonresponderi ITMN-191. In prezent, se monitorizeaza in trialuri clinice eficienta asocierii ITMN-191 cu un inhibitor de polimeraza virala (R7128) (comunicat de presa al companiei Roche).

Inhibitorii de NS4A

ACH-806

ACH-806 inhiba proteaza NS3/4A printr-un mecanism diferit de cel al inhibitorilor peptidomimetici de NS3. ACH-806 leaga molecule nou sintetizate de NS4A, ceea ce determina blocarea asamblarii lor de catre moleculele de NS3. Un studiu clinic de faza Ib, la pacientii infectati cu genotipul 1 VHC, arata ca ACH-806 are un important efect inhibitor asupra replicarii virale (Pottage 2007). S-a demonstrat conceptul inhibarii proteinei NS4, dar cercetarea ACH-806 a fost stopata din cauza cresterii nivelului creatininei pe parcursul tratamentului. Nici o cross-reactivitate intre ACH-806 si inhibitorii proteazei NS3/4A nu a fost observata (Wyles 2008; Yang 2008).

Replicarea VHC

Biologia moleculara a replicarii VHC

Replicarea VHC se realizeaza predominant in hepatocite si este initiata de formarea complexului de replicare, care implica asocierea structurata de proteine virale si ARN, proteine celulare si cofactori si de rearanjari ale membranelor lipidice intracelulare derivate din reticulul endoplasmatic (Moradpour 2007; Pawlowsky 2007) (Figura 9).

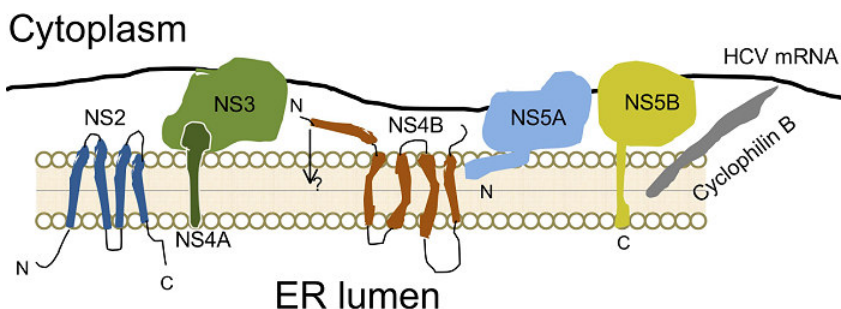


Figura 9. Complexul de replicare VHC.

NS5B este o ARN-polimeraza ARN-dependenta ce catalizeaza sinteza unei catene ARN negative complementare folosind ca matrita catena ARN pozitiva a genomului viral (Lesburg 1999; Bartenschlager 2004) (Figura 10). Prin activitatea NS5B, din aceasta catena ARN negativa nou sintetizata sunt produse numeroase alte catene cu polaritate pozitiva, catene ce servesc drept matrita pentru o replicare ulterioara si pentru translata poliproteinelor. Datorita fidelitatii scazute de transcriere a ARN-polimerazei ARN-dependente, in timpul replicarii VHC la un pacient sunt produse numeroase izolate virale distincte, denumite quasispecii VHC. Absenta sistemului de corectare a incorporarii nucleotidelor, ce caracterizeaza NS5B polimeraza, impreuna cu rata inalta a replicarii VHC conduc la generarea unor mutatii genomice frecvente (Weiner 1991).

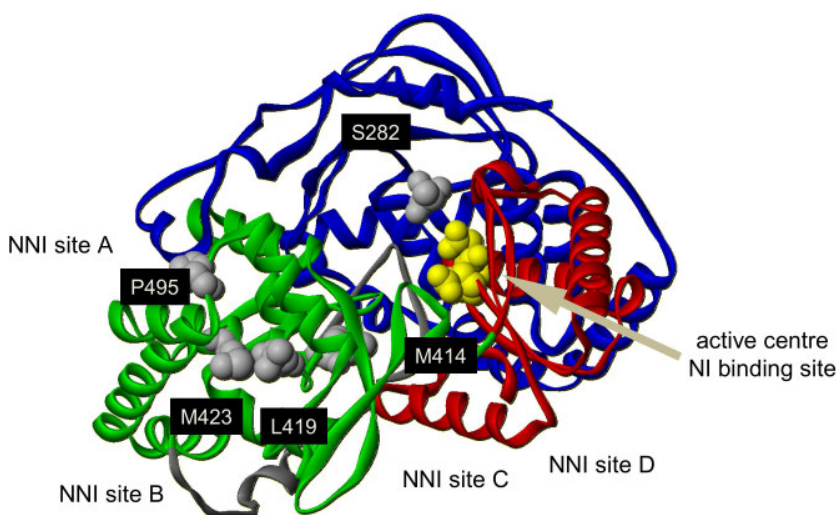


Figura 10. Structura ARN polimerazei NS5B VHC si situsurile de legare.

Se pare ca NS5A indeplineste roluri multiple in cadrul replicarii VHC (Lindenbach 2005). S-a aratat ca NS5A este implicata in formarea initiala a complexului de replicare, prin interactiunea cu membranele lipidice intracelulare (Lindenbach 2005; Appel 2008). Mai mult, s-a demonstrat ca NS5A are capacitatea de a interactiunea cu NS5B, avand ca rezultat stimularea ARN polimerazei VHC. Pe langa functia de reglare a replicarii VHC, NS5A moduleaza caile de semnalizare a celulei-gazda, cai care au fost asociate de exemplu cu rezistenta la interferon (Wohnsland 2007). De altfel, mutatiile proteinei NS5A au fost asociate din punct de vedere clinic cu rezistenta / sensibilitatea la IFN (Pascu 2004; Wohnsland 2007). Intr-un studiu recent, efectuat pe pacienti cu hepatita cronica C, o prima incercare de utilizare a inhibitorului NS5A a aratat o scadere brusca a nivelului ARN VHC chiar dupa prima zi de tratament (Nettles 2008).

NS4B este o alta proteina implicata in formarea complexului de replicare VHC, care include cel putin 4 domenii transmembranare actionand ca zone de ancorare in cursul modificarilor membranare ale complexului de replicare (Elazar 2004). Totusi, detaliile privind rolul NS4B trebuie in continuare studiate.

Pe langa aceste proteine de origine virala, s-a descoperit ca proteina celulara ciclofilina B este implicata in replicarea VHC. Ciclofilina B este exprimata in multe tesuturi umane si are o activitate izomerazica cis-trans, fiind implicata in impachetarea in structuri secundare ale proteinelor celulare. S-a aratat ca ciclofilina B stimuleaza NS5B, facilitand astfel replicarea VHC (Flisiak 2007). Constatarea ca ciclosporina A exercita un efect antiviral impotriva VHC mijlocit de inhibarea in vitro a ciclofilinei B a condus la progresele actuale asupra inhibitorilor de ciclofilina B non-imunosupresivi.

Compusi antivirali care tintesc replicarea VHC

Inhibitorii polimerazei NS5B

Inhibitorii ARN polimerazei NS5B pot fi organizati in doua categorii distincte. Analogi nucleozidici (NI) de genul valopicitabinei (NM283), R7128 sau R1626 simuleaza structura naturala a polimerazei si sunt integrati in lantul ARN aflat in curs de elongare, producand intreruperea directa a lantului prin afectarea situsului activ al NS5B (Koch 2006; Koch 2007). Deoarece centrul activ al NS5B este o regiune inalt conservata a genomului VHC, NI sunt eficienti impotriva diferitelor genotipuri. O singura substitutie a unui aminoacid aflat in orice pozitie a centrului activ poate avea ca rezultat pierderea functiei acestuia, existand o bariera genetica relativ ridicata in dezvoltarea rezistentei la NI.

In opozitie cu NI, inhibitorii non-nucleozidici (NNI) sunt o clasa mai heterogena (ex. VHC-796) si realizeaza inhibitia NS5B prin legarea la situsurile allosterice ale enzimei, ceea ce are ca rezultat schimbarea conformationala a proteinei inaintea formarii complexului de elongare (Beaulieu 2007; Wohnsland 2007). Pentru ca inhibarea alosterica NS5B sa se realizeze, este necesara o afinitate chimica ridicata. Structural, NS5B are structura tipica de "mana-dreapta" cu domeniile "palma", "deget", "police" si prezinta cel putin 4 situsuri de legare pentru NNI: benzimidazol (degetul mare 1), tiofen (degetul mare 2), benzotiadiazina (palma 1) si benzofuran (palma 2) (Lesburg 1989; Beaulieu2007) (Figura 10). Datorita situsurilor de legare

distincte, diferiti inhibitori de polimeraza pot fi utilizati teoretic in combinatie sau succesiv pentru a controla dezvoltarea rezistentei. Pentru ca NNI se leaga la distanta de centrul activ al NS5B, utilizarea lor poate conduce rapid la dezvoltarea mutantelor rezistente in vitro si in vivo. Mai mult, mutatiile care se produc la nivelul situsurilor de legare ale NNI nu determina in mod obligatoriu deteriorarea functiei enzimaticе.

Valopicitabina (NM283)

Valopicitabina este un analog de citidina si totodata, primul inhibitor de polimeraza promovat in trialurile clinice (Pierra 2005) (Figura 2005). Intr-un studiu initial realizat pe pacienti cu genotip 1 VHC, care au prezentat anterior esec la tratamentul standard s-a administrat valopicitabina in monoterapie, in doza de 800 mg/zi, observandu-se o scadere cu peste 1 \log_{10} a ARN VHC dupa 15 zile de tratament.

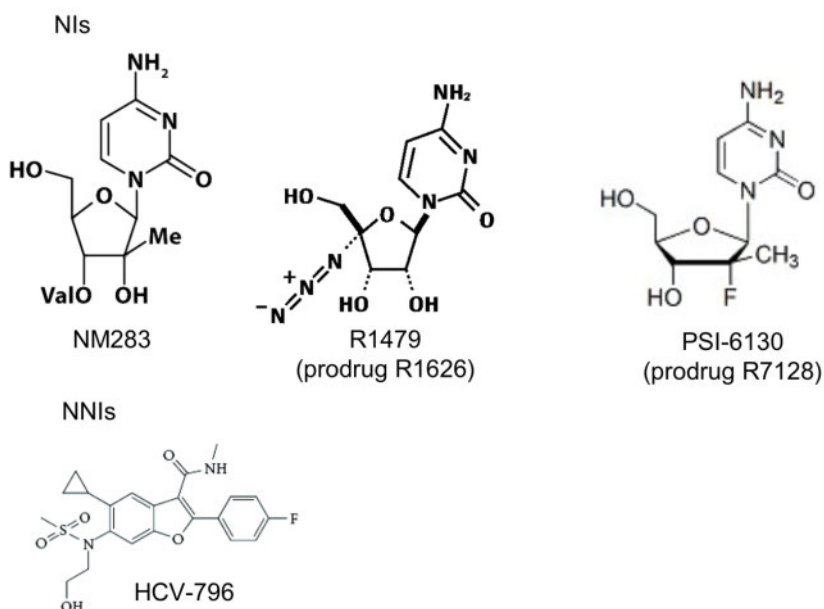


Figura 11. Structura moleculara a inhibitorilor de NS5B polimeraza

In cadrul a doua studii clinice de faza II s-a practicat terapia combinata cu valopicitabina si PEG-IFN α -2a, dar rezultatele nu au fost satisfacatoare. La pacientii naivi cu genotip 1 VHC s-au administrat 200 – 800 mg valopicitabina plus PEG – IFN α -2a timp de 48 de saptamani, in comparatie cu monoterapia cu PEG-IFN α -2a aplicata timp de 4 saptamani la care s-a adaugat in continuare valopicitabina din saptamana 5. In saptamana a patra, la toti indivizii cu terapie combinata s-a remarcat o scadere semnificativa a nivelului ARN VHC comparativ cu cei carora li s-a aplicat monoterapia cu PEG – IFN α -2a (3-3.8 \log_{10} versus 1.8 \log_{10} UI/ml). Rezultatele obtinute la sfarsitul tratamentului, sugereaza ca valopicitabina isi mentine activitatea antivirala pe toata perioada tratamentului, respectiv 48 de

saptamani. Totusi, doar dozele mai scazute de valopicitabina (200 mg) au fost bine tolerate, iar ratele RVS nu au fost semnificativ mai mari decat cele aparute in urma tratamentului standard. Efectele adverse cele mai frecvente au fost diareea, greata si voma. Cel de-al doilea studiu clinic a avut ca scop evaluarea terapiei combinate cu valopicitabina si PEG-IFN α -2a la pacientii cu genotip 1 VHC non-responderi la terapia standard, insa nu s-a obtinut nici un beneficiu comparativ cu retratarea cu ribavirina si PEG-IFN α -2a (Chang 1994). Dupa asocierea ribavirinei cu valopicitabina si interferon pegylat s-a remarcat reducerea eficacitatii antivirale datorita interactiunilor biologice dintre valopicitabina si ribavirina (Coelmont 2006).

Extinderea utilizarii valopicitabinei a fost oprita, datorita raportului negativ risc/beneficiu rezultat in urma evaluarii FDA.

R1626

R1626, precursorul R1479 cu administrare orala, este un alt inhibitor de NS5B analog de citidina (Figura 11). La pacientii cu genotip 1 VHC netratati, monoterapia cu R1626 a determinat o reducere cu 3.7, 2.6 si 1.2 \log_{10} a ARN VHC in cazul administrarii, de doua ori pe zi, a unor doze de 4500 mg, 3000 mg si respectiv 1500 mg (Roberts 2008). In timpul tratamentului aplicat pe o perioada de 14 zile nu au aparut mutante rezistente.

Un studiu clinic ulterior de faza II a evaluat la pacientii naivi cu genotip 1 VHC, combinatia R1626 (1500 mg de trei ori pe zi, 1500 mg de doua ori pe zi sau 3000 mg de 2 ori pe zi) cu PEG-IFN α -2a singur sau cu PEG-IFN α -2a plus ribavirina timp de 4 saptamani, urmata de o perioada de 44 de saptamani in care s-a administrat PEG-IFN α -2a plus ribavirina. Grupul de control a fost tratat timp de 48 de saptamani cu PEG-IFN α -2a plus ribavirina (Pockros 2008). Ratele de raspuns la sfarsitul tratamentului, respectiv saptamana 48 (ARN VHC < 15 UI/ml) au fost de 84% (3 x 1500 mg), 66% (2 x 3000 mg) si 52% (2 x 1500 mg) comparativ cu 65% in grupul de control (detalii in Figura 12). R1626 a produs neutropenie reversibila de gradul 3 la 40-70% din pacienti. Recent, a fost initiata faza IIB a trialului clinic in care, la pacientii naivi cu genotip 1 VHC este evaluata pe o perioada de 24 saptamani, terapia combinata cu doze mai mici de R1626 sau PEG-IFN α -2a alaturi de ribavirina, urmata de 24 de saptamani in care se utilizeaza PEG-IFN α -2a plus ribavirina. Totusi, datorita aparitiei de reactii adverse severe, producerea ulterioara a R1626 a fost oprita.

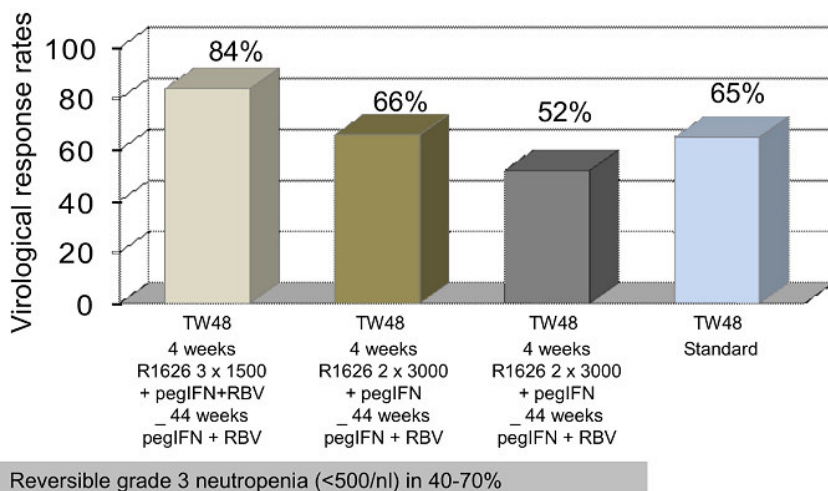


Figura 12. Eficacitatea antivirală și siguranța R1626 în combinație cu PEG-IFN α -2a și ribavirina (RBV) la pacienții naivi cu genotip 1 VHC.

R7128

R7128, un precursor al PS-I6130, este un inhibitor de NS5B analog nucleozidic de citidina recent dezvoltat (Klump 2006) (Figura 11). La pacienții cu genotip 1 VHC non-responderi la tratamentul standard, monoterapia cu R7128, în doză de 1500 mg pe o perioadă de 14 zile a determinat o reducere medie a ARN VHC de $2.7 \log_{10}$ UI/ml. Pe întreaga perioadă a tratamentului nu s-a înregistrat nici un rebound viral.

Au fost prezentate rezultatele preliminare ale unui studiu ce a evaluat combinația R7128 (500 sau 1500 mg o dată pe zi), PEG-IFN α -2a și ribavirina pe o perioadă mai mare de 28 de zile la pacienți naivi cu genotip 1 VHC. S-a observat o scădere medie a valorii ARN VHC de $2.6 \log_{10}$ după 14 zile de tratament și $4.0 \log_{10}$ după 28 de zile de tratament. Administrarea R7128 a produs însă la unii pacienți cefalee, insomnie sau creșterea trigliceridelor serice (Lalezari 2008). Este important de reținut că R7128 a avut o eficacitate ridicată la non-responderii cu genotip 2 sau 3 (Gane 2008).

HCV-796

HCV-796 este un inhibitor NS5B non-nucleozidic cu biodisponibilitate orală, ce aparține familiei de benzofurani (Figura 11). La pacienții naivi infectați VHC, monoterapia cu HCV-796 (50 - 1500 mg de două ori pe zi) aplicată pe o perioadă de 14 zile a condus la o reducere medie a ARN VHC cu $1.4 \log_{10}$ după 4 zile de tratament, urmată de reapariția încărcăturii virale în majoritatea cazurilor; acest fapt indică o dezvoltare rapidă a rezistenței la HCV-796 (Chandra 2006).

Un al doilea trial a evaluat combinația HCV-796 cu PEG-IFN α -2a la pacienți naivi cu hepatită cronică C (Villano 2007). HCV-796 a fost administrat în doze cuprinse

intre 100 si 1500 mg, de doua ori pe zi, timp de 14 zile. Dupa perioada de tratament de 14 zile, s-a observat o reducere a ARN VHC cu 3.3-3.5 log₁₀ la pacientii tratati cu HCV-796 si PEG-IFN α -2a comparativ cu 1.7 log₁₀ la pacientii carora li s-a administrat doar PEG-IFN α -2a. HCV-796 a fost bine tolerat si in timpul terapiei combinate nu a aparut nici o recurenta a viremiei. Astfel, combinatia NNI cu interferon pegylat poate fi suficienta pentru a depasi aceasta instalare rapida a rezistentei. Totusi, dezvoltarea HCV-796 nu avanseaza, datorita faptului ca acest inhibitor NS5B non-nucleozidic produce cresteri importante ale transaminazelor serice.

VCH-759

VCH-759 este un nou inhibitor non-nucleozidic al NS5B, cu biodisponibilitate orala. La pacienti naivi cu genotip 1 VHC s-a efectuat un studiu pentru a investiga eficacitatea antivirala, tolerabilitatea, siguranta si farmacocinetica monoterapiei cu VCH-759, dozele administrate fiind de 400 mg de trei ori pe zi, 800 mg de trei ori pe zi sau 800 mg de doua ori pe zi timp de 10 zile. S-a inregistrat o scadere medie a nivelurilor serice ale ARN VHC cuprinsa intre 1.9 si 2.5 log₁₀ intr-o maniera dependenta de doza. In general, VCH-759 a fost bine tolerat, cele mai frecvente efecte adverse fiind tulburarile gastrointestinale (Cooper 2007).

Medicamente care tintesc specific ARN-ul viral VHC

Inhibitorii IRES

In contrast cu translatarea celulara a ARNm Cap-dependenta, translatarea ARN VHC este mediata de situsul intern de intrare al ribozomului (IRES). IRES stabileste legaturi cu mai multe proteine celulare si virale incluzand subunitatea ribozomala 40S. Interactiunile moleculare care stau la baza acestei legaturi sunt inalt specifice, transformand IRES intr-o tinta potrivita pentru inhibitorii cu greutate moleculara mica.

VGX-410C este un inhibitor IRES cu biodisponibilitate orala, ce blocheaza legarea IRES la subunitatea ribozomala 40S, el fiind evaluat in cadrul unui trial clinic de faza II la pacienti cu hepatita cronica C. Totusi, activitatea sa virala s-a dovedit a fi nesatisfacatoare si dezvoltarea VGX-410C a fost sistata. Alti inhibitori IRES se afla in prezent in studii preclinice.

Ribozimele

Ribozimele sunt molecule ARN ce catalizeaza clivajul secventelor specifice ale ARN tinta. Studii in vitro au identificat mai multe ribozime directionate specific spre secvente ale genomului VHC. Heptazima este o ribozima chimic modificata, cu biodisponibilitate orala, ce cliveaza o secventa in regiunea inalt conservata a IRES (Foster 2004). Heptazima inhiba replicarea VHC in vitro, dar dezvoltarea sa a fost oprita datorita toxicitatii la animale. La momentul actual, nu se stie cu certitudine daca ribozimele vor trece mai departe la stadiul de studii clinice.

Oligonucleotidele antisens

Oligonucleotidele antisens sunt molecule scurte, monocatenare ARN sau ADN cu o secventa complementara ARN-ului tinta, hibridizarea cu tinta ARN oprind translatarea acesteia. In sisteme celulare de cultivare, au fost detectate cateva tipuri de oligonucleotide antisens complementare cu secvente din regiunea inalt conservata 5'UTR, care inhiba replicarea ARN VHC (Guerniou 2007). In cadrul unui studiu clinic de faza II a fost evaluata oligonucleotida antisens ISIS-14803 la pacienti cu hepatita cronica C; obtinerea acesteia a fost insa oprita din cauza eficacitatii antivirale nesatisfacatoare. (Soler 2004).

Asamblarea si eliberarea virala

Biologia moleculara a asamblarii si eliberarii virale

Asamblarea si eliberarea virala raman in continuare destul de putin intelese, totusi, sunt descrise interactiuni intre proteina core VHC si ARN genomic, interactiuni care probabil initiaza formarea virionilor progeneri (Chang 1994; Suzuki 1995). In plus, interactiunile care se stabilesc intre proteinele structurale E1 si E2 si membranele reticulului endoplasmatic, par a fi esentiale pentru asamblarea virala. In zona celulara, α glucozidazele, enzime necesare procesarii unor glicoproteine, sunt importante pentru plierea corecta si asamblarea proteinelor anvelopei VHC. S-a aratat ca inhibitorii de α glucozidaze au capacitatea de a intrerupe asamblarea virala cu un impact antiviral semnificativ, atat in vitro cat si in vivo (Kaita 2007).

Compusi avand ca tinta asamblarea si eliberarea virala

Pana in prezent, au fost obtinute doar medicamentele care tintesc proteinele gazdei ce perturba asamblarea si eliberarea virala. Acestea urmeaza a fi rezumate in continuare.

Rezistenta la antivirale specifice

Din cauza ratei mari a replicarii VHC si a unei fidelitati de transcriere scazuta a ARN polimerazei ARN dependente, numeroase variante (quasispecii) sunt in permanenta produse in timpul replicarii VHC. Printre ele se pot dezvolta variante purtatoare de mutatii ce altereaza conformatia situsurilor de legare ale componentelor STAT-C. In timpul tratamentului cu antivirale specifice, variantele preexistente rezistente la tratament au un avantaj in ceea ce priveste fitness-ul viral si pot deveni specia virala dominanta. Multe din aceste mutante rezistente prezinta o replicare atenuata, astfel ca, dupa intreruperea tratamentului pot fi inlocuite de tulpinile virale salbatice (Tong 2006; Sarrazin 2007). In timpul administrarii inhibitorilor polimerazei si proteazei virale s-a observat o reemergenta a mutantelor rezistente. Astfel, rezistenta la antivirale reprezinta o problema importanta in planificarea STAT-C de succes. Trebuie retinut ca nu s-a observat aparitia procesului de rezistenta incrucisata intre inhibitorii proteazei, inhibitorii polimerazei si inhibitorii enzimei celulei gazda cum ar fi debio-025 sau celgosivir (Koev 2008). In continuare, se vor analiza mutatiile cunoscute in genele proteazei si polimerazei.

Rezistenta la inhibitorii NS3/4A

Ciluprevir. Expunerea celulelor din repliconi de genotip 1 la ciluprevir si analiza ulterioara a secventelor regiunii NS3 a condus la identificarea mai multor mutatii ce confera rezistenta la ciluprevir: A156T, R155Q si D168V/A. Aceste mutatii au ca rezultat o reducere a susceptibilitatii la ciluprevir de 357 ori, 24 ori si respectiv 144 ori comparativ cu tulpina salbatica (Lin 2004; Lu 2004; Lin 2005). Mutatia A156T confera niveluri variate de rezistenta incrucisata la ciluprevir, telaprevir si boceprevir. Mutatia A156T produce o reducere semnificativa a functiei enzimatiche atenuand ciclul de viata al VHC, fapt ce poate fi depasit de mutatiile aditionale P89L, Q86R sau G162R. Nu sunt inca disponibile informatii privind mutatiile de rezistenta selectate in vivo dupa administrarea de ciluprevir la pacientii cu hepatita cronica C.

Telaprevir. Pana in prezent, mutatiile ce confera rezistenta la telaprevir au fost identificate in 4 pozitii si anume: V36A/M/L, T54A, R155K/M/S/T si A156S/T (Lin 2005; Lin 2007; Sarrazin 2007; Welsch 2008; Zhou 2008) (Tabelul 5, vezi <http://hepatologytextbook.com/link.php?id=5>). Mutatia A156 a fost evidentiata in urma analizelor in vitro in repliconi VHC, in timp ce celelalte mutatii au fost identificate in vivo printr-o secventiere clonala in timpul administrarii de telaprevir la pacientii cu hepatita cronica C. Dupa o analiza cinetica detaliata a variantelor rezistente la telaprevir aparute la pacientii cu genotip 1, pe o perioada de 14 zile de monoterapie cu telaprevir si terapie combinata cu PEG-IFN α -2a (Sarrazin 2007) s-a observat ca monoterapia cu telaprevir a condus initial la o scadere rapida a ARN VHC la toti pacientii, datorita reducerii semnificative a tulpinii salbatice. La pacientii care au prezentat un rebound viral in timpul monoterapiei cu telaprevir, in special variantele cu o singura mutatie R155K/T si A156/T au fost revelate de inhibarea tulpinii salbatice si au devenit dominante dupa ziua a opta. Aceste variante cu o singura mutatie au fost selectate din quasispeciile preexistente. In timpul fazei de recadere virala, aceste variante au fost inlocuite tipic cu variante cu mutatii duble inalt rezistente (ex. V36M/A +R155K/T). In timpul unui studiu de 14 zile, combinatia telaprevir si PEG-IFN α -2a a fost suficienta pentru a inhiba reemergenta mutantelor rezistente (Forestier 2007).

Boceprevir. In sistemul replicon au fost descoperite mutatii in 3 pozitii conferind rezistenta la boceprevir (Tabelul 5). T54A, A156S si V170A confera o rezistenta scazuta la boceprevir, in timp ce mutatia A156T, care determina de asemenea rezistenta la telaprevir si ciluprevir, este responsabila pentru niveluri mai ridicate de rezistenta. (Tong 2006). In cursul monoterapiei cu boceprevir, la pacientii cu hepatita cronica C au fost detectate 3 mutatii aditionale (V36G/M/A, V55A, R155K) (Susser 2008).

ITMN-191. S-a observat ca mutatiile D168A/E/V/S confera rezistenta la ITMN-191 in vitro. ITMN-191 are o structura moleculara modificata a ciluprevirului, ceea ce explica rezistenta incrucisata a D168A/V la ambii compusi (Courcambeck 2008). Pana in prezent nu sunt disponibile date clinice in ceea ce priveste rezistenta la ITMN-191.

Rezistenta la inhibitorii NS5B

In general, se pare ca exista o bariera genetica inalta pentru dezvoltarea rezistentei la inhibitorii analogi nucleozidici (NI), ceea ce se explica prin faptul ca mutatiile punctiforme modifica situsul activ si duc la o reducere importanta a activitatii polimerazei. In contrast, rezistenta la NNI apare mai usor si nu inhiba neaparat ciclul de replicare virala.

Inhibitorii nucleozidici

Valopicitabina. Rezistenta la valopicitabina a fost analizata in sisteme replicon. Variantele avand mutatia S282T confera un inalt nivel de rezistenta, dar prezinta un fitness viral mult scazut comparativ cu tulpina salbatica (Ludmerer 2005; Mo 2005). In consecinta, in timpul monoterapiei cu valopicitabina nu s-a observat nici o reemergenta virala.

R1626 (prodrog al R1479). In sisteme VHC replicon, s-a observat ca mutatia S96T confera rezistenta la R1626 (Le Pogam 2006). In timpul terapiei cu R1626, nu s-a observat rezistenta clinica insotita de cresterea concentratiilor de ARN VHC; de asemenea, nu au fost detectate mutante rezistente prin analiza clonala a variantelor virale in cazul pacientilor aflati sub terapie (Le Pogam 2008).

R7128 (prodrog al PSI-6 130): In sisteme replicon VHC, mutatia S282T s-a dovedit a fi responsabila pentru rezistenta la R7128. In ceea ce priveste inhibitorul R1626, nu s-a detectat pana in prezent rezistenta incrucisata la pacientii tratati cu R7128 (Le Pogam 2008).

Inhibitorii non-nucleozidici

HCV-796. In timpul monoterapiei cu HCV-796 s-a observat o reemergenta virala rapida la majoritatea pacientilor. Analiza prin secventiere a genei NS5B in cadrul sistemelor replicon a demonstrat existenta unor mutatii de rezistenta in pozitiile L314, C316, I363 si S365A (Howe 2006).

Pentru cele patru clase diferite de inhibitori non-nucleozidici, studiile in sistemul VHC replicon au pus in evidenta mutatii de rezistenta specifice, cu profiluri de rezistenta partial incrucisate (Tabelul 6, vezi <http://hepatologytextbook.com/link.php?id=6>). De exemplu, la cimpanzeii tratati cu inhibitori non-nucleozidici ai situsului benzotiadiazin al polimerazei, au fost asociate variantele A-837093, Y448, G554, D559 si C316 cu rezistenta virala. In mod interesant, mai multe mutatii au fost inca detectabile la doua saptamani dupa incheierea terapiei, indicand faptul ca fitness-ul acestor izolate ce contin mutatii este asemanator cu cel al tulpinii salbatice (Chen 2007).

Tratament antiviral VHC care tintește proteinele gazdei

Inhibitorii ciclofilinei B (Debio-025)

Ciclofilina B este o izomeraza cis-trans ubicuitar expimata, implicata in plierea multor proteine. S-a demonstrat ca ciclofilina B amplifica activitatea NS5B, facilitand astfel replicarea VHC. Debio-025 este un inhibitor cu administrare orala al ciclofilinei B, avand efect antiviral atat asupra replicarii VHC, cat si a replicarii HIV. In cadrul unor studii clinice, pacienti avand coinfectie HIV/ VHC au fost tratati cu 1200 mg Debio-025 de doua ori pe zi, timp de doua saptamani, ceea ce a condus la o reducere logaritmica medie de 3.6 a ARN VHC si de 1.0 a ARN HIV (Flisiak 2008). Debio-025 a fost bine tolerat si nu s-a inregistrat un breakthrough viral in timpul celor 14 zile de tratament.

Intr-un studiu de faza II dublu orb controlat placebo a fost evaluata terapia combinata cu Debio-250 200 mg, 600 mg sau 1000 mg si PEG-IFN α -2a la pacienti naivi monoinfectati cu VHC genotip 1, 2, 3 sau 4, timp de 29 de zile. Reducerea medie exprimata in \log_{10} a ARN VHC in ziua 29 a fost de 4.75 (1000 mg), 4.61 (600 mg) si 1.8 (200 mg) in grupurile cu terapie combinata, in comparatie cu 2.49 (monoterapie cu PEG-IFN α -2a), respectiv 2.2 (monoterapie cu 1000 mg Debio-025) in grupul cu monoterapie (Flisiak 2008). Studiile pentru determinarea ratelor RVS ale terapiei combinate cu Debio-025 si PEG-IFN α -2a sunt in curs de desfasurare.

Inhibitorii glucozidazei (Celgosivir (MX-3253))

Celgosivirul este un prodrog oral al inhibitorului α -glucozidazei, castanospermina. Pentru a evalua monoterapia cu celgosivir, s-au administrat pacientilor naivi infectati cu VHC cu genotip 1 o doza de 200 mg sau 400 mg celgosivir o data pe zi sau 200 mg de doua ori pe zi. Celgosivirul a fost in general bine tolerat, dar reduceri semnificative ale ARN VHC s-au observat doar la un numar redus de pacienti.

Pentru a evalua daca celgosivirul impreuna cu PEG-IFN α -2b si ribavirina poate accentua raspunsul virusologic s-a efectuat un studiu pe pacienti cu infectie VHC cu genotip 1 care, anterior, nu au raspuns tratamentului standard. S-a administrat o doza de 400 mg celgosivir o data pe zi, timp de 12 saptamani. Ratele de raspuns virusologic timpuriu (definite ca reduceri de 2 \log_{10} sau mai mari ale ARN VHC in saptamana 12) au fost de 42% dupa terapia tripla comparativ cu 10% in cadrul grupului de control tratat numai cu PEG-IFN α -2b si ribavirina. Reducerile medii ale ARN VHC au fost de 1,63 \log_{10} (terapia tripla) fata de 0,92 \log_{10} (tratamentul de control), dar ratele RVS (raspuns virusologic sustinut) nu au fost inca determinate. Nu s-au raportat efecte adverse grave legate de celgosivir (Kaita 2007).

Nitazoxanida

Nitazoxanida, avand ca produs metabolic activ tizoxanida, este un compus aprobat pentru tratamentul infectiilor cu *Giardia lamblia* si *Cryptosporidium parvum*. Studii

in vitro au demonstrat un efect inhibitor important asupra replicarii VHC, printr-un mecanism inca necunoscut.

Doua trialuri clinice au evaluat monoterapia cu nitazoxanida ca tratament principal, urmata de combinatia nitazoxanida si PEG-IFN α -2a. In ambele studii au fost urmariti predominant pacienti naivi infectati cu VHC cu genotip 4. Primul studiu a evaluat monoterapia cu nitazoxanida, administrata intr-o doza de 500 mg, de doua ori pe zi, timp de 12 saptamani, urmata fie de 36 de saptamani de tratament cu nitazoxanida plus PEG-IFN α -2 si ribavirina, fie de 36 de saptamani de tratament numai cu nitazoxanida plus PEG-IFN α -2a. Grupul de control a fost tratat timp de 48 de saptamani cu PEG-IFN α -2a si ribavirina. Ratele RVS au fost de 79% pentru nitazoxanida, urmata de PEG-IFN α -2a si ribavirina, si de 64% pentru nitazoxanida, urmata de PEG-IFN α -2a, comparativ cu 45% in grupul de control (Rossignol 2008). Totusi, rata RVS relativ scazuta din grupul de control nu a fost inca explicata deoarece, in studii anterioare, au fost inregistrate rate RVS mai ridicate la pacientii cu genotip 4 (aproximativ 70%). Un al doilea studiu ce evalueaza o faza initiala mai scurta, de 4 saptamani, cu nitazoxanida, nu a evidentiat diferente semnificative in raspunsurile virusologice rapid, timpuriu si de la sfarsitul tratamentului comparativ cu perioada initiala de 12 saptamani (Rossignol 2008). Ratele RVS au atins valori de pana la 80%, cele mai bune rezultate fiind inregistrate in grupurile cu o faza initiala de 4 saptamani. In general, nitazoxanida a fost bine tolerata si nu a fost raportat nici un efect advers semnificativ. Au fost initiate studii de pacienti infectati cu genotip VHC, altul decat genotipul 4.

Inhibitorii de inozin monofosfat dehidrogenaza (VX-497)

Inozin monofosfat dehidrogenaza (IMPDH) este o enzima celulara omniprezenta care catalizeaza producerea nucleotidelor cu guanozina. Studii in vitro au aratat un efect antiviral semnificativ asupra replicarii multor virusuri ADN si ARN prin inhibarea IMPDH.

VX-497 este un inhibitor IMPDH reversibil, cu biodisponibilitate orala. Un studiu de faza II realizat pe pacienti cu genotip VHC 1 non-responderi, a evaluat monoterapia cu VX-497 administrat intr-o doza de 200 mg si 400 mg timp de 28 de zile. VX-497 a fost bine tolerat si a condus la o scadere semnificativa a transferazelor serice. Cu toate acestea, incarcatura virala ARN VHC nu a fost modificata.

Amantadina

Amantadina este un medicament aprobat pentru tratamentul bolii Parkinson. In plus, a fost demonstrata actiunea antivirala a amantadinei impotriva mai multor virusuri ARN, inclusiv virusul gripal de tip A. Studii in vitro au aratat ca amantadina poate interactiona cu functia proteinei p7, care formeaza un canal ionic. Totusi, acest fapt nu a fost confirmat de un studiu recent realizat pe repliconi VHC (Steinmann 2007). Mai mult, nu au fost identificate mutatii specifice sau profiluri mutationale in proteina p7 a VHC asociate cu sensibilitatea sau rezistenta la amantadina (Mihm 2006).

Studii clinice care evalueaza efectul amantadinei asupra pacientilor cu hepatita cronica C au prezentat rezultate contradictorii. Monoterapia cu amantadina la o

doza de 100 mg, de doua ori pe zi, timp de 6 luni, nu a avut un efect antiviral semnificativ la pacientii cu hepatita cronica C (Andant 2000). Intr-un studiu clinic randomizat, dublu-orb, controlat placebo, combinatia IFN α cu amantadina nu a crescut ratele RVS in comparatie cu administrarea de IFN α singur (Zeuzem 2000). Combinatia amantadina cu PEG-IFN α si ribavirina a determinat rate RVS usor crescute la pacientii cu genotip 1 VHC non-responderi, insa nu a evidenciat nici un beneficiu semnificativ la pacientii naivi sau care au avut o recidiva comparativ cu tratamentul standard (Deltene 2004; Ferenci 2006; Maynard 2006). Mai recent, un studiu controlat randomizat, dublu-orb a fost efectuat in Germania, la peste 700 de pacienti naivi infectati cu VHC genotip 1. In cadrul acestui studiu nu s-a observat nici o diferenta semnificativa intre terapia tripla ce include si amantadina 200 mg de doua ori pe zi si tratamentul standard cu PEG-IFN α -2a si ribavirina (von Wagner 2008).

Noi preparate de interferon

Ambele forme actuale de interferon pegylat α trebuie administrate o data pe saptamana. Pentru unii pacienti administrarile injectabile mai putin frecvente pot fi asociate cu mai putine efecte secundare, un confort mai mare al tratamentului si o mai buna aderenta la tratament. De aceea, sunt in curs de dezvoltare noi interferoni, care sunt creati pentru a asigura un timp de injumatatire mai lung si concentratii plasmatiche durabile, avand ca rezultat reducerea frecventei injectiilor. In plus, mai multe companii urmaresc sa imbunatateasca efectele imunomodulatoare si antivirale ale interferonului alfa pentru a creste ratele de raspuns virusologic, mai ales la pacientii care nu raspund la regimuri curente bazate pe interferon α -2a/b. O alta abordare este generarea interferonilor modificati chimic pentru a obtine biodisponibilitatea orala. Dezvolтарile cu cele mai mari sanse in acest domeniu sunt rezumate mai jos.

Albinterferon

Albinterferon (albuferon) este un interferon recombinant nou, format din IFN α -2b fuzionat genetic cu albumina umana. Albumina umana are o perioada de injumatatire de aproximativ 20 de zile in sangele uman. In cadrul unor studii clinice aflate la inceput, albinterferonul s-a dovedit a fi sigur si au fost obtinute concentratii plasmatiche constante prin injectare o data la doua saptamani.

Intr-un studiu ulterior de faza II, realizat pe un numar de 458 de pacienti naivi cu genotip 1 VHC s-a cercetat eficacitatea antivirala a albinterferonului impreuna cu ribavirina comparativ cu tratamentul standard. Ratele RVS au fost de 58,5% si 55,5% la pacientii care primeau 900 mg sau 1200 mg albinterferon o data la doua saptamani, 50,9% la pacientii care primeau 1200 mg albuferon o data la 4 saptamani si de 57,9% in grupul de control (Balan 2006).

Un alt studiu, care include 115 pacienti cu genotip 1 non-responderi la tratamentul standard, a evaluat combinatia ribavirina plus 900 mg pana la 1200 mg albinterferon o data la doua saptamani, timp de 48 sau 72 saptamani. Rata RVS generala a fost de 17,4%, valoare mai ridicata decat ratele RVS publicate pentru repetarea tratamentului timp de 48 de saptamani si comparabila cu ratele RVS dupa

72 de saptamani de repetare a tratamentului cu interferon pegylat si ribavirina (Zeuzem 2008).

Eficacitatea albinterferonului in atingerea ratelor RVS la pacientii infectati cu genotip 2 sau 3 VHC este echivalenta cu cea a terapiei standard, dupa cum a fost demonstrat in urma unui alt studiu clinic de faza II.

Albinterferonul a fost, in general, bine tolerat. Cu toate acestea, unii pacienti care au primit 1200 mg fie o data la doua saptamani, fie o data la 4 saptamani, au prezentat efecte adverse pulmonare grave (pneumonie), ceea ce a dus la reducerea dozei la 900 mg in cadrul studiului ACHIEVE, aflat in desfasurare (faza III). In general, pneumonia a fost observata si la administrarea de interferoni sau interferon pegylat, reprezentand un efect advers al clasei de interferon α . Primele rezultate ale studiului de faza III cu pacienti infectati cu genotip 2/3 VHC au fost anuntate recent: per total, studiile cu albinterferon au indicat rate RVS egale cu terapia standard pentru infectia VHC.

IFN α -2bXL

IFN α -2bXL este un preparat cu IFN α -2b recombinant care asigura o eliberare sustinuta a IFN α activ cu modificari reduse ale concentratiei serice maxime. Farmacocinetica poate avea ca rezultat o rata scazuta a efectelor secundare si poate duce la cresterea tolerantei la medicament. In cadrul unui studiu clinic de faza Ib, pacienti cu genotip 1 VHC (naivi, non-responderi si cu recidiva) au fost tratati cu injectii saptamanale cu IFN α -2bXL sau PEG-IFN α -2b timp de 14 zile. IFN α -2bXL a prezentat activitate antivirala semnificativ crescuta la sfarsitul perioadei de tratament si cu efecte adverse mai putin frecvente (Trepo 2007). Sunt in desfasurare studii clinice extinse prin care se evalueaza IFN α -2bXL in combinatie cu ribavirina.

Interferon alpha-2b recombinant cu eliberare controlata (Locteron)

Locteronul este un preparat recombinant cu IFN α -2b nou, care asigura niveluri plasmatiche ale IFN- α sustinute atunci cand este administrat o data la doua saptamani. Studiul clinic SELECT-1 (faza II) a evaluat locteronul timp de 12 saptamani, administrat in doze de la 160 μ g pana la 640 μ g o data la doua saptamani, impreuna cu ribavirina la pacienti naivi cu genotip 1 VHC. Actiunea antivirala a fost dependenta de doza si a condus, pentru doze mai mari, la rate comparabile ale raspunsurilor virusologice rapid si timpuriu (EVR) la interferonii standard. Efectele secundare au fost echivalente celor ale interferonilor standard, insa administrarea a fost mai comoda pentru pacienti (Herrmann 2008). Un studiu de faza IIb a fost initiat de curand.

Belerofon

Belerofonul este cel mai avansat interferon biodisponibil oral, care in prezent a trecut la evaluarea de faza II. Date despre actiunea antivirala si siguranta acestui medicament se vor publica catre sfarsitul anului 2008.

Noi derivati ai ribavirinei

Taribavirina

Taribavirina este un prodrog oral al ribavirinei, realizat pentru a evita aparitia anemiei hemolitice severe care necesita frecvent reducerea dozei sau intreruperea tratamentului cu ribavirina. Taribavirina este transformata rapid in metabolitul sau activ, ribavirina, la nivelul hepatocitelor, ceea ce are ca rezultat concentratii plasmatice mai scazute ale ribavirinei. Taribavirina s-a demonstrat a fi sigura pentru pacientii cu boala hepatica compensata cauzata de VHC.

Un trial clinic de faza III (VISER 1) a evaluat combinatia 600 mg taribavirina impreuna cu PEG-IFN α -2b comparata cu ribavirina adaptata la greutate. Rata anemiilor a fost redusa drastic pentru grupul cu taribavirina (5% fata de 24%, definita ca Hb<10g/dl). Totusi, ratele RVS au fost semnificativ mai scazute pentru grupul cu taribavirina. Un al doilea studiu (VISER 2) a evaluat combinatia taribavirina 600 mg, de doua ori pe zi, impreuna cu PEG-IFN α -2a in cadrul unui studiu cu acelasi tip de planificare (Poordad 2008). Ratele pentru anemie si RVS au fost comparabile cu cele obtinute in cadrul trialului VISER 1. Deoarece o analiza retrospectiva de studiu pentru VISER 1 si 2 a indicat ca nivelele plasmatice ridicate ale taribavirinei sunt asociate cu rate mai ridicate ale RVS, a fost initiat de curand un studiu ce evalueaza dozele de taribavirina adaptate la greutate. Rezultate intermediare ale acestui studiu indica o eficacitate antivirala comparabila a taribavirinei si ribavirinei (Gish 2007).

Perspective

Exista o nevoie urgenta de imbunatatire a tratamentului pentru hepatita C, deoarece, in prezent, numai aproximativ 40-50% din numarul total de pacienti infectati pot fi vindecati. Mai mult, regimurile de tratament care au la baza interferon- α provoaca frecvent efecte adverse grave si necesita perioade lungi de administrare, scazand aderenta pacientului la tratament. Se poate anticipa ca progresele extraordinare in dezvoltarea agentilor antivirali specifici vor imbogati regimurile terapeutice viitoare, mai ales in cazul populatiilor dificil de tratat precum indivizii infectati cu genotip 1 sau pacientii cu reinfectie dupa transplant hepatic. Mai multi compusi STAT-C au prezentat o inhibare substantiala a replicarii VHC in vitro si in studiile clinice. Totusi, monoterapia are ca rezultat selectia quasispeciilor rezistente producand reemergenta virala si pierderea activitatii antivirale, lucru valabil mai ales in cazul inhibitorilor proteazei VHC si al inhibitorilor non-nucleozidici ai polimerazei ARN VHC, aceasta neperand a fi utila in tratarea hepatitei C. Cu toate acestea, asocierea interferonului pegylat si a ribavirinei s-a dovedit utila in limitarea aparitiei rezistentei la agenti antivirali specifici. Avand la baza rezultatele studiilor de faza II, regimurile cu terapie tripla imbunatatesc ratele RVS si pot reduce durata tratamentului. Important de semnalat este ca profilul de rezistenta a multor compusi STAT-C difera, iar rezistenta incrucisata intre compusi ce vizeaza proteine diferite virale si celulare este putin probabila. Analog terapiei HIV, combinarea medicamentelor cu moduri diferite de actiune se anticepeaza a fi eficienta in limitarea aparitiei rezistentei virale, experimentele in vitro demonstrand ca numerosi agenti antivirali noi cu mecanisme de actiune complementare au un

impact antiviral mai mult decat adjuvant atunci cand sunt combinate si reduc frecventa rezistentei. In vivo, terapiile combinate cu agenti antivirali specifici sunt inca in curs de evaluare. O alta directie de cercetare este evaluarea combinatiilor de agenti antivirali specifici fara interferon in obtinerea succesului terapeutic.

Referinte

- Andant C, Lamoril J, Deybach JC, Jouet P, et al. (2000). "Amantadine for chronic hepatitis C: pilot study in 14 patients." *Eur J Gastroenterol Hepatol* 12(12): 1319-22.
- Appel N, Zayas M, Miller S, Krijnse-Locker J, et al. (2008). "Essential role of domain III of non-structural protein 5A for hepatitis C virus infectious particle assembly." *PLoS Pathog* 4(3): e1000035.
- Balan V, Nelson D, Sulkowski M, Everson G, et al. (2006). "A Phase I/II study evaluating escalating doses of recombinant human albumin-interferon-alpha fusion protein in chronic hepatitis C patients who have failed previous interferon-alpha based therapy." *Antivir. Ther.* 4(11): 35-45.
- Bartenschlager R, Frese MPIetschmann T (2004). "Novel insights into hepatitis C virus replication and persistence." *Adv Virus Res* 63: 71-180.
- Barth H, Liang TJBaumert TF (2006). "Hepatitis C virus entry: molecular biology and clinical implications." *Hepatology* 44(3): 527-35.
- Bartosch B, Cosset FL (2006). "Cell entry of hepatitis C virus." *Virology* 348(1): 1-12.
- Bartosch B, Dubuisson JCosset FL (2003). "Infectious hepatitis C virus pseudo-particles containing functional E1-E2 envelope protein complexes." *J Exp Med* 197(5): 633-42.
- Bartosch B, Vitelli A, Granier C, Goujon C, et al. (2003). "Cell entry of hepatitis C virus requires a set of co-receptors that include the CD81 tetraspanin and the SR-B1 scavenger receptor." *J Biol Chem* 278(43): 41624-30.
- Beaulieu PL (2007). "Non-nucleoside inhibitors of the HCV NS5B polymerase: progress in the discovery and development of novel agents for the treatment of HCV infections." *Curr Opin Investig Drugs* 8(8): 614-34.
- Carrere-Kremer S, Montpellier-Pala C, Cocquerel L, Wychowski C, et al. (2002). "Subcellular localization and topology of the p7 polypeptide of hepatitis C virus." *J Virol* 76(8): 3720-30.
- Chandra P, Raible D, Harper D, Speth J, et al. (2006). "Antiviral activity of the non-nucleoside polymerase inhibitor, HCV-796, in patients with chronic hepatitis C virus: preliminary results from a randomized, double-blind, placebo-controlled, ascending multiple dose study." *Gastroenterology* 130(Suppl. 2): 748A.
- Chang SC, Yen JH, Kang HY, Jang MH, et al. (1994). "Nuclear localization signals in the core protein of hepatitis C virus." *Biochem Biophys Res Commun* 205(2): 1284-90.
- Chen CM, He Y, Lu L, Lim HB, et al. (2007). "Activity of a potent hepatitis C virus polymerase inhibitor in the chimpanzee model." *Antimicrob Agents Chemother* 51(12): 4290-6.
- Clarke D, Griffin S, Beales L, Gelais CS, et al. (2006). "Evidence for the formation of a heptameric ion channel complex by the hepatitis C virus p7 protein in vitro." *J Biol Chem* 281(48): 37057-68.
- Coelmont L, Paeshuyse J, Windisch MP, De Clercq E, et al. (2006). "Ribavirin antagonizes the in vitro anti-hepatitis C virus activity of 2'-C-methylcytidine, the active component of valopicitabine." *Antimicrob Agents Chemother* 50(10): 3444-6.
- Collier AJ, Gallego J, Klinck R, Cole PT, et al. (2002). "A conserved RNA structure within the HCV IRES eIF3-binding site." *Nat Struct Biol* 9(5): 375-80.
- Cooper C, Lawitz E, Ghali Pal. e (2007). "Antiviral activity of the non-nucleoside polymerase inhibitor, VCH-759, in chronic hepatitis C patients: Results from a rando-

- mized, double-blind, placebo-controlled, ascending multiple dose study." *Hepatology* 46(Suppl. 4): 864A.
- Courcambek J, Bouzidi M, Roche G, Pepe G, et al. (2008). "Hepatitis C Virus Drug Resistance: The case of NS3-4A macrocyclic protease inhibitor ITMN-191." *J Hepatol* 48(Suppl. 2): 286.
- Davis GL, Nelson DR, Terrault N, Pruet TL, et al. (2005). "A randomized, open-label study to evaluate the safety and pharmacokinetics of human hepatitis C immune globulin (Civacir) in liver transplant recipients." *Liver Transpl* 11(8): 941-9.
- Deltenre P, Henrion J, Canva V, Dharancy S, et al. (2004). "Evaluation of amantadine in chronic hepatitis C: a meta-analysis." *J Hepatol* 41(3): 462-73.
- Diedrich G (2006). "How does hepatitis C virus enter cells?" *Febs J* 273(17): 3871-85.
- Elazar M, Liu P, Rice CM, Glenn JS (2004). "An N-terminal amphipathic helix in hepatitis C virus (HCV) NS4B mediates membrane association, correct localization of replication complex proteins, and HCV RNA replication." *J Virol* 78(20): 11393-400.
- Evans MJ, von Hahn T, Tschernie DM, Syder AJ, et al. (2007). "Claudin-1 is a hepatitis C virus co-receptor required for a late step in entry." *Nature* 446(7137): 801-5.
- Ferenci P, Formann E, Laferl H, Gschwantler M, et al. (2006). "Randomized, double-blind, placebo-controlled study of peginterferon alfa-2a (40KD) plus ribavirin with or without amantadine in treatment-naïve patients with chronic hepatitis C genotype 1 infection." *J Hepatol* 44(2): 275-82.
- Flisiak R, Dumont J, Crabbe R (2007). "Cyclophilin inhibitors in hepatitis C viral infection." *Expert Opin Investig Drugs* 16(9): 1345-54.
- Flisiak R, Feinman V, Jablkowski M, Horban A, et al. (2008). "Efficacy and safety of increasing doses of the cyclophilin inhibitor DEBIO-025 in combination with pegylated interferon alpha-2a in treatment naïve chronic HCV patients." *J Hepatol* 48(Suppl. 2): 62.
- Flisiak R, Horban A, Gallay P, Bobardt M, et al. (2008). "The cyclophilin inhibitor Debio-025 shows potent anti-hepatitis C effect in patients coinfecting with hepatitis C and human immunodeficiency virus." *Hepatology* 47(3): 817-26.
- Forestier N, Reesink HW, Weegink CJ, McNair L, et al. (2007). "Antiviral activity of telaprevir (VX-950) and peginterferon alfa-2a in patients with hepatitis C." *Hepatology* 46(3): 640-8.
- Forestier N, Larrey DG, Guyader D, et al. (2008). Treatment of Chronic Hepatitis C Virus (HCV) Genotype 1 Patients with the NS3/4A Protease Inhibitor ITMN-191 Leads to Rapid Reductions in Plasma HCV RNA: Results of a Phase 1b Multiple Ascending Dose (MAD) Study. *Hepatology*. 48(Suppl 4): 1132A.
- Foster G (2004). "Past, present, and future hepatitis C treatments." *Semin Liver Dis* 24(Suppl. 2): 97-104.
- Fried MW (2002). "Side effects of therapy of hepatitis C and their management." *Hepatology* 36(5 Suppl 1): S237-44.
- Gallego J, Varani G (2002). "The hepatitis C virus internal ribosome-entry site: a new target for antiviral research." *Biochem Soc Trans* 30(2): 140-5.
- Gane EJ, Rodriguez-Torres M, Nelson DR, et al. Antiviral Activity of the HCV Nucleoside Polymerase Inhibitor R7128 In HCV Genotype 2 and 3 Prior Non-Responders: Interim Results of R7128 1500mg BID with PEG-IFN and Ribavirin For 28 Days. *Hepatology*. 48(Suppl 4):1024A..
- Gish RG, Arora S, Rajender Reddy K, Nelson DR, et al. (2007). "Virological response and safety outcomes in therapy-naïve patients treated for chronic hepatitis C with taribavirin or ribavirin in combination with pegylated interferon alfa-2a: a randomized, phase 2 study." *J Hepatol* 47(1): 51-9.

- Guerniou V, Gillet R, Berree F, Carboni B, et al. (2007). "Targeted inhibition of the hepatitis C internal ribosomal entry site genomic RNA with oligonucleotide conjugates." *Nucleic Acids Res* 35(20): 6778-87.
- Hadziyannis SJ, Sette H, Jr., Morgan TR, Balan V, et al. (2004). "Peginterferon-alpha2a and ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose." *Ann Intern Med* 140(5): 346-55.
- Herrmann E, Zeuzem S, Dzyublyk I, Moroz L, et al. (2008). "Viral kinetics during treatment with a controlled-release recombinant interferon alfa 2b in genotype 1 chronic hepatitis C patients." *J Hepatol* 48(Suppl. 2): 318.
- Hinrichsen H, Benhamou Y, Wedemeyer H, Reiser M, et al. (2004). "Short-term antiviral efficacy of BILN 2061, a hepatitis C virus serine protease inhibitor, in hepatitis C genotype 1 patients." *Gastroenterology* 127(5): 1347-55.
- Howe A, Cheng H, Johann S, Mullen S, et al. (2006). "Molecular mechanism of hepatitis C virus replicon variants with reduced susceptibility to a benzofuran inhibitor." *Antimicrob. Agents Chemothe.* 50(12): 103-13.
- Kaita K, Yoshida E, Kunimoto D, Anderson F, et al. (2007). "Phase II proof of concept study of celgisovir in combination with peginterferon alfa-2b and ribavirin in chronic hepatitis C genotype 1 non-responder patients." *J. Hepatol.* 46(Suppl.1): 56-57
- Kaukinen P, Sillanpaa M, Kotenko S, Lin R, et al. (2006). "Hepatitis C virus NS2 and NS3/4A proteins are potent inhibitors of host cell cytokine/chemokine gene expression." *Virology* 3: 66.
- Kim JL, Morgenstern KA, Griffith JP, Dwyer MD, et al. (1998). "Hepatitis C virus NS3 RNA helicase domain with a bound oligonucleotide: the crystal structure provides insights into the mode of unwinding." *Structure* 6(1): 89-100.
- Kim JL, Morgenstern KA, Lin C, Fox T, et al. (1996). "Crystal structure of the hepatitis C virus NS3 protease domain complexed with a synthetic NS4A cofactor peptide." *Cell* 87(2): 343-55.
- Klump K, Leveque V, Le Pogam S, Ma H, et al. (2006). "The novel nucleoside analog R1479 (4'-azidocytidine) is a potent inhibitor of NS5B-dependent RNA synthesis and hepatitis C virus replication in cell culture." *J Biol Chem* 281(7): 3793-9.
- Koch U, Narjes F (2006). "Allosteric inhibition of the hepatitis C virus NS5B RNA dependent RNA polymerase." *Infect Disord Drug Targets* 6(1): 31-41.
- Koch U, Narjes F (2007). "Recent progress in the development of inhibitors of the hepatitis C virus RNA-dependent RNA polymerase." *Curr Top Med Chem* 7(13): 1302-29.
- Koef G, Kati W (2008). "The emerging field of HCV drug resistance." *Expert Opin Investig Drugs* 17(3): 303-19.
- Kwo P, Lawitz EJ, McCone J, et al. (2008). HCV SPRINT-1: Boceprevir plus Peginterferon alfa-2b/Ribavirin for Treatment of Genotype 1 Chronic Hepatitis C in Previously Untreated Patients. *Hepatology.* 48(Suppl 4): 1024A.
- Lalezari J, Gane J, Rodriguez-Torres M, DeJesus E, et al. (2008). "Potent antiviral activity of the HCV nucleoside polymerase inhibitor R7128 with peg-ifn and ribavirin: interim results of R7128 500mg bid for 28 days." *J Hepatol* 48(Suppl. 2): 29.
- Lamarre D, Anderson PC, Bailey M, Beaulieu P, et al. (2003). "An NS3 protease inhibitor with antiviral effects in humans infected with hepatitis C virus." *Nature* 426(6963): 186-9.
- Lawitz E, Rodriguez-Torres M, Muir AJ, Kieffer TL, et al. (2008). "Antiviral effects and safety of telaprevir, peginterferon alfa-2a, and ribavirin for 28 days in hepatitis C patients." *J Hepatol* 49: 163-69.
- Le Pogam S, Jiang WR, Leveque V, Rajyaguru S, et al. (2006). "In vitro selected Con1 subgenomic replicons resistant to 2'-C-methyl-cytidine or to R1479 show lack of cross-resistance." *Virology* 351(2): 349-59.

- Le Pogam S, Sessaadri A, Kang H, Kosaka A, et al. (2008). "Low level of resistance, low viral fitness and absence of resistance mutations at baseline quasiespecies may contribute to high barrier to R1626 resistance in vivo." *J Hepatol* 48(Suppl. 2): 10A.
- Lesburg CA, Cable MB, Ferrari E, Hong Z, et al. (1999). "Crystal structure of the RNA-dependent RNA polymerase from hepatitis C virus reveals a fully encircled active site." *Nat Struct Biol* 6(10): 937-43.
- Lin C, Gates CA, Rao BG, Brennan DL, et al. (2005). "In vitro studies of cross-resistance mutations against two hepatitis C virus serine protease inhibitors, VX-950 and BILN 2061." *J Biol Chem* 280(44): 36784-91.
- Lin C. et al (2007). "Telaprevir (VX-950) is a Potent Inhibitor of HCV-NS3 Proteases Derived from Genotype Non-1 HCV-Infected Patients." *J. Hepatol.* 46(Suppl. 1): 8.
- Lin K, Kwong AD, Lin C (2004). "Combination of a hepatitis C virus NS3-NS4A protease inhibitor and alpha interferon synergistically inhibits viral RNA replication and facilitates viral RNA clearance in replicon cells." *Antimicrob Agents Chemother* 48(12): 4784-92.
- Lin K, Perni RB, Kwong AD, Lin C (2006). "VX-950, a novel hepatitis C virus (HCV) NS3-4A protease inhibitor, exhibits potent antiviral activities in HCV replicon cells." *Antimicrob Agents Chemother* 50(5): 1813-22.
- Lindenbach BD, Evans MJ, Syder AJ, Wolk B, et al. (2005). "Complete replication of hepatitis C virus in cell culture." *Science* 309(5734): 623-6.
- Lohmann V, Korner F, Koch J, Herian U, et al. (1999). "Replication of subgenomic hepatitis C virus RNAs in a hepatoma cell line." *Science* 285(5424): 110-3.
- Lorenz IC, Marcotrigiano J, Dentzer TGRice CM (2006). "Structure of the catalytic domain of the hepatitis C virus NS2-3 protease." *Nature* 442(7104): 831-5.
- Lozach PY, Amara A, Bartosch B, Virelizier JL, et al. (2004). "C-type lectins L-SIGN and DC-SIGN capture and transmit infectious hepatitis C virus pseudotype particles." *J Biol Chem* 279(31): 32035-45.
- Lu L, Pilot-Matias TJ, Stewart KD, Randolph JT, et al. (2004). "Mutations conferring resistance to a potent hepatitis C virus serine protease inhibitor in vitro." *Antimicrob Agents Chemother* 48(6): 2260-6.
- Ludmerer SW, Graham DJ, Boots E, Murray EM, et al. (2005). "Replication fitness and NS5B drug sensitivity of diverse hepatitis C virus isolates characterized by using a transient replication assay." *Antimicrob Agents Chemother* 49(5): 2059-69.
- Malcolm BA, Liu R, Lahser F, Agrawal S, et al. (2006). "SCH 503034, a mechanism-based inhibitor of hepatitis C virus NS3 protease, suppresses polyprotein maturation and enhances the antiviral activity of alpha interferon in replicon cells." *Antimicrob Agents Chemother* 50(3): 1013-20.
- Manns MP, McHutchison JG, Gordon SC, Rustgi VK, et al. (2001). "Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial." *Lancet* 358(9286): 958-65.
- Manns MP, Reesink HW, Moreno C, et al. (2008). Safety and antiviral activity of TMC435350 in treatment-naïve genotype 1 HCV-infected patients. *Hepatology.* 48(Suppl 4): 1023A
- Maynard M, Pradat P, Bailly F, Rozier F, et al. (2006). "Amantadine triple therapy for non-responder hepatitis C patients. Clues for controversies (ANRS HC 03 BITRI)." *J Hepatol* 44(3): 484-90.
- McHutchison J, Everson G, Gordon S, Jacobson I, et al. (2008). "PROVE1: Results from a phase 2 study of telaprevir with peginterferon alfa-2a and ribavirin in treatment-naïve subjects with hepatitis C." *J. Hepatol.* 48(Suppl. 2): 4.
- McHutchison JG, Shiffman ML, Terrault N, et al. (2008). A Phase 2b Study of Telaprevir with Peginterferon-Alfa-2a and Ribavirin in Hepatitis C Genotype 1 Null and Partial Res-

- ponders and Relapsers Following a Prior Course of Peginterferon-Alfa-2a/b and Ribavirin Therapy: PROVE3 Interim Results. *Hepatology*. 48(Suppl 4): 431A.
- McHutchison JG (2004). "Understanding hepatitis C." *Am J Manag Care* 10(2 Suppl): S21-9.
- McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, Shiffman ML, et al. (1998). "Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. Hepatitis Interventional Therapy Group." *N Engl J Med* 339(21): 1485-92.
- Meylan E, Curran J, Hofmann K, Moradpour D, et al. (2005). "Cardif is an adaptor protein in the RIG-I antiviral pathway and is targeted by hepatitis C virus." *Nature* 437(7062): 1167-72.
- Mihm U, Grigorian N, Welsch C, Herrmann E, et al. (2006). "Amino acid variations in hepatitis C virus p7 and sensitivity to antiviral combination therapy with amantadine in chronic hepatitis C." *Antivir Ther* 11(4): 507-19.
- Mo H, Lu L, Pilot-Matias T, Pithawalla R, et al. (2005). "Mutations conferring resistance to a hepatitis C virus (HCV) RNA-dependent RNA polymerase inhibitor alone or in combination with an HCV serine protease inhibitor in vitro." *Antimicrob Agents Chemother* 49(10): 4305-14.
- Moradpour D, Penin FRice CM (2007). "Replication of hepatitis C virus." *Nat Rev Microbiol* 5(6): 453-63.
- Nelson D, Pockros P, Godofsky E, Rodriguez-Torres M, et al. (2008). "High end-of-treatment response (84%) after 4 weeks of R1626, peginterferon alfa-2a (40kd) and ribavirin followed by a further 44 weeks of peginterferon alfa-2a and ribavirin." *J Hepatol* 48(Suppl. 2): 371.
- Nettles R, Chien C, Chung E, et al. (2008). BMS-790052 is a first-in-class potent hepatitis C virus (HCV) NS5A inhibitor for patients with chronic HCV infection: results from a proof-of-concept study. *Hepatology*. 48(2): 1025A. Pascu M, Martus P, Hohne M, Wiedenmann B, et al. (2004). "Sustained virological response in hepatitis C virus type 1b infected patients is predicted by the number of mutations within the NS5A-ISDR: a meta-analysis focused on geographical differences." *Gut* 53(9): 1345-51.
- Pawlotsky JM, CVHEaliez SMcHutchison JG (2007). "The hepatitis C virus life cycle as a target for new antiviral therapies." *Gastroenterology* 132(5): 1979-98.
- Pierra C, Benzaria S, Amador A, Moussa A, et al. (2005). "Nm 283, an efficient prodrug of the potent anti-HCV agent 2'-C-methylcytidine." *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 24(5-7): 767-70.
- Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, Galli G, et al. (1998). "Binding of hepatitis C virus to CD81." *Science* 282(5390): 938-41.
- Pockros PJ, Nelson D, Godofsky E, Rodriguez-Torres M, et al. (2008). "R1626 plus peginterferon Alfa-2a provides potent suppression of hepatitis C virus RNA and significant antiviral synergy in combination with ribavirin." *Hepatology* 48(2):385-97. Poordad F, Lawitz E, Chun E, Hammond Je, et al. (2008). "Treatment week 12 results of weight-based taribavirin versus weight-based ribavirin, both with peginterferon alfa-2b, in naïve chronic hepatitis C, genotype 1 patients." *J Hepatol* 48(Suppl. 2): 373.
- Pottage J, Lawitz E, Mazur D, Wyles D, et al. (2007). "Short-term antiviral activity and safety of ACH-806, an NS4A antagonist, in HCV genotype 1 infected individuals." *J. Hepatol*. 46(Suppl. 1: 294-5).
- Reesink H, Verloes R, Abou Farha K, Van Vliet A, et al. (2008). "Safety of the HCV protease inhibitor TMC435350 in healthy volunteers and safety and activity in chronic hepatitis c infected individuals: a phase 1 study." *J Hepatol* 48(Suppl. 2): 28.
- Reesink HW, Zeuzem S, Weegink CJ, Forestier N, et al. (2006). "Rapid decline of viral RNA in hepatitis C patients treated with VX-950: a phase Ib, placebo-controlled, randomized study." *Gastroenterology* 131(4): 997-1002.

- Reiser M, Hinrichsen H, Benhamou Y, Reesink HW, et al. (2005). "Antiviral efficacy of NS3-serine protease inhibitor BILN-2061 in patients with chronic genotype 2 and 3 hepatitis C." *Hepatology* 41(4): 832-5.
- Roberts SK, Cooksley G, Dore GJ, Robson R, et al. (2008). "2Robust antiviral activity of R1626, a novel nucleoside analog: a randomized, placebo-controlled study in patients with chronic hepatitis C." *Hepatology* 48(2): 398-406.
- Rossignol J, Elfert A, Keeffe E (2008). "Evaluation of a 4 week lead-in phase with nitazoxanide prior to nitazoxanide+peginterferon in treating chronic hepatitis C." *J Hepatol* 48(Suppl. 2): 311.
- Rossignol J, Kabil S, El-Gohary Y, Keeffe E (2008). "Randomized controlled trial of nitazoxanide-peginterferon-ribavirin, nitazoxanide-peginterferon and peginterferon-ribavirin in the treatment of patients with chronic hepatitis c genotype 4." *J. Hepatol.* 48(Suppl. 2): 30.
- Rossignol J, Elfert A, Keeffe EB, et al. (2008). Evaluation of a 4 Week Lead-In Phase with Nitazoxanide (NTZ) Prior to Peginterferon (PegIFN) Plus NTZ for Treatment of Chronic Hepatitis C: Final Report. *Hepatology.* 48(Suppl 4): 344A.
- Sarrazin C, Kieffer TL, Bartels D, Hanzelka B, et al. (2007). "Dynamic hepatitis C virus genotypic and phenotypic changes in patients treated with the protease inhibitor telaprevir." *Gastroenterology* 132(5): 1767-77.
- Sarrazin C, Rouzier R, Wagner F, Forestier N, et al. (2007). "SCH 503034, a novel hepatitis C virus protease inhibitor, plus pegylated interferon alpha-2b for genotype 1 nonresponders." *Gastroenterology* 132(4): 1270-8.
- Schiano TD, Charlton M, Younossi Z, Galun E, et al. (2006). "Monoclonal antibody HCV-AbXTL68 in patients undergoing liver transplantation for HCV: results of a phase 2 randomized study." *Liver Transpl* 12(9): 1381-9.
- Schiff E, Poordad F, Jacobson I, et al. (2008). Boceprevir (B) combination therapy in null responders (NR): response dependent on interferon responsiveness. *J Hepatol* 48(Suppl 2): 104.
- Soler M, McHutchison JG, Kwoh TJ, Dorr FA, et al. (2004). "Virological effects of ISIS 14803, an antisense oligonucleotide inhibitor of hepatitis C virus (HCV) internal ribosome entry site (IRES), on HCV IRES in chronic hepatitis C patients and examination of the potential role of primary and secondary HCV resistance in the outcome of treatment." *Antivir Ther* 9(6): 953-68.
- Steinmann E, Penin F, Kallis S, Patel AH, et al. (2007). "Hepatitis C virus p7 protein is crucial for assembly and release of infectious virions." *PLoS Pathog* 3(7): e103.
- Susser S, Welker M, Zettler M, Wohnsland A, et al. (2008). "Clonal analysis of mutations selected in the HCV NS3 protease domain of genotype 1 non-responders treated with boceprevir." *J Hepatol* 48(Suppl. 2): 29.
- Suzuki R, Matsuura Y, Suzuki T, Ando A, et al. (1995). "Nuclear localization of the truncated hepatitis C virus core protein with its hydrophobic C terminus deleted." *J Gen Virol* 76 (Pt 1): 53-61.
- Tong X, Chase R, Skelton A, Chen T, et al. (2006). "Identification and analysis of fitness of resistance mutations against the HCV protease inhibitor SCH 503034." *Antiviral Res* 70(2): 28-38.
- Trepo C, Guest M, Meyrueix R, Rouzier R, et al. (2007). "Evaluation of antiviral activity and tolerance of a novel sustained release interferon-alpha-2b (IFN-alpha-2BXL) compared to pegylated interferon-alpha-2b (PEG-IFN-alpha-2B): a phase 1b trial in HCV patients." *Hepatology* 46(Suppl. 4): 238.
- VanCompernelle SE, Wiznycia AV, Rush JR, Dhanasekaran M, et al. (2003). "Small molecule inhibition of hepatitis C virus E2 binding to CD81." *Virology* 314(1): 371-80.
- Villano S, Raible D, Harper D, Speth J, et al. (2007). "Antiviral activity of the non-nucleoside polymerase inhibitor, HCV-796, in combination with pegylated interferon alfa-2b in treatment-naive patients with chronic HCV." *J. Hepatol.* 46(Suppl. 1): 24.

- von Wagner M, Hofmann W, Teuber G, Berg T, et al. (2008). "Placebo-controlled trial of 400 mg amantadine with peginterferon alfa-2a and ribavirin for 48 weeks in chronic HCV-1-infection." *Hepatology* 48: 1404-11.
- Wakita T, Pietschmann T, Kato T, Date T, et al. (2005). "Production of infectious hepatitis C virus in tissue culture from a cloned viral genome." *Nat Med* 11(7): 791-6.
- Weiner AJ, Christopherson C, Hall JE, Bonino F, et al. (1991). "Sequence variation in hepatitis C viral isolates." *J Hepatol* 13 Suppl 4: S6-14.
- Welsch C, Domingues FS, Susser S, Antes I, et al. (2008). "Molecular basis of telaprevir resistance due to V36 and T54 mutations in the NS3-4A protease of the hepatitis C virus." *Genome Biol* 9(1): R16.
- Wohnsland A, Hofmann W, Sarrazin C (2007). "Viral determinants of resistance to treatment in patients with hepatitis C." *Clin Microbiol Rev* 20(1): 23-38.
- Wyles D, Kaihara K, Schooley R (2008). "Synergy of a Hepatitis C Virus (HCV) NS4A Antagonist in Combination with HCV Protease and Polymerase Inhibitors." *Antimicrob Agents Chemother* 52(5): 1862-4.
- Yang W, Zhao Y, Fabrycki J, Hou X, et al. (2008). "Selection of Replicon Variants Resistant to ACH-806, a Novel Hepatitis C Virus Inhibitor with No Cross-Resistance to NS3 Protease and NS5B Polymerase Inhibitors." *Antimicrob Agents Chemother* 52(5): 1862-4.
- Zeuzem S, Sarrazin C, Wagner F et al. (2005). "Antiviral activity of SCH 503034, a HCV protease inhibitor, administered as monotherapy in hepatitis C genotype 1 (HCV-1) patients refractory to pegylated interferon (PEG-IFN-alpha)." *Hepatology* 42(Suppl. 1): 276A.
- Zeuzem S, Teuber G, Naumann U, Berg T, et al. (2000). "Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of interferon alfa2a with and without amantadine as initial treatment for chronic hepatitis C." *Hepatology* 32(4 Pt 1): 835-41.
- Zeuzem S, Yoshida E, Benhamou Y, Pianko S, et al. (2008). "Sustained virologic response rates with albinterferon alfa-2b plus ribavirin treatment in IFN-naive, chronic hepatitis C genotype 1 patients." *Hepatology* 48: 407-17.
- Zeuzem S, Hezode C, Ferenci P, et al. (2008). "Telaprevir in Combination with Peginterferon-Alfa-2a with or without Ribavirin in the Treatment of Chronic Hepatitis C: Final Results of the PROVE2 Study." *Hepatology* 48(Suppl 4): 418A.
- Zhou Y, Bartels DJ, Hanzelka BL, Muh U, et al. (2008). "Phenotypic characterization of resistant Val36 variants of hepatitis C virus NS3-4A serine protease." *Antimicrob Agents Chemother* 52(1): 110-20.

Capitolul 15: Managementul reactiilor adverse ale medicamentelor antivirale

Martin Schaefer and Stefan Mauss

Introducere

Aderenta este factorul cheie pentru succesul tratamentului in hepatita C dar aproape toti pacientii tratati cu interferon si ribavirina prezinta reactii adverse ce pot duce la scaderea aderentei. Cele mai frecvente reactii adverse la pacientii tratati cu interferon pegylat plus ribavirina sunt simptome flu-like, mialgia, insomniile, astenia, tulburarile gastrointestinale si depresia (Tabel 1).

Efecte psihice secundare	Incidenta
Astenia	70-80%
Insomnia	45-65%
Iritabilitatea	60-85%
Disfunctii cognitive cu deficit de concentrare si memorie	45-60%
Episoade de depresie	50-60%
Blande	20-40%
Moderate	15-30%
Severe	1-5%
Delir, psihoza	1-6%
Sindrom suicidal	<1%

Tabel 1. Incidenta celor mai reportate efecte psihice secundare induse de IFN α . Date provenite din ambulator, Clinica Essen-Mitte, Essen.

Deoarece pentru majoritatea efectelor adverse nu s-au realizat studii clinice pentru ajustarea dozei recomandarile autorilor se bazeaza in parte numai pe experienta clinica.

Simptome asemanatoare gripei, febra, artralgia si mialgia

La cateva ore de la administrarea PEG-IFN injectabil pot apare simptome flu-like, febra, artralgie si mialgie, simptome ce persista trei zile. De obicei inainte sau imediat dupa injectia cu interferon se administreaza paracetamol sau alte antiinflamatoare nonsteroidiene. Dupa primele saptamani de tratament simptomele asemanatoare gripei se diminueaza spontan (Figura 1).

La pacientii cu un numar scazut de trombocite, pentru a evita tulburarile de coagulare, este contraindicata administrarea acidului acetilsalicilic, diclofenacului sau ibuprofenului. Datorita hepatotoxicitatii, nu se recomanda administrarea paracetamolului in doze mai mari de 2g/zi,.

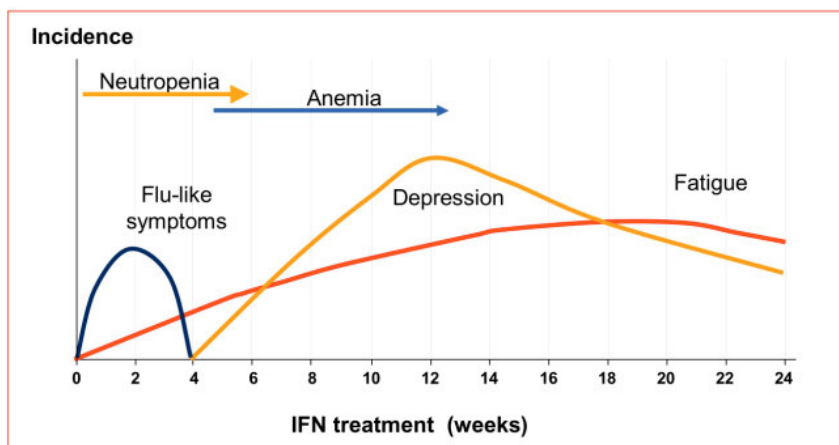


Figura 1. Evolutia efectelor adverse asociate interferonului

Tulburari gastrointestinale

Greata poate fi diminuată prin administrarea înainte de ribavirină a unor agenți prokinetici precum metoclopramidul sau domperidona, ceea ce poate ameliora și frecvența pierdere a apetitului.

Uscăciunea gurii este o complicație frecventă a tratamentului cu ribavirină care persistă și după întreruperea acestuia ca rezultat al inhibării glandelor salivare.

Scaderea in greutate

Scaderea medie în greutate în cursul tratamentului cu interferon pe o durată de 48 săptămâni este de 6-10%, este reversibilă la întreruperea medicației (Seyam 2004) și în cele mai multe cazuri se datorează inapetenței și scaderii aportului caloric.

Astenia

În primele săptămâni de tratament pacienții se plâng frecvent de astenie progresivă (Figura 1). La pacienții cu anemie severă aceste simptome se pot atenua prin creșterea hemoglobinei, fie prin administrarea eritropoietinei, fie prin reducerea dozei de ribavirină sau transfuzia eritrocitară (Pockros 2004). Astenia a fost raportată și la pacienții cu hipotiroidism. Este dificil de tratat simptomatice astenia la pacienții fără o complicație ascunsă cum ar fi anemia, depresia sau hipotiroidismul.

În cazuri individuale astenia cronică a fost tratată cu succes cu antidepressive sau triptofan (Sammut 2002; Schaefer 2008). Primul studiu prospectiv randomizat a arătat un efect net superior al antagonistului receptorului 5-HT-3 pentru ondansetron comparativ cu placebo (Piche 2005), dar datele disponibile la ora actuală nu permit recomandări terapeutice specifice.

Tusea si dispneea

Tusea se raporteaza frecvent, probabil datorita edemului mucoasei respiratorii si din aceasta cauza astmul bronsic avansat controlat reprezinta o contraindicatie in tratamentul hepatitei C. Un alt simptom raportat frecvent este dispneea, cu o etiologie complexa, care implica edematizarea mucoasei, anemie si astenie.

Afectiunile glandei tiroide

In timpul terapiei cu interferon se raporteaza o incidenta de 3-10% a hipotiroidismului (Bini 2004; Tran 2005) si 1-3% a hipertiroidismului (Bini 2004; Tran 2005). Tiroidita indusa de interferon sau aparitia anticorpilor anti-tiroidieni par sa fie un mecanism de fond. Tratamentul se face fie prin substitutia hormonului tiroidian in hipotiroidism, fie prin administrarea β -blocantilor sau carbimazolului in hipertiroidismul clinic simptomatic, nefind necesara intreruperea interferonului. Desi in unele cazuri este necesara terapia cu hormoni tiroidieni pe termen lung, majoritatea cazurilor de hipotiroidism sunt reversibile la intreruperea administrarii interferonului.

Efecte psihice secundare

Incidenta si profilul efectelor psihice secundare

In tabelul 1 sunt prezentate cele mai comune efecte psihice secundare induse de interferon, dar datele cu privire la frecventa acestora difera in functie de design-ul studiului. In majoritatea studiilor din hepatologie se monitorizeaza doar depresia severa fara a se diferentia gradele de depresie, ajungandu-se astfel la subraportarea episoadelor de depresie moderata sau usoara. Studiile privind afectarea psihica utilizeaza clasificari proprii (e.g., SDS, BDI); sau monitorizarea utilizand scara depresiei Hamilton (HAMDS) sau scala depresiei Montgomery Asperg (MADRS), care clasifica simptome sau modificari ce nu indeplinesc criteriul DSM-IV pentru depresie severa. Prin prisma acestei evaluari mai complexe, se apreciaza ca peste 50% din pacienti sufera de tulburari de somn, astenie cronica, iritabilitate sau disfunctii cognitive (Schaefer 2007; Schaefer 2002; Dieperink 2000; Renault 1987). In timpul primelor 2 luni de tratament la 30-45% din pacienti apare anxietatea, la 30-60% apare depresia moderata cu simptome ca scaderea respectului de sine, anhedonia, lipsa de interes, nepasare, scaderea libido-ului si plansul necontrolat; la 20-30% apar episoade de depresie moderata spre severa (Bonnaccorso 2002; Dieperink 2000; Renault 1987; Schaefer 2002; Malaguarnera 2002), iar la 5-6% apar ideile de suicid, raportandu-se in cateva cazuri si incercari de sinucidere (Janssen 1994). Un efect secundar rar raportat este mania. Contrar parerilor generale, la pacientii cu tulburari psihice anterioare nu creste riscul aparitiei depresiei sau incercarilor de suicid (Schaefer 2007; Schaefer 2003; Pariante 2002). Pacientii cu antecedente in utilizarea drogurilor intravenoase sunt mai predispusi la intreruperea tratamentului in primele trei luni fata de cei din grupul control (Schaefer 2003; Mauss 2004; Schaefer 2007).

Antidepressivele cele mai frecvent utilizate in trialurile recente de terapie cu interferon sunt inhibitorii selectivi de serotonina (selective serotonin re-uptake inhibitors,

SSRI) precum citaprolamina, paroxetin sau antidepresivele triciclice ca doxepina. Introducerea SSRI si a altor antidepresive curente a redus dramatic profilul efectelor adverse ale antidepresivelor. Prin urmare, in functie de simptomele majore, in depresia indusa de interferon se recurge la sedativele uzuale sau antidepresivele active, in special SSRI (Tabelul 2). La pacientii care prezinta in special agitate si agresivitate se pot adauga si alte strategii cum ar fi antipsihoticele mai noi.

Prima optiune		A doua optiune*	
Lipsa motivatiei Constientizare	frica agitatie	Lipsa motivatiei constientizare	frica agitatie
Paroxetina Citalopram S-Citalopram Sertralina	Mirtazapina	Clomipramina Imipramina	Doxepin Amitriptyline

*risc crescut de reactii adverse

Tabel 2. Antidepresive utilizate in tratamentul depresiei asociate administrarii α -interferonului.

Eficacitatea antidepresivelor utilizate in tratamentul depresiei asociate administrarii α -interferonului este dovedita de mai multe studii. (Farah 2002; Gleason 2002; Kraus 2001; Schramm 2000; Hauser 2002; Gleason 2005). De curand datele obtinute in studii prospective controlate au aratat o imbunatatire semnificativa a simptomelor depresiei asociate administrarii α -interferonului dupa tratamentul cu citalopram (Kraus 2008) sau SSRI, fiind eficiente si antidepresivele cu profiluri diferite pentru receptori (i.e., mirtazapine) si cele clasice (i.e., nortriptyline), (Kraus 2001; Valentine 1995). Totusi antidepresivele triciclice trebuie sa fie a doua optiune terapeutica datorita interactiunilor farmacologice si efectelor secundare de tip anticolinergic ce pot induce un risc crescut pentru aparitia delirului, afectarea cardiaca sau hepatica si interactiuni cu alte medicamente. Pentru reducerea reactiilor adverse si cresterea aderenței, tratamentul antidepresiv poate incepe cu o doza relativ scazuta, cresterea ei facandu-se in functie de eficienta si tolerabilitate. Efectul antidepresiv terapeutic nu poate apare mai devreme de 8-14 zile, iar in absenta raspunsului doza trebuie crescuta. Aderenta la tratament poate fi evaluata monitorizand nivelele serice inainte ca pacientilor sa li se administreze un alt antidepresiv.

Benzodiazepinele pot fi administrate o perioada scurta de timp in cazul tulburarilor profunde de somn, iritabilitatii sau depresiei dar trebuie evitate la pacientii care au utilizat droguri intravenoase sau au in antecedente de abuz de alcool deoarece induc dependenta.

In psihoze se administreaza antipsihotice e.g., risperidona, olanzapina in doze scazute si sub monitorizarea psihiatrului. Unul din factorii de risc ai psihozelor este utilizarea drogurilor intravenoase.

Cu toate ca depresia severa si incercarile de suicid in antecedente constituie o contraindicatie a terapiei cu interferon, in colaborare cu un psihiatru cu experienta si in conditii bune se poate incepe terapia la acest segment de pacienti (Schaefer 2004; Schaefer 2007).

Terapia preemtiva cu antidepresive

Un studiu randomizat dublu orb in care erau inclusi pacienti cu melanom malign a demonstrat ca administrarea a 20mg de paroxetina pe zi, timp de 14 zile anterior terapiei cu interferon, reduce semnificativ incidenta depresiei (Musselmann 2001). Tratamentul cu paroxetina previne si aparitia fricii, tulburarilor cognitive si durerii care pot aparea pe parcursul terapiei cu interferon, dar nu previne astenia, tulburarile de somn, anhedonia si iritabilitatea (Capuron 2002). Intr-un studiu prospectiv recent s-a aratat ca administrand anterior citalopram se reduce semnificativ depresia aparuta in primele 6 luni de terapie antivirala la pacientii infectati VHC cu afectiuni psihice, fata de grupul control (Schaefer 2005). Mai mult, tratamentul profilactic cu SSRI atenuaza simptomatologia din depresie la pacientii care au prezentat episoade de depresie severa in cursul unei terapii anterioare cu interferon α (Kraus 2005), si alte studii recomandand terapia cu antidepresive inainte de initierea administrarii interferonului la pacientii cu antecedente psihiatrice (Raison 2007). In concluzie, se recomanda administrarea profilactica a antidepresivelor tuturor pacientilor care au prezentat simptome de depresie anterior terapiei cu interferon si este in evaluare situatia pacientilor cu boli psihice deja diagnosticate

Tulburarile de somn

In tulburarile de somn se recomanda zopiclon sau trimipramina; in insomnii zolpidemul. Desi comparativ cu alte benzodiazepine riscul dependentei este foarte mic se recomanda prescrierea unor cantitati mici de zopiclon sau zolpidem si administrarea lor doar in timpul terapiei cu interferon. Deoarece tulburarile de somn pot fi un simptom de depresie, este importanta identificarea tuturor simptomelor depresiei si administrarea la nevoie a unor antidepresive cu efecte sedative, ca de exemplu mirtazapina.

Efecte hematologice si imunologice

Terapia cu interferon duce la o scadere marcata a numarului de leucocite in general, in special a neutrofilelor si a numarului absolut de limfocite T CD4+, schimbare imuna care nu duce la cresterea numarului infectiilor oportuniste severe nici chiar la pacientii coinfectati cu HIV (Fried 2002; Manns 2001; Torriani 2004). In general in timpul terapiei cu interferon incidenta infectiilor severe este scazuta (<5%).

G-CSF duce la cresterea neutrofilelor la pacientii tratati cu interferon, dar se administreaza cu precautie deoarece in studiile clinice nu a aratat nici un beneficiu. Anemia hemolitica indusa de ribavirina este agravata de efectul mielosupresiv al interferonului ce inhiba reticulocitoza compensatorie. (De Franceschi 2000), si in

consecinta, anemia (<10 g/dl) apare la 20% din pacienti (Hadziyannis 2004). In cazurile severe de anemie se recomanda reducerea dozei de ribavirina, rareori este necesara transfuzia eritrocitara. Eritropoietina poate fi utilizata cu succes pentru corectarea anemiei cu toate acestea studiile nu au demonstrat o crestere a eficientei tratamentului antiviral la pacientii tratati cu eritropoietina (Afdahl 2004; Pockros 2004; Shiffman 2007), aceasta nefiind aprobata ca factor corector al anemiei indusa de tratamentul cu ribavirina.

Trombocitopenia moderata sau usoara apare frecvent la pacientii cu fibroza hepatica severa complicand terapia cu interferon, dar chiar si trombocitopenia severa este reversibila la reducerea dozei de interferon. Studiile au aratat ca eltrombopag poate fi administrat cu success pentru a induce o crestere a numarului de trombocite la pacientii cu hepatita C cu trombocitopenie (McHutchison 2007).

Boli de piele si alopecia

Unele boli de piele precum lichenul plan, vasculita necrozanta sau porfirita cutanata apar in cursul infectiei cu VHC. Efectele tratamentului antiviral in aceste afectiuni nu au fost studiate in totalitate (Berk 2007).

Terapia cu interferon si ribavirina poate determina la nivelul tegumentului uscaciune, prurit, eczema sau exacerbarea psoriazisului si in functie de leziune se pot administra unguente cu substante rehidratante, uree sau steroizi. In cazurile severe se recomanda control dermatologic. Eczema si psoriazisul pot persista si dupa incetarea terapiei cu interferon.

Reactia adversa locala dupa administrarea interferonului pegylat se intalneste des si apare sub forma unei induratii eritematoase ce persista zile si chiar saptamani, si pentru a evita aparitia ulcerelor se recomanda injectarea in locuri diferite.

Caderea parului este frecventa, apare dupa prima saptamana de terapie si persista cateva saptamani dupa incetarea ei. Alopecia este rara si reversibila chiar daca structura firului de par se poate modifica.

Aderenta

Analizele retrospective cu privire la aderenta arata ca pentru succesul terapiei este necesar ca cel putin 80% din dozele cumulate de ribavirina and interferon sa fie luate de pacient. O scadere sub pragul de 80% se asociaza cu deteriorarea raspunsului virusologic sustinut (Camma 2005). Un alt marker surogat al aderentei este rata de intrerupere timpurie a terapiei, care variaza de obicei intre 10–15% pentru interferon pegylat si ribavirina (Fried 2002; Manns 2001).

Concluzie

In concluzie, terapia cu interferon si ribavirina este grefata de toxicitate ridicata si necesita un management activ si cunostinte teoretice bune in special cu privire la efectele psihice secundare.

Pentru a imbunatati eficacitatea tratamentului in hepatita C, in special la pacientii infectati cu VHC genotipul 1 se recomanda tripla terapie, adaugand la combinatia interferon si ribavirina prima generatie de inhibitori de proteaza si polimeraza a VHC. Studiile actuale indica ca majoritatea medicamentelor au numeroase reactii

adverse hematologice și dermatologice. Evaluarea din timp a acestora va crește aderența și deci eficacitatea noilor terapii.

Referințe

- Afdhal NH, Dieterich DT, Pockros PJ, Schiff ER, Shiffman ML, Sulkowski MS, Wright T, Younossi Z, Goon BL, Tang KL, Bowers PJ; Proactive Study Group. Epoetin alfa maintains ribavirin dose in HCV-infected patients: a prospective, double-blind, randomized controlled study. *Gastroenterology*. 2004 May;126(5):1302-11.
- Berk DR, Mallory SB, Keeffe EB, Ahmed A. Dermatologic disorders associated with chronic hepatitis C: effect of interferon therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2007 ;5(2):142-51.
- Bini EJ, Mehandru S. Incidence of thyroid dysfunction during interferon alfa-2b and ribavirin therapy in men with chronic hepatitis C: a prospective cohort study. *Arch Intern Med*. 2004 ; 164(21):2371-6.
- Bonaccorso S, Marino V, Puzella A, Pasquini M, Biondi M, Artini M et al. Increased depressive ratings in patients with hepatitis C receiving interferon-alpha-based immunotherapy are related to interferon-alpha-induced changes in the serotonergic system. *J Clin Psychopharmacol* 2002; 22[1]:86-90.
- Cammà C, Licata A, Cabibbo G, Latteri F, Craxi A. Treatment of hepatitis C: critical appraisal of the evidence. *Expert Opin Pharmacother*. 2005;6(3):399-408.
- Capuron L, Ravaud A, Neveu PJ, Miller AH, Maes M, Dantzer R. Association between decreased serum tryptophan concentrations and depressive symptoms in cancer patients undergoing cytokine therapy. *Mol Psychiatry* 2002; 7[5]:468-473.
- De Franceschi L, Fattovich G, Turrini F, Ayi K, Brugnara C, Manzato F, Noventa F, Stanzial AM, Solero P, Corrocher R. Hemolytic anemia induced by ribavirin therapy in patients with chronic hepatitis C virus infection: role of membrane oxidative damage. *Hepatology* 2000; 31(4): 997-1004.
- Dieperink E, Willenbring M, Ho SB. Neuropsychiatric symptoms associated with hepatitis C and interferon alpha: A review. *Am J Psychiatry* 2000; 157[6]:867-876.
- Farah A. Interferon-induced depression treated with citalopram. *J Clin Psychiatry* 2002; 63(2):166-7.
- Fried M, Shiffman M, Reddy R, et al. Peginterferon alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2002; 347: 975-982.
- Gleason OC, Yates WR, Isbell MD, Philipson MA. An open-label trial of citalopram for major depression in patients with hepatitis C. *J Clin Psychiatry*, 2002. 63(3):194-8.
- Gleason OC, Yates WR, Philipson MA. Major depressive disorder in hepatitis C: an open-label trial of escitalopram. *Prim Care Companion J Clin Psychiatry* 2005; 7(5):225-230.
- Hadziyannis SJ, Sette H Jr, Morgan TR, Balan V, Diago M, Marcellin P, Ramadori G, Bodenheimer H Jr, Bernstein D, Rizzetto M, Zeuzem S, Pockros PJ, Lin A, Ackrill AM; PEGASYS International Study Group: Peginterferon-alpha2a and ribavirin in combination therapy in chronic hepatitis C: a randomized study of treatment duration and ribavirin dose. *Ann Intern Med* 2004; 140: 346-55.
- Hauser P, Khosla J, Aurora H, Laurin J, Kling MA, Hill J et al. A prospective study of the incidence and open-label treatment of interferon-induced major depressive disorder in patients with hepatitis C. *Mol Psychiatry* 2002; 7(9):942-947.
- Janssen HL, Brouwer JT, van der Mast RC, Schalm SW. Suicide associated with alpha-interferon therapy for chronic viral hepatitis. *J Hepatol* 1994; 21[2]:241-243.
- Kraus MR, Schafer A, Scheurlen M. Paroxetine for the prevention of depression induced by interferon alfa. *N Engl J Med* 2001; 345(5):375-6.

- Kraus MR, Schafer A, Faller H, Csef H, Scheurlen M. Paroxetine for the treatment of interferon-alpha-induced depression in chronic hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16(6):1091-9.
- Kraus MR, Schafer A, Al-Taie O, Scheurlen M. Prophylactic SSRI during interferon alpha re-therapy in patients with chronic hepatitis C and a history of interferon-induced depression. *J Viral Hepat* 2005;12(1):96-100.
- Kraus MR, Schafer A, Schottker K, Keicher C, Weissbrich B, Hofbauer I et al. Therapy of interferon-induced depression in chronic hepatitis C with citalopram: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Gut*. 2008; 57(4):531-6
- Malaguarnera M, Laurino A, Di F, I, Pistone G, Castorina M, Guccione N et al. Neuropsychiatric effects and type of IFN-alpha in chronic hepatitis C. *J Interferon Cytokine Res* 2001; 21[5]:273-278.
- Manns M, McHutchison J, Gordon S, et al. Peginterferon alfa-2b plus ribavirin compared with interferon alfa-2b plus ribavirin for initial treatment of chronic hepatitis C: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358: 958-965.
- McHutchison JG, Dusheiko G, Shiffman ML, Rodriguez-Torres M, Sigal S, Bourliere M, Berg T, Gordon SC, Campbell FM, Theodore D, Blackman N, Jenkins J, Afdhal NH and the TPL102357 Study Group. Eltrombopag for thrombocytopenia in patients with cirrhosis associated with hepatitis C. *N Engl J Med*. 2007;357(22):2227-36.
- Mauss S, Berger F, Goelz J, Jacob B, Schmutz G. A prospective controlled study of interferon-based therapy of chronic hepatitis C in patients on methadone maintenance. *Hepatology*. 2004;40(1):120-4.
- Musselman DL, Lawson DH, Gumnick JF, Manatunga AK, Penna S, Goodkin RS et al. Paroxetine for the prevention of depression induced by high-dose interferon alfa. *N Engl J Med* 2001; 344[13]:961-966.
- Pariante CM, Landau S, Carpiniello B. Interferon alfa-induced adverse effects in patients with a psychiatric diagnosis. *N Engl J Med* 2002; 347[2]:148-149.
- Pockros PJ, Shiffman ML, Schiff ER, Sulkowski MS, Younossi Z, Dieterich DT, Wright TL, Moody SH, Tang KL, Goon BL, Bowers PJ, Leitz G, Afdhal NH; PROACTIVE Study Group. Epoetin alfa improves quality of life in anemic HCV-infected patients receiving combination therapy. *Hepatology* 2004; 40(6):1450-8.
- Piche T, Vanbiervliet G, Cherikh F, Antoun Z, Huet PM, Gelsi E et al. Effect of ondansetron, a 5-HT3 receptor antagonist, on fatigue in chronic hepatitis C: a randomised, double blind, placebo controlled study. *Gut* 2005; 54(8):1169-1173.
- Raison CL, Woolwine BJ, Demetrashvili MF, Borisov AS, Weinreb R, Staab JP et al. Paroxetine for prevention of depressive symptoms induced by interferon-alpha and ribavirin for hepatitis C. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25(10):1163-1174
- Renault PF, Hoofnagle JH, Park Y, Mullen KD, Peters M, Jones DB et al. Psychiatric complications of long-term interferon alfa therapy. *Arch Intern Med* 1987; 147[9]:1577-1580.
- Sammut S, Bethus I, Goodall G, Muscat R. Antidepressant reversal of interferon-alpha-induced anhedonia. *Physiol Behav* 2002; 75(5):765-772.
- Schaefer M, Engelbrecht MA, Gut O, Fiebich BL, Bauer J, Schmidt F et al. Interferon alpha [IFNalpha] and psychiatric syndromes: a review. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2002; 26[4]:731-746.
- Schaefer M, Schmidt F, Folwaczny C, Lorenz R, Martin G, Schindlbeck N et al. Adherence and mental side effects during hepatitis C treatment with interferon alfa and ribavirin in psychiatric risk groups. *Hepatology* 2003; 37[2]:443-451.
- Schaefer M, Heinz A, Backmund M. Treatment of chronic hepatitis C in patients with drug dependence: time to change the rules? *Addiction* 2004; 99(9):1167-1175.

- Schafer A, Wittchen HU, Seufert J, Kraus MR. Methodological approaches in the assessment of interferon-alfa-induced depression in patients with chronic hepatitis C - a critical review. *Int J Methods Psychiatr Res* 2007; 16(4):186-201.
- Schaefer M, Hinzpeter A, Mohmand A, Janssen G, Pich M, Schwaiger M et al. Hepatitis C treatment in "difficult-to-treat" psychiatric patients with pegylated interferon-alpha and ribavirin: Response and psychiatric side effects. *Hepatology* 2007; 46(4):991-998.
- Schaefer M, Schwaiger M, Garkisch AS, Pich M, Hinzpeter A, Uebelhack R, Heinz A, van Boemmel F, Berg T. Prevention of interferon-alpha associated depression in psychiatric risk patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol.* 2005;42(6):793-8.
- Schaefer M, Winterer J, Sarkar R, Uebelhack R, Franke L, Heinz A et al. Three cases of successful tryptophan add-on or monotherapy of Hepatitis C and IFN-alpha associated mood disorders . *Psychosomatics* 2008; *in press*.
- Schramm TM, Lawford BR, Macdonald GA, Cooksley WG. Sertraline treatment of interferon-alfa-induced depressive disorder. *Med J Aust*, 2000. 173(7):359-61.
- Seyam MS, Freshwater DA, O'Donnell K, Mutimer DJ. Weight loss during pegylated interferon and ribavirin treatment of chronic hepatitis C. *J Viral Hepat.* 2005 12(5):531-5.
- Shiffman ML, Salvatore J, Hubbard S, Price A, Sterling RK, Stravitz RT, Luketic VA, Sanyal AJ. Treatment of chronic hepatitis C virus genotype 1 with peginterferon, ribavirin, and epoetin alpha. *Hepatology.* 2007;46(2):371-9.
- Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK, Lissen E, Gonzalez-Garcia J, Lazzarin A, Carosi G, Sasadeusz J, Katlama C, Montaner J, Sette H Jr, Passe S, De Pamphilis J, Duff F, Schrenk UM, Dieterich DT; APRICOT Study Group. Peginterferon Alfa-2a plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *N Engl J Med.* 2004; 351(5):438-50.
- Tran HA, Jones TL, Batey RG. The spectrum of thyroid dysfunction in an Australian hepatitis C population treated with combination Interferon-alpha 2-beta and Ribavirin. *BMC Endocr Disord.* 2005; 2:5.
- Valentine AD, Meyers CA. Successful treatment of interferon-alpha-induced mood disorder with nortriptyline. *Psychosomatics*, 1995. 36(4):418-9.

Capitolul 16:Manifestarile extrahepatice din hepatita C cronica

Karl-Philipp Puchner and Thomas Berg

Introducere

Pacientii cu hepatita C cronica pot dezvolta un numar mare de manifestari extrahepatice (MEH) (Tabel 1).

In cursul infectiei cu VHC 40-76% din pacienti prezinta cel putin o MEH (Cacoub 2000; Cacoub 1999). Patogenia MEH nu este pe deplin elucidata, desi majoritatea studiilor sugereaza ca prezenta crioglobulinemiei mixte (CM), limfotropismul virusului, mimetismul molecular si fenomenele autoimune non-CM sunt principalii factori implicati (Ferri 2007). Conform studiilor epidemiologice si patogenice MEH din hepatita C se clasifica in patru categorii (Zignego 2007) : (A) Asocieri bazate pe prevalenta epidemiologica evidenta si mecanismele patogenice clare; (B) Afectiuni pentru care exista date substantiale ce arata prevalenta crescuta a infectiei VHC fata de control, dar in care mecanismul patogenic nu este bine definit; (C) Sindroame care necesita caracterizare mai detaliata sau pentru care nu se stie daca prevalenta crescuta observata la pacientii infectati VHC se datoreaza infectiei cu acest virus sau altor cauze concomitente (reactii adverse ale terapiei cu interferon, etc.); (D) Observatii anecdotice (Figura 1).

Organ/ Sistemul implicat	Manifestare	Mecanism patogenic sugerat
Endocrin		
	Disfunctie tiroidiana	Fenomene autoimune non-CM
	Autoanticorpi tiroidieni	Limfotropism
	Tiroidita Hashimoto	Autoimunitate non-CM
	Rezistenta la insulina / diabet zaharat Insuficienta-GH	Posibila stimulare a necunoscuta a SOC-3 necunoscut
Sistem circulator		
	Vasculita vaselor mici	CM (crioglobulinemia mixta)
	Poliarterita nodoasa	Fenomene autoimune CM si non-CM
	Neuropatie periferica	Fenomene autoimune CM si non-CM

Organ/ Sistemul implicat	Manifestare	Mecanism patogenic sugerat
Tesut limfoid și elemente sangvine	Crioglobulinemia esențială mixtă (tip II și III)	Limfotropism
	Anticorpi antifosfolipidici	Limfotropism
	Afectiuni limfoproliferative ale limfocitelor B	Limfotropism
	Trombocitopenie	Multifactorial între altele fenomene autoimune non-CM
	Gamapatii monoclonale	Limfotropism
	AHA	Fenomene autoimune non-CM
Rinichi	Glomeronefrită proliferativă membranoasă	Fenomene autoimune CM și non-CM
	Neuropatie membranoasă	Fenomene autoimune non-CM
	Glomerulonefrită rapid progresivă	Fenomene autoimune non-CM
Piele	Purpura	CM
	Porfirie cutanată	Predispoziție genetică multifactorială
	Lichen plan	Necunoscut, predispoziție genetică?
	Vasculită cutanată necrozantă	CM
	Prurit	necunoscut
Varia	Oboseală	Necunoscut, posibil corelat cu CM
	Miopatie	Necunoscut, posibil corelat cu CM
	Factor reumatoid /poliartrită	Fenomene autoimune CM și non-CM
	Cardiomiopatie/Miocardită	Necunoscut
	Sindrom Sicca	CM
	Ulceratii corneene	Necunoscut
	Fibroza pulmonară	CM
	Sindrom CREST	CM

Tabel 1. Manifestări extrahepatice în hepatita C cronică.

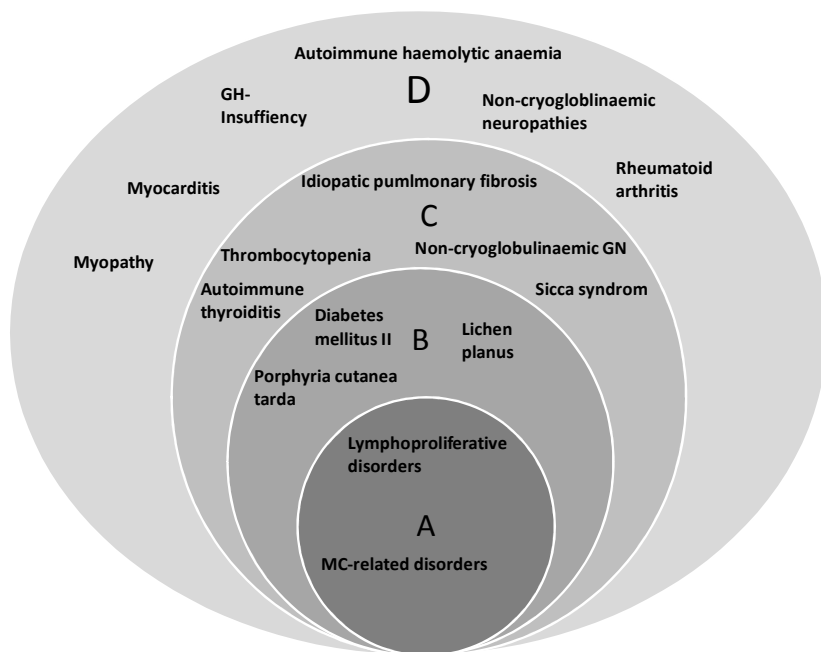


Figura 1. Reprezentarea schematica a categoriilor MEH.

A) Asocieri între factorii epidemiologici și mecanismele patogenice înțelese; B) Asocieri între prevalența și mecanismele patogenice neînțelese; C) Asocieri între prevalența la persoane infectate cu VHC și/sau cofactori etiologici; D) Observații anecdotice.

Infecția cu VHC trebuie întotdeauna suspectată la persoanele cu afecțiuni rare precum: porfirită cutanată, autoanticorpi nespecifici, sindromul sicca, fibroza pulmonară idiopatică, lichenul plan sau crioglobulinemia mixtă cu sau fără boli asociate.

Crioglobulinemia mixtă

Crioglobulinemia indică prezența în ser a unor imunoglobuline anormale, care precipită la temperaturi sub 37°C și se re-dizolvă la temperaturi mai mari. Crioglobulinele (CG) se clasifică în trei tipuri (Tabel 2). Crioglobulinemia mixtă, tipul II și III apar cu o prevalență crescută la pacienții cu infecție VHC cronică, în timp ce tipul I se regăsește predominant la persoanele cu afecțiuni limfoproliferative (mielom multiplu, limfom cu celule B, macroglobulinemia Waldenström).

Tip	Grad de specificitate
Tip I	Imunoglobuline monoclonale (IgG or IgM)

Tip II	Imunoglobuline policlonale (in principal IgG) si IgM monoclonal cu factor reumatoid (FR)
Tip III	IgG si IgM policlonal

Tabel 2. Tipuri de crioglobulinemie.

Epidemiologie

Crioglobulinemia mixta (CM) este cea mai cunoscuta si studiata MEH din hepatita C cronica, intalnindu-se conform studiilor la 19-50% din pacientii cu VHC; numai o parte mica din acesti pacienti (mai putin de 15%) prezentand boala simptomatica. Pacientii asimptomatici cu crioglobulinemie devin ocazional simptomatici pe parcursul bolii. Factorii favorizanti ai CM sunt sexul, varsta, consumul de alcool (>50g/d), fibroza si steatoza hepatica severa (Lunel 1994; Wong 1996; Saadoun 2006).

Etiologie si patogenie

CM are ca etiologie cresterea numarului limfocitelor B mono sau policlonale in special cele localizate la nivelul maduvei osoase si ficatului si se asociaza cu activarea proto-oncogenelor Bcl2, capabile sa inhibe apoptoza, fapt ce prelungeste viata celulelor. Dupa o perioada lunga de timp CM tip II poate evolua in 8-10% din cazuri spre limfom non-Hodgkinian cu celule B (NHL) (Zignego 2007; Sansonno 1998; Ferri 1994).

Diagnostic

Detectia crioglobulinelor se realizeaza prin mentinerea serului pacientului la 4° C sapte zile. Cand crioprecipitatul este vizibil se caracterizeaza prin electroforeza cu imunofixare. La pacientii VHC pozitivi cu CM trebuie avut in vedere sindromul CM si este necesara monitorizarea pacientilor asimptomatici care pot dezvolta afectiuni asociate CM. Diagnosticul sindromului CM se bazeaza pe criterii serologice: (scaderea C4, CG mixte, prezenta factorului reumatoid, anticorpi anti-VHC), patologice (vasculita leucocitara, infiltrate cu limfocite B) si clinice (purpura, glomerulonefrita membranara proliferativa, neuropatie periferica). Diagnosticul de CM simptomatica se pune cand avem CG mixte prezente, nivel scazut al C4, vasculita leucocitara si purpura. (Ferri 2002).

Caracteristici clinice

Afectiunile asociate CM simptomatice sunt:

Vasculita sistematica: Pentru vasculita crioglobulinemica tip II asociata infectiei VHC tratamentul antiviral reprezentat de combinatia PEG-IFN α plus ribavirina constituie terapia standard actuala (Ferri 2006). Cu toate acestea persista controverse in privinta eficacitatii tratamentului anti-VHC la pacientii cu vasculita crioglobulinemica activa, raportandu-se cazuri de persistenta a vasculitei chiar in urma unui tratament antiviral de succes (Levine 2005). Cand tratamentul antiviral

este contraindicat abordarea terapeutică se face cu corticoizi în doze mici, știut fiind faptul că aceștia pot crește replicarea virală, și dieta scăzută în alergeni alimentari. În cazurile moderat-severe de vasculită a pielii sau vasculită generalizată este sugerat un tratament inițial cu rituximab, un anticorp monoclonal umanizat contra antigenului specific CD-20 al celulelor B. Eficacitatea și siguranța au fost demonstrate la pacienții cu MC simptomatică rezistentă la terapia cu IFN α . Cu toate acestea, la responderi, unele studii au semnalat creșterea nivelului ARN VHC de aproximativ două ori față de valoarea inițială (Sansonno 2003). O administrare asociată a rituximab cu PEG-IFN α plus ribavirina în cazurile de vasculită MC-related rezistentă la tratamentul antiviral pare să fie strategia terapeutică optimă, realizând la responderi ameliorarea simptomatologiei MC-related și eradicarea completă a VHC (Craxi 2008). În vasculitele severe din MC rezistente la rituximab sau în manifestările acute sunt indicate cicluri de plasmafereza plus corticosteroizi și/sau imunosupresoare (e.g., ciclofosfamida) (Saadoun 2008).

Afectarea renală: Utilizarea terapiei antivirale bazată pe PEG-IFN α plus ribavirina în prima linie de tratament la pacienții cu afectare renală este limitată. Clearance-ul ribavirinei este redus la pacienții cu insuficiență renală și medicamentul nu este eliminat prin dializă. Nivelul ribavirinei trebuie atent monitorizat la pacienții care prezintă clearance scăzut al creatininei, acumularea de ribavirina putând induce anemie hemolitică severă. Tratamentul cu doze scăzute de ribavirina a căror concentrație este controlată (200 mg-800 mg/zi), în combinație cu IFN α sau PEG-IFN α a fost în cele mai multe cazuri bine tolerat de pacienții infectați VHC care prezentau afectare importantă a ratei filtrării glomerulare (GFR) datorată glomerulonefritei asociate VHC, și a dus la un răspuns viral sustinut și o ameliorare semnificativă a GFR (Bruchfeld 2003). Totuși tratamentul antiviral nu este în general recomandat în timpul fazei active a bolii renale. Steroizii și imunosupresoarele (de obicei ciclofosfamida) și ocazional plasmafereza sunt recomandate în aceste cazuri (Garini 2007). Totuși, aceste abordări terapeutice pot cauza o creștere substanțială a nivelului viremiei (Margin 1994). În cazul unei infiltrații cu celule B a maduvei osoase, a rezistenței sau intoleranței la terapia convențională se indică administrarea de rituximab (Roccatello 2004). În consecință, în manifestările severe sau în faza acută a afecțiunilor renale din MC rituximab pare să fie înalt eficient ca prima linie de tratament (Roccatello 2008). Tratamentul simptomatic de tipul inhibitorilor enzimei de conversie a angiotensinei și/sau antagonistilor receptorilor de angiotensină trebuie să acompanieze întotdeauna tratamentul antiviral sau pe cel imunosupresor (Kamar 2006).

Neuropatia periferică: Tratamentul antiviral trebuie efectuat cu prudență în prezenta neuropatiei. Deși au fost descrise cazuri de neuropatie periferică care răspund la terapia antivirală cu IFN α și ribavirina (Koskinas 2007), câțiva autori raportează o agravare a neuropatiei din MC preexistente sau chiar instalarea *de novo* a unei polineuropatii demielinizante pe perioada tratamentului cu IFN α sau PEG-IFN α (Boonyapisit 2002; Khiani 2008). Asadar este de presupus că susceptibilitatea genetică sau alți factori idiosincrazici pot influența răspunsul

neuropatiei asociate VHC la IFN α , facand indispensabila monitorizarea evolutiei acestei EHM pe perioada tratamentului cu IFN α .

Boli limfoproliferative

Asocierea dintre agenti infectiosi si afectiuni limfoproliferative potential reversibile declansate de antigene ale acestora precum limfomul gastric cu celule B asociat *Helicobacter pylori* a fost evidentiata de mai multe decade. O relatie cauzala intre VHC si NHL a fost postulata relativ recent si a fost subiectul unor investigatii intense. Tulburarile limfoproliferative asociate VHC (LPD) au fost observate mai ales in timpul evolutiei MC.

8-10% din MC-II evolueaza spre NHL cu celule B, dupa infectie pe termen lung. Totusi o mare prevalenta a NHL cu celule B a fost depistata la pacientii infectati VHC fara MC (Silvestri 1999).

Etiologie si patogenie

Urmarind patogenia LPD asociata VHC majoritatea studiilor puncteaza doua posibile mecanisme : 1) unul indirect, de natura cronica a infectiei VHC si 2) unul direct legat de limfotropismul particular al VHC, urmare a invaziei crescute a celulelor B de catre VHC. In primul mecanism punctul cheie pare a fi activarea si proliferarea sustinuta a celulelor B evidentiata in timpul infectiei cronice VHC. Unul din factorii ce favorizeaza aceasta activare si proliferare policlonala a celulelor B este probabil proteina E2 a VHC care se leaga specific de CD81, ce este un activator potent al celulei B. Proliferarea sustinuta a celulelor B obtinuta favorizeaza in consecinta translocatia t(14;18) cu rearanjarea consecutiva a Bcl-2 si aparitia altor aberatii genetice, ceea ce poate duce la transformarea maligna a celulelor B (Pileri 1998; Zignego 2000). Al doilea mecanism sugereaza ca rearanjarea Bcl-2 si inhibitia consecutiva a apoptozei celulelor B provin direct din proprietatile mutagenice ale virusului (Machina 2004). Astfel ambele mecanisme conduc simultan prin cai patogenice complexe si consecutive catre manifestarea unei LPD.

Epidemiologie

Un studiu retrospectiv la scara mare condus de US Veterans Administration sugereaza ca infectia VHC determina o crestere a riscului de NHL cu 20-30% (Giordano 2007). Cele mai frecvente LPD asociate VHC in acord cu clasificarea REAL/WHO sunt : limfomul folicular, leucemia limfocitara cronica cu celule B/ limfomul limfocitar cu celule mici, limfomul difuz cu celule B mari si limfomul marginal, incluzind limfomul tesutului limfoid asociat mucoasei. In general limfomul marginal pare sa fie cel mai frecvent intalnit limfom cu celule B mici la pacientii infectati VHC.

Tratament

A fost demonstrat ca tratamentul antiviral poate conduce la regresia proliferarii clonale (Giannelli 2003). Interesant, raspunsul hematologic la terapia antivirala a fost observat doar in corelatie cu scaderea sau disparitia viremiei. Astfel rolul

asociat al interferonului ca agent antiproliferativ poate fi exclus. În timp ce terapia antivirală este potrivită pentru tratarea NHL de grad mic VHC pozitiv, indiferent de subtipul histologic, în NHL intermediar și de grad înalt este necesară chimioterapia, iar tratamentul antiviral poate servi pentru susținerea ulterioară a acesteia (Vallisa 2005). Chimioterapia poate conduce la o creștere substanțială a nivelului viremiei, fiind indicată o atentă monitorizare a transaminazelor și a nivelului ARN VHC (Ennishi 2008). Astfel se poate ajunge la o exacerbare consecutivă a infecției, ce face întreruperea terapiei obligatorie. Mai mult, monitorizarea regulată a transaminazelor pe perioada tratamentului este esențială, pentru ca toxicitatea hepatică pe termen scurt a chimioterapiei pare să fie creșcută printre pacienții VHC pozitivi.

Trombocitopenia asociată VHC

Instalarea trombocitopeniei (număr de trombocite sub $150 \times 10^3/\mu\text{L}$) este deseori observată la pacienții cu hepatita cronică C (Wang 2004). Datorită unei multitudini de factori (e.g., hipersplenism, producere inadecvată de trombopoietină, deteriorare hepatică severă, factori iatrogeni) care favorizează instalarea trombocitopeniei la pacienții cu infecție cronică VHC, este incert dacă trombocitopenia trebuie considerată ca o manifestare extrahepatică distinctă a infecției VHC (Tabelul 4). Cu toate acestea detectia VHC în trombocite (Takehara 1994) și megacariocite (Bordin 1995) face probabilă implicarea VHC în trombocitopenia asociată infecției VHC. Recent, un studiu prospectiv controlat efectuat pe 106 pacienți infectați VHC cu și fără trombocitopenie a demonstrat o rată semnificativ mai ridicată de detecție a ARN VHC în trombocitele pacienților trombocitopenici comparativ cu cei non-trombocitopenici (De Almeida 2004).

Mai mult s-a sugerat că expunerea la VHC poate să fie un factor cauzal pentru producerea de imunoglobuline G asociate trombocitelor, inducând trombocitopenie printr-un mecanism imunologic similar cu cel din purpură trombocitopenică imună (ITP). Interesant, infecția VHC a fost evidențiată serologic la 30% din pacienții cu ITP. La pacienții cu trombocitopenie non-cirotică infectați VHC dispariția ARN VHC în urma tratamentului cu IFN α s-a corelat cu scăderea trombocitopeniei (Iga 2005; Rajan 2005). Astfel VHC poate fi de asemenea direct implicat în procesul ce conduce la instalarea trombocitopeniei. Nu există un consens privind tratamentul optim al trombocitopeniei asociate VHC. Alături de abordările terapeutice clasice precum corticosteroizii, imunoglobulinele intravenoase și splenectomia, tratamentul antiviral constituie următoarea opțiune. Cu toate acestea se recomandă atenție la pacienții trombocitopenici tratați cu PEG-IFN α și ribavirina deoarece agravarea semnificativă a trombocitopeniei VHC (număr de trombocite sub $50 \times 10^3/\mu\text{L}$) se poate instala în timpul tratamentului. Eltrombopag, un nou agonist, activ, al receptorului trombopoietinei cu administrare orală ar putea fi folosit în viitor la pacienții trombocitopenici infectați VHC. Administrarea de eltrombopag, înaintea și pe perioada tratamentului antiviral la pacienții cu ciroză VHC și trombocitopenie conduce la o creștere susținută a numărului de trombocite în felul acesta fiind permisă inițierea și/sau continuarea terapiei antivirale (McHutchison 2007). O abordare terapeutică promițătoare ce trebuie luată în considerare în special în trombocitopenia asociată VHC și în cazurile de boală refractară sau care se agravează pe perioada terapiei antivirale pare să fie rituximab (Weitz 2005).

Anemia hemolitică autoimună asociată VHC

Ocazional studiile au arătat o asociere a infecției cronice VHC cu anemia hemolitică autoimună Coombs pozitivă/negativă (AHA). AHA a fost observată frecvent la pacienții infectați VHC și tratați cu IFN α și/sau ribavirina și prin urmare recunoașterea ca posibil efect advers al tratamentului antiviral (De la Serna-Higuera 1999; Nomura 2004). Interesant este faptul că s-au raportat un număr mic de cazuri de AHA la pacienții VHC naivi (Cha 2001; Fernandez 2006; Srimivasan 2001). În toate cazurile raportate investigațiile extinse pentru stabilirea unei cauze infecțioase, markerii autoimuni inclusiv CG în două cazuri, hemoliza indusă de medicație și alți posibili factori asociați au fost negative. Totuși hipersplenismul a fost prezent în două cazuri, gravitatea condițiilor descrise și răspunsul clinic complet la CS fac din fenomenele autoimune non-crioglobulinemice asociate VHC o cauză de presupus. Studii la scară largă axate pe prevalența și incidența AHA la pacienții naivi VHC sunt necesare pentru a confirma aceste observații.

Manifestări endocrine

Afecțiunile tiroidiene sunt mult mai frecvente la pacienții cu infecție cronică VHC decât în populația generală. Aproximativ 13% din pacienții infectați VHC au hipotiroidism și până la 25% prezintă anticorpi antitiroizi (Antonelli 2004). Pe de altă parte s-a evidențiat că tratamentul cu IFN α poate induce boli ale tiroidei sau poate să scoată la iveală sindroame autoimune (boala Graves, tiroidita Hashimoto) (Prummel 2003). În plus unele studii sugerează că tulburările tiroidiene autoimune sunt prezente în mod semnificativ la pacienții cu hepatita cronică C pe perioada tratamentului cu IFN α dar nu și anterior acestuia (Marazuela 1996). Este încă neclar dacă instalarea tulburărilor tiroidiene la pacienții cu hepatita cronică C este datorată infecției cu VHC sau „cooperării” dintre IFN α și VHC. Prezența autoanticorpilor tiroidieni cu sau fără manifestări clinice semnificative crește riscul apariției unei tiroidite manifeste pe perioada tratamentului antiviral, impunând monitorizarea funcției tiroidiene pe perioada tratamentului.

Relația dintre infecția cronică VHC și diabetul zaharat tip II și/sau rezistent la insulină a fost analizată în mai multe studii. Cele mai multe dintre acestea au indicat o creștere independentă a prevalenței diabetului zaharat II și/sau a rezistenței la insulină la pacienții cu infecție cronică VHC comparativ cu grupurile control (Knobler 2000; Mason 1999; Hui 2003), în timp ce în alte studii această asociere a fost confirmată doar în prezența unor cofactori (Mehta 2003). Cu toate acestea faptul că eradicarea virală în urma tratamentului antiviral poate duce la ameliorarea rezistenței la insulină este un argument puternic în favoarea unei relații cauză-efect între infecția VHC și diabetul zaharat tip II (Imazeki 2008). Recent s-a sugerat că apariția rezistenței la insulină este corelată cu anumite genotipuri de VHC, iar superreglarea expresiei SOC-3 determinată de VHC poate fi responsabilă pentru inducerea rezistenței celulare la insulină. Mai mult rezistența la insulină trebuie privită ca un factor de risc independent pentru progresia fibrozei hepatice la pacienții cu infecție cronică VHC (Moucari 2008; Kawaguchi 2004). Pe de altă parte tratamentul cu IFN α a fost rareori asociat cu instalarea autoimunității anti-pancreatice și cu apariția diabetului zaharat tip I (Betterle 2000). Conform datelor

disponibile actual la pacienții cu infecție cronică VHC se recomandă monitorizarea glicemiei și tratarea de hiperglicemiei.

În final legătura dintre infecția VHC, insuficiența hormonului de creștere (GH) și scăderea factorului de creștere insulin-like (IGF-1) trebuie investigate în continuare. Reducerea secreției GH poate fi datorată unui efect inhibitor direct al infecției VHC la nivelul hipofizei (Plöckinger 2007).

Manifestări dermatologice și altele

Există o multitudine de tulburări dermatologice care pot fi asociate sporadic cu infecția cronică VHC. Studiile epidemiologice au confirmat existența unei corelații importante între o formă sporadică de porfirie cutanată tardivă (PTC) și VHC. Dat fiind că markerii VHC au fost depistați la 50% din pacienții cu PTC și Europa de sud, PTC a fost recunoscută ca o manifestare extrahepatică a infecției cronice VHC (Fargion 1992). Patogenia PTC la pacienții VHC pare să fie multifactorială, depozitarea excesivă de fier în ficat datorită infecției cronice VHC și predispoziția genetică jucând un rol cheie în apariția acestei EHM a VHC.

Dovezi importante ale asocierii dintre infecția VHC și lichenul plan au fost oferite de studii efectuate în Japonia și Europa de sud (Nagao 1995; Carrozzo 1995). Prevalența crescută (27%) a lichenului plan la pacienții infectați VHC poate să nu fie confirmată în alte grupuri populationale sugerând din nou predispoziția genetică și existența HLA-DR6 ca un factor patogenetic major (Ingafou 1998).

O legătură patogenetică între infecția VHC și fibroza pulmonară idiopatică (IPF) a fost sugerată de frecvența crescută a markerilor VHC la pacienții cu IPF corespunzător cu un lot control (Ueda 1992). Mai mult evidențierea unei creșteri a numărului de limfocite și neutrofile în lavajul bronhoalveolar la pacienții cu infecție cronică VHC indică o posibilă inducere a alveolitei de către VHC (Yamaguchi 1997). Hepatita cronică C a fost legată de fibroza pulmonară direct sau indirect prin crioglobulinemie și vasculită asimptomatică (Ferri 1997).

În final, o relație cauzală cu infecția VHC a fost suspectată pentru câteva deteriorări miocardice, incluzând cardiomiopatia dilatativă, cardiomiopatia hipertrofică și miocardita cronică. Patogenia deteriorărilor miocardice asociate VHC se bazează probabil pe fenomene autoimune cu implicarea particulară a antigenului major de histocompatibilitate (MHC) clasa II (Matsumori 2000).

Autor	Pacienți	Tratament	Rezultate
Zuckerman	N = 9 Pacienți cu crioglobulinemie mixtă, non-responderi la monoterapie cu IFN α	IFN α x 3 /săptămână plus ribavirina 15mg/kg/zi	CGs nedetectabil până la 6 săptămâni în 7/9 din pacienți; îmbunătățire clinică în 9/9 până la 10 săptămâni
Sansonno	N = 20 Vasculită și neuropatie periferică MC rezistentă la monoterapia cu IFN α	Rituximab 375 mg/m ² / săptămână x 4	16 pacienți cu răspuns clinic complet; 12 cu răspuns susținut până la sfârșitul supravegherii Creșterea viremiei la

Saadoun	N = 16 Vasculita MC la cei cu recaderi sau non-responderi la IFN α /PEG-IFN α + RBV	Rituximab 375 mg/m ² /saptamana x 4; pegIFN α 1.5 ug/kg/saptamana plus RBV (600mg-1200mg/zi) pentru 12 luni	responderi. 10/16 pacienti cu raspuns clinic complet; CGs si RNA VHC nedetectabil la responderi
Bruchfeld	N = 7 Manifestari renale asociate VHC (2/7 MC-related)	IFN α plus doza scazuta de ribavirina (200-600mg) sau pegIFN α doza scazuta	Imbunatatirea GRF si a proteinuriei in 4/7 pacienti si raspuns viral sustinut in 5/7.
Roccatello	N = 6 Manifestari sistemice MC predominant renale (5/6)	rituximab 375mg/m saptamana x 4 plus rituximab 375mg/m ² 1 luna si 2 luni mai tarziu	Scaderea criocritului si a proteinuriei la 2, 6, 12 luni.
Koskinas	N = 4 Pacienti MC cu polineuropatie severa senzitivo-motorie	INF α -2b 1.5ug/kg/saptamana plus ribavirina 10.6mg/kg/zi pentru 48 saptamani	Imbunatatirea semnificativa a parametrilor neurologici in 4/4; ARN VHC nedetectabil si niveluri mai scazute CG in ¾ la sfarsitul terapiei.

Table 3. Tratamentul tulburarilor asociate crioglobulinemiei mixte (MC) la pacientii cu infectie cronica VHC.

Referinte

- Antonelli A, Ferri C, Pampana A, et al. Thyroid disorders in chronic hepatitis C. *Am J Med* 2004; 117: 10-13.
- Boonyapisit K, Katirji B. Severe exacerbation of hepatitis C-associated vasculitic neuropathy following treatment with interferon alpha: a case report and literature review. *Muscle Nerve* 2002; 25: 909-913.
- Bordin G, Ballare M, Zigrossi P, Bertonecelli MC, Paccagnino L, et al. A laboratory and thrombokinetic study of HCV-associated thrombocytopenia: a direct role of HCV in bone marrow exhaustion? *Clin Exp Rheumatol*. 1995; Suppl 13: S39-43.
- Betterle C, Fabris P, Zanchetta R, Pedini B, Tositti G, Bosi E, et al. Autoimmunity against pancreatic islets and other tissues before and after interferon α therapy in patients with hepatitis C virus chronic infection. *Diabetes Care* 2000; 23: 1177-81.
- Bruchfeld A, Lindahl K, Stahle L, Schvarcz R. Interferon and ribavirin treatment in patients with hepatitis C-associated renal disease and renal insufficiency. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(8):1573-80.
- Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, et al. Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection. A prospective multicenter study of 321 patients. *Groupe d' Etude et de Recherche en Medicine Interne et Maladies Infectieuses sur le Virus de l'Hepatite C*. *Medicine* 2000; 79: 47-56.

- Cacoub P, Poynard T, Ghillani P, et al. Extrahepatic manifestations of chronic hepatitis C. MULTIVIRC group. *Multidepartment Virus C. Arthritis Rheum* 1999; 42: 2204-2212.
- Carrozzo M, Gandolfo S, Carbone M, Colombatto P, Broccoletti R, Garzino-Demo P, et al. Hepatitis C virus infection in Italian patients with oral lichen planus: a prospective case-control study. *J Oral Pathol Med* 1996; 25: 527-33.
- Calleja JL, Albillos A, Moreno-Otero R, et al. Sustained response to interferon-alpha or to interferon-alpha plus ribavirin in hepatitis C virus-associated symptomatic mixed cryoglobulinaemia. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 1179-1186.
- Chao TC, Chen CY, Yang YH, et al. Chronic hepatitis C virus infection associated with primary warm-type autoimmune hemolytic anemia. *J Clin Gastroenterol* 2001; 33: 232-233.
- Craxi A, Giacomo L, Zignego AL. Hepatitis C virus (HCV) infection: A systemic disease. *Mol Aspects Med* 2008; 29 (1-2): 85-95.
- De Almeida AJ, Campos-de-Magalhaes M, Okawa MY, Vieira de Oliveira R, et al. Hepatitis C virus-associated thrombocytopenia: a controlled prospective, virological study. *Ann Hematol* 2004; 83: 434-440.
- De la Serna-Higuera C, Bárcena-Marugán R, Sanz-de Villalobos E. Hemolytic anemia secondary to alpha-interferon treatment in a patient with chronic C hepatitis. *J Clin Gastroenterol* 1999; 28: 358-9.
- Ennishi D, Terui Y, Yokoyama M, Mishima Y, Takahashi S, Takeuchi K, et al. Monitoring serum hepatitis C virus (HCV) RNA in patients with HCV-infected CD20-positive B-cell lymphoma undergoing rituximab combination chemotherapy. *Am J Hematol*. 2008; 83: 59-62.
- Fargion S, Piperno A, Cappellini MD et al. Hepatitis C virus and porphyria cutanea tarda: evidence of a strong association. *Hepatology* 1992; 16: 1322-26.
- Fernández A. An unusual case of autoimmune hemolytic anemia in treatment naïve hepatitis C virus infection. *Hematology* 2006; 11: 385-387
- Ferri C, La Civita L, Fazzi P, Solfanelli S, Lombardini F, Begliomini E, et al. Intestinal lung fibrosis and rheumatic disorders in patients with hepatitis C virus infection. *Br J Rheumatol* 1997; 36: 360-5.
- Ferri C, Monti M, La Civita L, Careccia G, Mazzaro C, Longombardo G, Lombardini F, Greco F, Pasero G, Bombardieri S, Zignego A.L. Hepatitis C virus infection in non-Hodgkin's lymphoma complicating mixed cryoglobulinaemia. *Eur J Clin Invest* 1994; 24: 781-784.
- Ferri C, Zignego AL, Pileri SA. Cryoglobulins. *J Clin Pathol* 2002; 55: 4-13.
- Daghestani L, Pomeroy C. Renal manifestations of hepatitis C infection. *Am J Med* 1999; 106: 347-354.
- Ferri C, Sebastiani M, Guiggiolo D, Cazzato M, Longombardo G, Antonelli A, Puccini R, Michelassi C, Zignego AL. Mixed cryoglobulinaemia: demographic, clinical, and serologic features and survival in 231 patients. *Semin Arthritis Rheum* 2004; 33: 355-374.
- Ferri C, Mascia MT. Cryoglobulinemic vasculitis. *Curr Opin Rheumatol* 2006; 18:54-63.
- Ferri C, Antonelli A, Mascia M.T, et al. B cells and mixed cryoglobulinemia. *Autoimmun Rev* 2007; 7: 114-20.
- Garini G, Allegri L, Lannuzzella F, Vaglio A, Buzio C. HCV-related cryoglobulinemic glomerulonephritis: implications of antiviral and immunosuppressive therapies. *Acta Biomed*. 2007;78:51-9.
- Giannelli F, Moscarella S, Giannini C, Caini P, Monti M, et al. Effect of antiviral treatment in patients with chronic HCV infection and t(14;18) translocation. *Blood* 2003; 102: 1196-201.

- Giordano TP, Henderson L, Landgren O, et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma and lymphoproliferative precursor diseases in US veterans with hepatitis C virus. *JAMA* 2007;297:2010–7.
- Hui JM, Sud A, Farrell GC, Bandara P, et al. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression. *Gastroenterology* 2003; 125 :1695-1704.
- Iga D, Tomimatsu M, Endo H, Ohkawa S-I, Yamada O. Improvement of thrombocytopenia with disappearance of HCV RNA in patients treated by interferon- α therapy: possible etiology of HCV-associated immune thrombocytopenia. *Eur J Haematol* 2005; 75: 417-423.
- Imazeki F, Yokosuka O, Fukai K, Kanda T, Kojima H, Saisho H. Prevalence of diabetes mellitus and insulin resistance in patients with chronic hepatitis C: comparison with hepatitis B virus- infected and hepatitis C virus-cleared patients. *Liver international* 2008; 28: 355-362.
- Ingafou M, Porter SR, Scully C, Teo CG. No evidence of HCV infection or liver disease in British patients with oral lichen planus. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1998; 27: 65-66.
- Kamar N, Rostaing L, Alric L. Treatment of hepatitis C-virus-related glomerulonephritis. *Kidney Int.* 2006; 69: 436-439.
- Kawaguchi T, Ide T, Taniguchi E, et al. Clearance of HCV improves insulin resistance, β -cell function, and hepatic expression of insulin receptor substrates 1 and 2. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1-7
- Kawaguchi T, Yoshida T, Harada M, Hisamoto T, Nagao Y, et al. Hepatitis C virus down-regulates insulin receptor substrates 1 and 2 through up-regulation of suppressor of cytokine signaling 3. *Am J Pathol* 2004; 165: 1499-508.
- Khiani V, Kelly T, Adeel S, Jensen D, Mohanty SR. Acute inflammatory demyelinating polyneuropathy associated with pegylated interferon α 2a therapy for chronic hepatitis C virus infection. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 318-321.
- Knobler H, Schihmanter R, Zifroni A, Fenakel G, Schattner A. Increased risk of diabetes in noncirrhotic patients with chronic hepatitis C virus infection. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 355-359.
- Koskinas J, Kilidireas C, Karandreas N, Kountouras D, Savvas S, et al. Severe hepatitis C virus-related cryoglobulinaemic sensory-motor polyneuropathy treated with pegylated interferon- α 2b and ribavirin: clinical, laboratory and neurophysiological study. *Liver Int.* 2007; 27:414-20.
- Levine JW, Gota C, Fessler BJ, et al. Persistent cryoglobulinemic vasculitis following successful treatment of hepatitis C virus. *J Rheumatol* 2005; 32:1164–7.
- Lidove O, Cacoub P, Maisonneuve T, Servan J, Thibault V, Piette JC, et al. Hepatitis C virus infection with peripheral neuropathy is not always associated with cryoglobulinaemia. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 290-2.
- Lunel F, Musset L, Cacoub P, Franguel L, Cresta P, Perri M, et al. Cryoglobulinemia in chronic liver diseases: role of hepatitis C virus and liver damage. *Gastroenterology* 1994; 106: 1291-300.
- Machida K, Cheng KT, Sung VM, Shimodaira S, Lindsay KL, et al. Hepatitis C virus induces a mutator phenotype: enhanced mutations of immunoglobulin and protooncogenes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101:4262-67.
- Margin S, Craxi A, Fabiano C et al. Hepatitis C viraemia in chronic liver disease: relationship to interferon alpha or corticosteroid treatment. *Hepatology* 1994; 19: 273–279
- Marazuela M, Garcia-Buey L, Gonzalez-Fernandez B, et al. Thyroid autoimmune disorders in patients with chronic hepatitis C before and during interferon- α therapy. *Clinical Endocrinology* 1996; 44: 635-642.

- Mason AL, Lau JY, Hoang N, et al. Association of diabetes mellitus and chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 1999; 29: 328-333.
- Matsumori A, Yutani C, Ikeda Y, Kawai S, Sasayama S. Hepatitis C virus from the hearts of patients with myocarditis and cardiomyopathy. *Lab Invest* 2000; 80: 1137-42.
- McHutchison JG, Dusheiko G, Shiffman ML, Rodriguez-Torres M, Sigal S, Bourliere M, Berg T, et al. Eltrombopag for thrombocytopenia in patients with cirrhosis associated with hepatitis C. *N Engl J Med*. 2007; 357:2227-36.
- Mehta SH, Brancati FL, Strathdee SA, Pankow JS, et al. Hepatitis C virus infection and incident type 2 diabetes. *Hepatology* 2003; 38: 50-56.
- Moucari R, Asselah T, Cazals-Hatem D, Voitot H, et al. Insulin resistance in chronic hepatitis C: Association with genotypes 1 and 4, serum HCV RNA level, and liver fibrosis. *Gastroenterology* 2008; 134: 416-423.
- Nagao Y, Sata M, Tanikawa K, Itoh K, Kameyama T. Lichen planus and hepatitis C virus in the northern Kyushu region of Japan. *Eur J Clin Invest* 1995; 25: 910-4.
- Nomura H, Tanimoto H, Kajiwara E, Shimono J, Maruyama T, Yamashita N, et al. Factors contributing to ribavirin-induced anemia. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004 Nov;19(11):1312-7.
- Pileri P, Uematsu Y, Campagnoli S, Galli G, Falugi F, Petracca R, Weiner AJ, Houghton M, Rosa D, Grandi G, Abrignani S. Binding of hepatitis C virus to CD81. *Science* 1998; 282: 938-941.
- Plöckinger U, Krüger D, Bergk A, Weich V, Wiedenmann B, Berg T. Hepatitis-C patients have a reduced growth hormone (GH) secretion which improves during long-term therapy with pegylated interferon- α . *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2724-2731.
- Prummel MF, Laurberg P. Interferon-alpha and autoimmune thyroid disease. *Thyroid* 2003; 13: 547-51.
- Rajan SK, Espina BM, Liebman HA. Hepatitis C virus related thrombocytopenia: clinical and laboratory characteristics compared with chronic immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* 2005; 129: 818-824.
- Roccatello D, Baldovino S, Rossi D, Mansouri M, Naretto C et al. Long-term effects of anti-CD20 monoclonal antibody treatment of cryoglobulinaemic glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 2004; 19(12):3054-61
- Roccatello D, Baldovino S, Rossi D, Giachino O, Mansouri M et al. Rituximab as a Therapeutic Tool in Severe Mixed Cryoglobulinemia. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2008;34(1):111-117.
- Srinivasan R. Autoimmune hemolytic anemia in treatment naive chronic hepatitis C infection. *J Clin Gastroenterol* 2001;32: 245-247.
- Silvestri F, Barillari G, Fanin R, Pipan C, Falasca E, Salmaso F, et al. Hepatitis C virus infection among cryoglobulinemic and non-cryoglobulinemic B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *Haematologica* 1997; 82: 314-7.
- Sansonno D, De Re V, Lauletta G, Tucci FA, Boiocchi M, Dammacco F. Monoclonal antibody treatment of mixed cryoglobulinemia resistant to interferon alpha with an anti-CD20. *Blood* 2003; 101: 3818-26.
- Saadoun D, Asselah T, Resche-Rigon M, Bedossa P, Valla D, et al. Cryoglobulinemia is associated with steatosis and fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2006; 43: 1337-1345.
- Sansonno D, De Vita S, Iacobelli A.R, Cornacchiulo V, Boiocchi M, Dammacco F. Clonal analysis of intrahepatic B cells from HCV-infected patients with and without mixed cryoglobulinemia. *J. Immunol* 1998; 160: 3594-3601.
- Saadoun D, Resche-Rigon M, Sene D, Perard L, Piette JC, Cacoub P. Rituximab combined with Peg-Interferon-Ribavirin in refractory HCV-associated cryoglobulinemia vasculitis. *Ann Rheum Dis*. 2008 Jan 4 [Epub ahead of print]

- Takehara K, Otsuka T, Arai T, Matsuzaki Y, et al. Detection of hepatitis C virus (HCV) in platelets of type C chronic liver diseases by polymerase chain reaction (PCR). *Gastroenterology* 1994; 106: A995.
- Tarantino A, Campise M, Banfi G, Confalonieri R, Bucci A, Montoli A, et al. Long-term predictors of survival in essential mixed cryoglobulinemic glomerulonephritis. *Kidney Int* 1995; 47: 618-23.
- Tembl JI, Ferrer JM, Sevilla MT, Lago A, Mayordomo F, Vilchez JJ. Neurologic complications associated with hepatitis C virus infection. *Neurology* 1999; 19: 889-95.
- Ueda T, Ohta K, Suzuki N, Yamaguchi M, Hirai K, et al. Idiopathic pulmonary fibrosis and high prevalence of serum antibodies to hepatitis C virus. *Am Rev respire Dis* 1992; 146: 266-8.
- Vallisa D, Bernuzzi P, Arcaini L, Sacchi S, Callea V, Marasca R, et al. Role of anti-hepatitis C virus (HCV) treatment in HCV-related, low-grade, B-cell, non-Hodgkin's lymphoma: a multicenter Italian experience. *J Clin Oncol* 2005; 23: 468-73.
- Vigano M, Lampertico P, Rumi MG, Folli C, Maggioni L, et al. Natural history and clinical impact of cryoglobulins in chronic Hepatitis C: 10-year prospective study of 343 patients. *Gastroenterology* 2007; 133: 835-42.
- Wang CS, Yao WJ, Wang ST, Chang TT, Chou P. Strong association of Hepatitis C virus (HCV) infection and thrombocytopenia: implications from a survey of a community with hyperendemic HCV infection. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 790-796.
- Weitz IC. Treatment of immune thrombocytopenia associated with interferon therapy of hepatitis C with the anti-CD20 monoclonal antibody, rituximab. *Am J Hematol* 2005; 78:138-141.
- Wong VS, Egner W, Elsey T, Brown D, Alexander GJ. Incidence, character and clinical relevance of mixed cryoglobulinaemia in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Clin Exp Immunol* 1996; 104: 25-31.
- Yamaguchi S, Kubo K, Fujimoto K, Hanaoka M, Hayasaka M, et al. Bronchoalveolar lavage fluid findings in patients with chronic hepatitis C before and after treatment with interferon alpha. *Thorax* 1997; 52: 33-37.
- Zignego AL, Gianelli F, Marrocchi ME, Mazzocca A, Ferri C, Giannini C, Monti M, et al. T(14;18) translocation in chronic hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2000; 31: 474-79.
- Zignego AL, Ferri C, Pileri SA, Caini P, Bianchi FB. Extrahepatic manifestations of the Hepatitis C Virus infection: a general overview and guidelines for clinical approach. *Dig Liver Dis* 2007; 39: 2-17.
- Zuckerman E, Keren D, Slobodin G, et al. Treatment of refractory, symptomatic, hepatitis C virus related mixed cryoglobulinaemia with ribavirin and interferon- alpha. *J Rheumatol* 2000; 27: 2172-78.

Partea 4

Coinfectiile

Capitolul 17: Managementul coinfectiei VHB/HIV

Stefan Mauss and Jürgen Rockstroh

Introducere

La pacientii HIV pozitivi, prevalenta si calea de transmitere a VHB variaza in functie de aria geografica (Alter 2006; Konopnicki 2005). Majoritatea homosexualilor HIV pozitivi din Statele Unite si Europa prezinta markeri de trecere prin infectia cu VHB iar 5-10% sunt purtatori cronici de AgHBs cu sau fara replicare virala (Konopnicki 2005). Rata coinfectiei HIV/VHB este usor scazuta la utilizatorii de droguri intravenoase comparativ cu homosexualii si mult scazuta in randul persoanelor infectate prin contact heterosexual (Núñez 2005).

In zonele endemice din Africa si Asia, majoritatea infectiilor VHB au fost transmise pe cale verticala sau achizitionate in copilărie înainte de varsta de cinci ani prin contact direct, nosocomial si practice traditionale de scarificare (Modi 2007). Dupa introducerea vaccinarii la nivel national, prevalenta in randul tinerilor din unele tari asiatice a scazut semnificativ (Shepard 2006). In Europa, vaccinarea copiilor si persoanelor cu risc crescut este gratuita fiind platita in majoritatea tarilor in cadrul asigurarilor de sanatate.

In coinfectia HIV/VHB evolutia istoriei naturale a hepatitei B este modificata, raspunsul imun se deterioreaza, fapt care produce scaderea ratei de seroconversie a AgHBs. In cazul persistentei VHB, nivelul viremiei este mai mare la pacientii netratati (Bodsworth 1989; Bodsworth 1991; Hadler 1991) si poate apare replicare virala odata cu deteriorarea raspunsului imun celular si in ciuda seroconversiei AgHBs (Soriano 2005). In randul persoanelor coinfectate HIV/VHB netratate se raporteaza o progresie rapida catre ciroza hepatica, (Puoti 2006), iar carcinomul hepatocelular apare la o varsta mai timpurie sub o forma mai agresiva (Puoti 2004; Brau 2007).

Studiul EuroSIDA a aratat ca la indivizii HIV pozitivi, coinfectia VHB creste mortalitatea asociata bolii hepatice de 3.6 ori chiar si dupa introducerea politerapiei divergente (highly active antiretroviral combination therapy, HAART), (Konopnicki 2005) (Figura 1). Un studiu multicentric a aratat o crestere de 8 ori a mortalitatii asociate bolii hepatice la indivizii coinfectati VHB/HIV comparativ cu cei infectati doar HIV, in special la cei cu un numar scazut de limfocite T CD4 (Thio 2002). Aceasta asociere este sustinuta si de observatia ca tratamentul cu lamivudina scade mortalitatea in coinfectia VHB/HIV (Puoti 2007), rezultat remarcabil avand in vedere ca lamivudina este unul din cei mai putin eficienti inhibitori ai polimerazei datorita aparitiei relativ rapide a rezistentei.

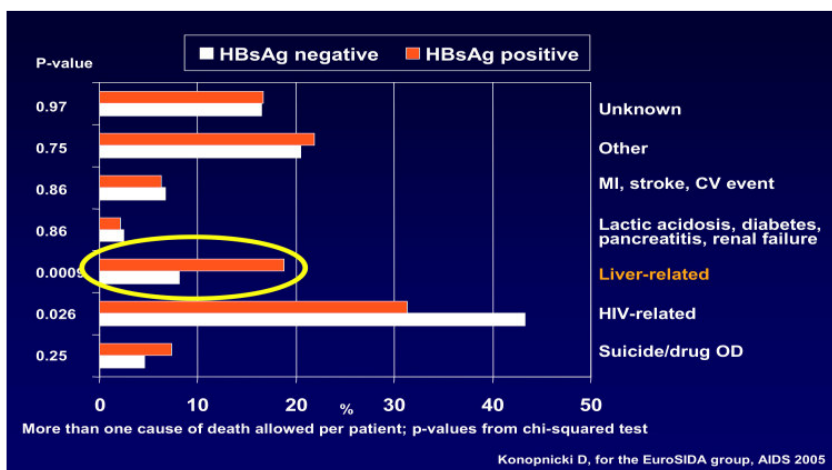


Figura 1. Asocierea coinfectiei VHB/HIV si mortalitate

Aceste studii ample de cohorta, impreuna cu datele acumulate in studiile infectiei cu VHB in care s-a demonstrat reducerea mortalitatii si morbiditatii, justifica tratamentul hepatitei B la pacientii coinfectati HIV. In terapia antiretrovirală se trateaza si infectia cu VHB deoarece unii inhibitori nucleozidici si nucleotidici ai reverstranscriptazei sunt si inhibitori ai polimerazei VHB. Dozele trebuie ajustate in functie de statusul infectiei cu VHB pentru a evita toxicitatea aditionala. O situatie mai rara, dar mai dificila, este initierea terapiei VHB la pacientii coinfectati HIV fara terapie antiretrovirală. In aceasta situatie, o optiune terapeutică poate fi terapia cu interferon. Deoarece au actiune similara cu a inhibitorilor reverstranscriptazei, principala contraindicatie a inhibitorilor polimerazei VHB ar putea fi inducerea rezistentei HIV.

Terapia VHB la pacientii coinfectati HIV fara terapie antiretrovirală

Recomandarile European AIDS Clinical Society, EACS pentru terapia hepatitei B cronice la pacientii coinfectati HIV fara terapie antiretrovirală sunt prezentate in figura 2 (Rockstroh 2008).

Decizia de initiere a terapiei in hepatita B se bazeaza pe gradul fibrozei hepatice si pe nivelul viremiei VHB, a carei importanta a fost recunoscuta de curand, modificand paradigma terapiei hepatitei B. Aceasta decizie se bazeaza pe rezultatele studiului REVEAL (Iloeje 2006). In studiul REVEAL a fost monitorizata istoria naturala a hepatitei B cronice fara ciroza hepatica pe parcursul a mai mult de 10 ani la aproximativ 3700 pacienti taiwanezi. La acesti pacienti s-a aratat ca un nivel al viremiei mai mare de 10.000 copii ADN-VHB/ml (i.e., 2000 IU/ml) a crescut semnificativ riscul de aparitie a cirozei hepatice si carcinomului hepatocelular (Figura 3).

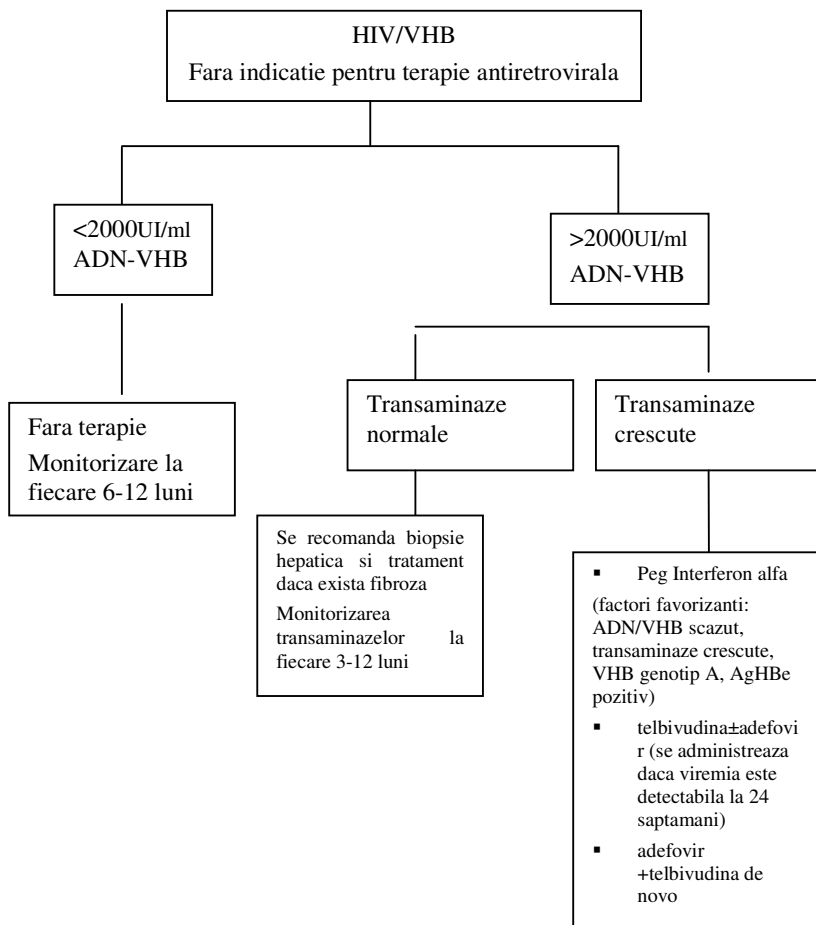
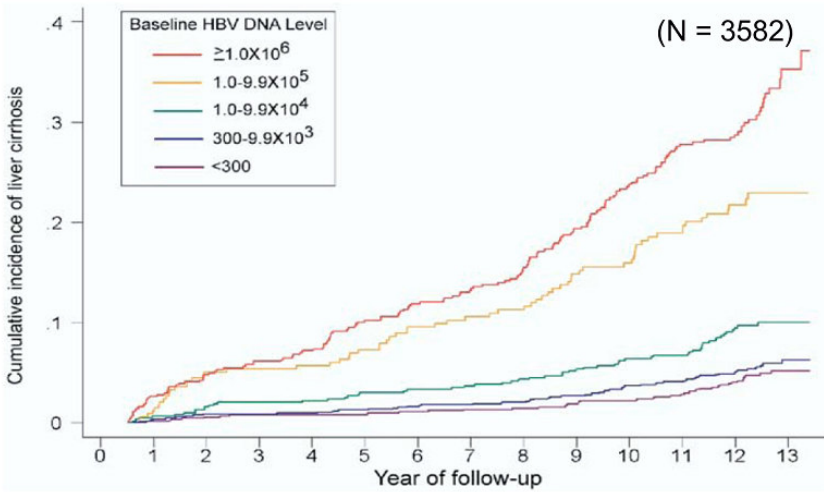


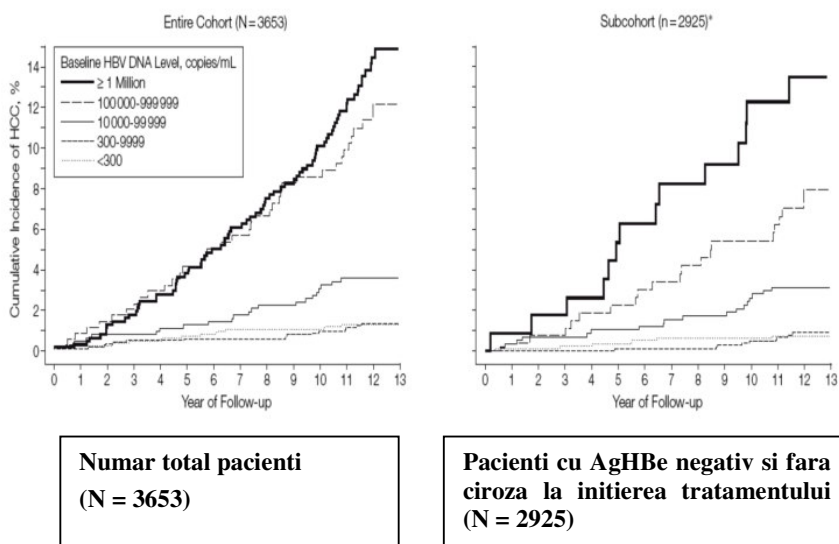
Figura 2. Algoritmul terapiei infectiei cu VHB la pacientii coinfectati HIV (EACS 2008).



Iloeje UH et al. Gastroenterology 2006; 130: 678

Figura 3. Studiul REVEAL : Asocierea nivelului viremiei cu ciroza hepatica.

Aceasta asociere a fost observata si la pacientii cu transaminaze in limite normale (Chen 2006) (Figura 4). Cohorta studiata este alcatuita din pacientii de origine asiatica fara coinfectie HIV marea majoritate fiind infectati la nastere sau timpuriu in copilarie, rezultatele fiind considerate importante si de aceea au fost incluse in managementul pacientilor coinfectati HIV.



Chen CJ et al. JAMA 2006; 295: 65

Figura 4. Studiul REVEAL: Legatura dintre nivelul viremiei VHB si aparitia carcinomului hepatocelular.

Pacientii cu o incarcatura virala VHB mai mica de 2000 UI/ml nu prezinta leziuni necroinflamatorii hepatice importante, gradul de fibroza este redus si riscul de dezvoltare a carcinomului hepatocelular este scazut. In mod particular la pacientii cu mutante VHB precore, variatiile nivelului ADN VHB si ale transaminazelor nu sunt rare. Se recomanda monitorizarea viremiei si a transaminazelor insotita de o ecografie la fiecare 6-12 luni. In situatia unei viremii sub 2000 UI/ml si a unor transaminaze crescute si /sau a semnelor de fibroza hepatica severa se vor exclude alte etiologii ale hepatitei si toxicitatii hepatice.

La pacientii cu o viremie peste 2000 UI/ml, pentru a decide urmatorul pas, se are in vedere nivelul transaminazelor. La pacientii cu transaminaze normale trebuie evaluat nivelul fibrozei hepatice prin biopsie sau elastometrie. In cazul absentei fibrozei hepatice (METAVIR stadiul F0/1) se recomanda monitorizarea nivelului viremiei si al transaminazelor impreuna cu o ecografie la fiecare 3-6 luni. Pentru un nivel de fibroza METAVIR F2 sau mai mare se recomanda initierea tratamentului hepatitei B.

La pacientii cu un nivel al viremiei peste 2000 IU/ml si transaminaze crescute tratamentul VHB ramane o optiune, mai ales in cazul unei fibroze hepatice relevante.

Desi in cazul pacientilor fara terapie antiretrovirală, PEG-IFN α -2a sau -2b pare a reprezenta o optiune potrivita, datele din literatura pentru pacientii coinfectati HIV si tratati cu interferon pentru infectia cu VHB sunt putine si nu foarte incurajatoare (Núñez 2003). Nu exista studii prospective controlate pe cohorte mari asupra efectelor interferonului peghilat. Factorii favorabili pentru succesul terapiei cu

interferon sunt un nivel scazut al viremiei VHB, transaminaze crescute, genotipul A al VHB sau infectia cu tipul salbatic.

Ca alternativa pacientii pot fi tratati cu inhibitorii polimerazei VHB dar, datorita actiunii lor antiretrovirale, tenofovir, emtricitabina si lamivudina sunt contraindicate in absenta terapiei HIV. Contrar datelor obtinute *in vitro* de companiile farmaceutice, pentru entecavir s-a raportat actiune antiretrovirală si aparitia mutatiei M184V, la nivelul reverstranscriptazei HIV (MacMahon 2007). Astazi numai telbivudina si adefovirul sunt considerate optiuni terapeutice sigure, dar exista putine date *in vivo* care sa sustina aceste recomandari (Delaugerre 2002; Sheldon 2005). In ceea ce priveste telbivudina, datele *in vitro* disponibile arata o activitate inhibitorie specifica a polimerazei VHB. Nu exista inca date clinice in ce priveste tratamentul pacientilor coinfectati.

Datorita eficacitatii antivirale bune, telbivudina este preferata adefovirului de majoritatea expertilor (Chan 2007). Strategia alternativa este adaugarea telbivudinei la terapia cu adefovir in cazul unei terapii antivirale incomplet supresive sau administrarea ambelor medicamente in cazul primointentiei de terapie combinata.

Initierea terapiei antiretrovirale care permite administrarea tenofovirusului plus lamivudina/emtricitabina trebuie luata in considerare mai ales in cazul pacientilor coinfectati HIV cu fibroza hepatica severa, avand in vedere ca ambele medicamente au actiune limitata la pacientii infectati numai cu VHB, datorita inducerii rapide a rezistentei, in cazul telbivudinei si eficacitatii antivirale scazute a adefovirusului.

La pacientii infectati doar cu VHB durata terapiei este determinata de seroconversia AgHBe iar in cazul infectiei cu o mutanta precore, seroconversia Ag HBs.

Tratamentul hepatitei B cronice in cadrul coinfectiei VHB/HIV

Exista o gama variata de inhibitori ai polimerazei VHB disponibili pentru tratamentul pacientilor tratati cu antiretrovirale. Algoritmul terapeutic din figura 5 se bazeaza pe aceleasi principii enuntate mai sus (Rockstroh 2008).

La pacientii cu un nivel al viremiei VHB sub 2000 UI/ml si fara fibroza hepatica semnificativa nu se recomanda in mod special nici un regim antiretroviral. In momentul alegerii unui inhibitor al polimerazei VHB este esentiala supresia completa a replicarii VHB pentru a evita aparitia rezistentei VHB. La acesti pacienti ar trebui evaluata la fiecare 6 luni infectia VHB in cadrul monitorizarii de rutina a infectiei HIV si, datorita riscului usor crescut de carcinom hepatocelular, ar trebui inclusa si o ecografie.

In cazul in care nivelul viremiei depaseste 2000 UI/ml la pacientii naivi, din punct de vedere al tratamentului ARV se recomanda tratamentul ambelor infectii cu combinatia tenofovir plus lamivudina/emtricitabina. Aceasta strategie terapeutica este recomandata chiar si la pacientii care, datorita unor terapii anterioare, au deja mutante VHB rezistente la lamivudina, pentru a intarzia aparitia rezistentei la adefovir (Lampertico 2007).

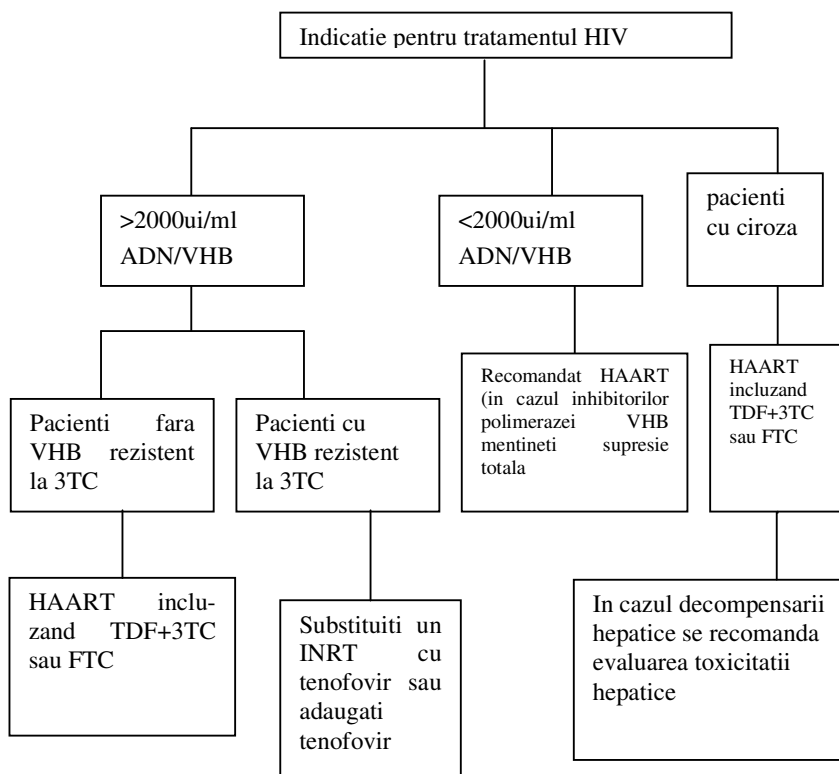


Figura 5. Algoritm de terapie a infectiei cu VHB la pacientii tratati cu antiretrovirale (EACS 2008).

La pacientii cu ciroza hepatica terapia cu un inhibitor activ si stabil al polimerazei VHB este esentiala pentru evitarea decompensarii hepatice si reducerea riscului aparitiei carcinomului hepatocelular. Se recomanda ca terapie de electie tenofovir plus lamivudina/emtricitabina. Daca terapia nu este complet supresiva se recomanda adaugarea entecavirului. La pacientii cu decompensare hepatica si posibilitatea tratamentului complet al VHB si infectie HIV stabila, trebuie avut in vedere transplantul hepatic, deoarece speranta de viata nu este diferita de a pacientilor infectati numai cu VHB (Coffin 2007). Si pacientii cu carcinom hepatocelular sunt candidati ai transplantului hepatic, desi conform datelor preelminare pe cohorte mici, la pacientii infectati doar VHB cu carcinom hepatocelular evolutia este mai severa (Vibert 2008).

La pacientii coinfectati HIV tenofovirul este considerat terapia standard a infectiei VHB datorita bunei eficacitati asupra polimerazei VHB. Pentru majoritatea pacientilor coinfectati HIV/VHB, tenofovirul s a dovedit o terapie eficienta si de durata (van Bömmel 2004), studiile aratand ca nu determina mutatii de rezistenta, desi nu exista date in cazul terapiei de durata. In studiile controlate prospective

tenofovir s-a dovedit superior adefovirului in tratamentul pacientilor cu si fara AgHBe (Heathcote 2007; Marcellin 2007).

Eficienta tenofovirului poate fi diminuată prin achiziția mutațiilor de rezistență la adefovir și a rezistenței multiple pentru lamivudina (Fung 2005; Lada 2008; van Bommel 2006), deși chiar în aceste situații tenofovirul își menține acțiunea anti VHB (Berg 2008).

Pentru tulpinile VHB rezistente la lamivudina activitatea antivirală a entecavirului la pacienții co-infecțati HIV este scăzută, la fel ca și în monoinfecția cu VHB (Shermann 2008). Din această cauză tenofovirul, un antiretroviral aprobat, este preferat în terapia pacienților co-infecțati HIV naivi cu indicație de tratament antiretroviral.

Administrarea entecavirului, telbivudinei sau adefovirului ca adjuvanți ai terapiei cu tenofovir sau alte medicamente în situația unei terapii antivirale incomplet supresive nu a fost studiată la pacienții co-infecțati HIV până acum. Această strategie este decizia doctor/pacient.

Terapia combinată tenofovir plus lamivudina/ emtricitabina este superioară monoterapiei în special în cazul pacienților cu viremie VHB mare, deși nu există studii în această direcție (Schmutz 2006).

În cazul apariției tulpinilor HIV rezistente la tenofovir trebuie avută în vedere acțiunea anti VHB a acestui antiviral înainte de schimbarea lui cu unul fără activitate anti VHB, deoarece întreruperea administrării inhibitorilor polimerazei VHB poate duce la apariția leziunilor necroinflamatorii și decompensare hepatică.

Managementul rezistenței la inhibitorii polimerazei VHB

Aceste aspecte sunt detaliate în Capitolul 10.

Concluzii

Deși numărul de inhibitori ai polimerazei VHB disponibili pentru terapia hepatitei B cronice a crescut substanțial în ultimii ani, opțiunile sunt totuși limitate la două clase care nu dau rezistență încrucișată, compuși nucleotidici și nucleozidici. La pacienții co-infecțati HIV fără terapie antiretrovirală opțiunile sunt și mai reduse practic existând doar două medicamente acceptate: adefovir și telbivudina. Ca alternativă pentru acești pacienți rămâne terapia cu interferon sau inițierea tratamentului antiretroviral.

În coinfecția VHB/HIV, la pacienții naivi sau pretratați cu lamivudina, opțiunea terapeutică rămâne tenofovirul. În cazul terapiilor incomplet supresive, datorită dezvoltării rapide a rezistenței, monoterapia cu lamivudina sau emtricitabina nu trebuie administrată. Combinația inițială tenofovir plus lamivudina/emtricitabina prezintă avantaje teoretice, dar nu există studii care să susțină acest concept.

În general, tratamentul antiviral al infecției VHB suportă aceleași reguli ca în cazul infecției HIV, tinta fiind supresia completă a replicării virale, pentru evitarea instalării rezistenței. Eficiența supresiei virale a VHB este demonstrată de inhibiția activității necroinflamatorii, dispariția fibrozei și controlul imun al infecției.

Referinte

- Alter M. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. *J Hepatol* 2006; 44: 6-9.
- Berg T, Moller B, Trinh H, Chan S, Marcellin P, Suarez E, Snow-Lampart A, Frederick D, Oldach D, Sorbel J, Borroto-Esoda K, Rousseau F. Tenofovir disoproxil fumarate (TDF) versus emtricitabine plus TDF for treatment of chronic Hepatitis B (CHB) in subjects with persistent viral replication receiving adefovir dipivoxil (ADV). *Journal of Hepatology*. 2008; 48(Suppl.2): S34 (abstract 76).
- Bodsworth N, Donovan B, Nightingale BN. The effect of concurrent human immunodeficiency virus infection on chronic hepatitis B: a study of 150 homosexual men. *J Infect Dis* 1989;160(4):577-82.
- Bodsworth NJ, Cooper DA, Donovan B. The influence of human immunodeficiency virus type 1 infection on the development of the hepatitis B virus carrier state. *J Infect Dis* 1991;163(5):1138-40.
- Brau N, Fox R, Xiao P, Marks K, Naqvi Z, Taylor L, et al. Presentation and outcome of hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: A US-Canadian multicenter study. *J Hepatol*. 2007;47(4):527-37.
- Chan HL, Heathcote EJ, Marcellin P et al. Treatment of Hepatitis B e Antigen-Positive Chronic Hepatitis with Telbivudine or Adefovir: A Randomized Trial. *Ann Intern Med*. 2007;147:2-11.
- Chen CJ, Yang HI, Su J, Jen CL et al. REVEAL-HBV Study Group. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA*. 2006; 4; 295(1):65-73.
- Coffin CS, Berg CL, Dove LM et al. Survival and risk of HBV recurrence in HIV-HBV coinfecting liver transplant recipients: Preliminary findings from the HIV-TR study. *Hepatology* 2007; 46 Suppl.1:245A.
- Delaugerre C, Marcelin AG, Thibault V, Peytavin G, Bombléd T, Bochet MV, Katlama C, Benhamou Y, Calvez V. Human immunodeficiency virus (HIV) Type 1 reverse transcriptase resistance mutations in hepatitis B virus (HBV)-HIV-coinfecting patients treated for HBV chronic infection once daily with 10 milligrams of adefovir dipivoxil combined with lamivudine. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002;46(5):1586-8.
- Fung SK, Andreone P, Han SH et al. Adefovir-resistant hepatitis B can be associated with viral rebound and hepatic decompensation. *J Hepatol* 2005; 43(6):937-43.
- Hadler SC, Judson FN, O'Malley PM, et al. Outcome of hepatitis B virus infection in homosexual men and its relation to prior human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1991;163(3):454-9.
- Heathcote EJ, Gane E, DeMan R et al. A randomized, double-blind, comparison of tenofovir DF (TDF) versus adefovir dipivoxil (ADV) for the treatment of HBeAg positive chronic hepatitis B (CHB): Study GS-US-174-0103. *Hepatology* 2007; 46, No. 4, (Suppl.1): 861A, Abstract LB6.
- Iloeje UH, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Chen CJ. Risk Evaluation of Viral Load Elevation and Associated Liver Disease/Cancer-In HBV (the REVEAL-HBV) Study Group. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology*. 2006;130 (3): 678-86.
- Konopnicki D, Mocroft A, de Wit S et al. Hepatitis B and HIV: prevalence, AIDS progression, response to highly active antiretroviral therapy and increased mortality in the EuroSIDA cohort. *AIDS* 2005; 19(6):593-601.
- Lada O, Gervais A, Branger M, Peytavin G, Colin G, Fraqueiro G, Males S, Martinot-Peignoux M, Matheron S, Marcellin P. Low rate of delayed response in lamivudine experienced HIV/HBV co-infected patients treated with enofovir disoproxil fumarate (TDF). *Journal of Hepatology*. 2008; 48(Suppl.2): S259 (abstract 695).

- Lampertico P, Viganò M, Manenti E, Iavarone M, Sablon E, Colombo M. Low resistance to adefovir combined with Lamivudine: a 3-year study of 145 Lamivudine-resistant hepatitis B patients. *Gastroenterology* 2007; 133(5):1445-51.
- Marcellin P, Buti M, Krastev Z et al. A randomized, double-blind, comparison of tenofovir DF (TDF) versus adefovir dipivoxil (ADV) for the treatment of HBeAg-negative chronic hepatitis B (CHB): Study GS-US-174-0102. *Hepatology* 2007; 46, No. 4, (Suppl.1): 290A, Abstract LB2.
- McMahon MA, Jilek BL, Brennan TP et al. The HBV drug entecavir - effects on HIV-1 replication and resistance. *N Engl J Med* 2007;356:2614-2621.
- Modi A, Feld J. Viral hepatitis and HIV in Africa. *AIDS Rev* 2007; 9: 25-39.
- Núñez M, Puoti M, Camino N, Soriano V. Treatment of chronic hepatitis B in the human immunodeficiency virus-infected patient: present and future. *Clin Infect Dis* 2003 15;37(12):1678-85.
- Núñez M, Soriano V. Management of patients co-infected with hepatitis B virus and HIV. *Lancet Infect Dis* 2005; 5:374-382.
- Puoti M, Bruno R, Soriano V, Donato F, Gaeta G, Quinzan G, et al. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: epidemiological features, clinical presentation and outcome. *AIDS* 2004; 18: 2285-93.
- Puoti M, Cozzi-Lepri A, Arici C et al. Impact of lamivudine on the risk of liver-related death in 2,041 HBsAg- and HIV-positive individuals: results from an inter-cohort analysis. *Antivir Ther.* 2006;11(5):567-74.
- Puoti M, Torti C, Bruno R. Natural history of chronic hepatitis B in co-infected patients. *J Hepatol* 2006; 44: 65-70.
- Rockstroh JK, Bhagani S, Benhamou Y, Bruno R, Mauss S, Peters L, Puoti M, Soriano V, Tural C; EACS Executive Committee. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of chronic hepatitis B and C coinfection in HIV-infected adults. *HIV Med.* 2008 Feb;9(2):82-8.
- Schmutz G, Nelson M, Lutz T et al. Combination of tenofovir and lamivudine versus tenofovir after lamivudine failure for therapy of hepatitis B in HIV-coinfection. *AIDS.* 2006;20(15):1951-4.
- Sheldon JA, Corral A, Rodés B, Mauss S, Rockstroh J, Berger F, Schwarze-Zander C, Soriano V. Risk of selecting K65R in antiretroviral-naïve HIV-infected individuals with chronic hepatitis B treated with adefovir. *AIDS* 2005;19(17):2036-8.
- Shepard CW, Simard EP, Finelli L, Fiore AE, Bell BP. Hepatitis B virus infection: epidemiology and vaccination. *Epidemiol Rev.* 2006;28:112-25.
- Sherman M, Yurdaydin C, Simsek H, Silva M, Liaw YF, Rustgi VK, Sette H, Tsai N, Tenney DJ, Vaughan J, Kreter B, Hindes R; A1463026 Benefits of Entecavir for Hepatitis B Liver Disease (BEHoLD) Study Group. Entecavir therapy for lamivudine-refractory chronic hepatitis B: improved virologic, biochemical, and serology outcomes through 96 weeks. *Hepatology.* 2008 ;48(1):99-108
- Soriano V, Puoti M, Bonacini M. Care of patients with chronic hepatitis B and HIV co-infection: recommendations from an HIV-HBV international panel. *AIDS* 2005; 19: 221-240.
- Thio C, Seaberg E, Skolasky R. HIV-1, hepatitis B virus, and risk of liver-related mortality in the Multicenter AIDS Cohort Study (MACS). *Lancet* 2002; 360: 1921-1926.
- Van Bömmel F, Wünsche T, Mauss S et al. Comparison of adefovir and tenofovir in the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2004 40(6):1421-5.
- Van Boemmel F, Zoellner B, Moeller B et al. Is tenofovir effective in treatment of adefovir resistant hepatitis B virus infections? *Hepatology*, 2006, 44, 567A.
- Vibert E, Adam R, Tralhao JG, Azoulay D, Castaing D, Samuel D, Duclos-Vallee JC. Evolution after listing and results of liver transplantation for hepatocellular carcinoma in

HIV/HCV and HIV/HBV coinfectied patients. J Hepatol 2008; 48 (Suppl. 2): S80 (abstract 191).

Capitolul 18: Managementul coinfectiei VHC/HIV

Jürgen Kurt Rockstroh and Stefan Mauss

Epidemiologia coinfectiei HIV/VHC

Cele doua virusuri, HIV si VHC au aceeasi cale de transmitere, aceasta explicand numarul mare de pacienti coinfectati HIV-VHC, in 2007 din totalul global de 33 milioane de cazuri infectate HIV se estimeaza ca 4 - 5 milioane sunt coinfectate cu virusul hepatitei C. Transmiterea prin contactul cu sange sau derivate de sange se realizeaza eficient pentru ambele virusuri, in timp ce transmiterea sexuala este mai putin frecventa pentru VHC, ceea ce implica o prevalenta crescuta a coinfectiei HIV/VHC in anumite regiuni sau chiar in anumite grupuri populationale – inalt corelata cu transmiterea parenterala (mai ales utilizarea de droguri injectabile). Din totalul pacientilor infectati HIV din Europa, Australia si SUA se considera ca minim un sfert sunt coinfectati si cu VHC (Rockstroh 2004), in timp ce acest procent este mai ridicat, ajungand pana la 70% in anumite tari din Europa de Est - Bielorusia si Ucraina, unde calea predominanta de transmitere a celor doua infectii este legata de injectarea intravenoasa de droguri. Din contra, in Europa Centrala (Belgia, Austria sau Germania), calea principala de transmitere a infectiei HIV fiind cea sexuala, rata coinfectiei HIV/VHC este scazuta (10 - 15%) (Rockstroh 2005). O alta categorie de risc este reprezentata de detinuti, un exemplu sugestiv fiind Statele Unite, unde 65-70% din detinutii HIV-pozitivi din inchisori sunt coinfectati VHC, in timp ce in populatia generala acest procent este estimat la 18-25% (Weinbaum 2005). In Asia, rata coinfectiei la donatorii de sange din China este de 85%, in timp ce in tari ca Thailanda, in care predomina calea de transmitere sexuala in achizitia infectiei HIV, rata de coinfectati cu VHC este de aprox. 10% (Qian 2006). In aceeasi situatie se gaseste si Africa Subsahariana, unde calea de transmitere a HIV fiind predominant sexuala, coinfectia cu VHC este rara.

In ciuda acestor dovezi si a caii de transmitere preponderent pe calea contactului cu sange sau cu derivate de sange, au fost descrise recent mici epidemii VHC la homosexualii HIV-pozitivi din cateva orase mari ale Europei (Londra, Paris, Amsterdam, Berlin). Si alte studii mai noi din USA si Canada raporteaza transmiterea sexuala eficienta a infectiei VHC, ceea ce sustine decizia de testare a infectiei in screeningul bolilor cu transmitere sexuala (Gotz 2005; Danta 2007).

VHC este detectat la 4-8% dintre copiii nou-nascuti din mame VHC pozitive, riscul crescand proportional cu incarcatura virala VHC (Zanetti 1995); in plus, infectia dubla VHC/HIV creste riscul transmiterii materno-fetale a ambelor virusuri, dar rata transmiterii scade sub 1% la mamele coinfectate aflate sub terapie HAART si care nasc prin operatie cezariana.

In concluzie, prevalenta hepatitei C la pacientii infectati HIV este mult mai mare decat in populatia generala, in care prevalenta globala este de aprox. 2%, ceea ce releva importanta prevenirii infectiei VHC la aceasta categorie de risc. Valorile medii ale riscului de transmitere a VHC la pacientii HIV-pozitivi, corelat cu eficienta diferita de transmitere a celor doua infectii, este prezentata in tabelul 1.

Mod de transmitere	HIV	VHC	coinfectia VHC / HIV
Perinatal	7-50%	1-7%	1-20%
Contact sexual	1-3%	<1%	<4%
Intepatura cu ac de seringa	0.3%	<1%	necunoscut

La contactul sexual riscul este cumulativ.

Tabel 1. Riscul estimat al transmiterii infectiilor VHC, HIV si al coinfectiei HIV/VHC.

Aspecte tintite ale diagnosticului infectiei VHC in coinfectie cu HIV

Infectia VHC poate fi diagnosticata serologic, prin detectia anticorpilor anti-VHC cu ajutorul unui test imunoenzimatic ELISA, ca si in monoinfectie, dar pierderea anticorpilor anti-VHC aparuta in coinfectie reprezinta mai curand semnul unei depresii imune severe, decat al vindecarii infectiei VHC, cum ar fi fost considerat in monoinfectia VHC (Cribier 1999). De aceea un singur test ELISA negativ pentru anti-VHC nu exclude infectia VHC la pacientii HIV-pozitivi, mai ales la cei imunopresati sever. La mai mult de 80% dintre pacientii cu anticorpi anti-VHC prezenti in plasma, si testul ARN VHC va iesi pozitiv, cu incarcaturi virale mai mari in cazul coinfectiei HIV/VHC decat in cazul monoinfectiei VHC (Perez-Olmeda 2002). In studiile realizate pe pacientii hemofilici, media incarcaturii virale VHC creste cu minim 1 log in primii doi ani dupa coinfectarea cu virusul HIV (Eyster 1994), nivelul ARN VHC crescand de opt ori mai rapid la pacientii coinfectati HIV fata de cei cu hepatita C in monoinfectie, iar valoarea maxima a viremiei VHC este atinsa in momentul instalarii insuficientei hepatice.

Este interesant de subliniat faptul ca exista totusi posibilitatea clearance-ului viral VHC la anumiti pacienti coinfectati HIV/VHC aflati in faza de reconstructie imuna dupa terapie HAART (Fialaire 1999), asa cum exista si pacienti anti-VHC pozitivi care initial nu prezentau viremie VHC si la care, dupa inceperea terapiei HAART aceasta devine detectabila, in asociere cu transaminazele crescute in plasma. Aceste exemple indica necesitatea monitorizarii regulate a incarcaturii virale VHC la pacientii coinfectati HIV/VHC.

Distributia genotipurilor VHC in cadrul coinfectiei cu HIV reflecta calea de transmitere, astfel: genotipul 1b reprezinta doua treimi din cazurile cu transmitere post-transfuzionala a infectiei VHC si predomina de asemenea, la hemofilici, in timp ce genotipurile 1a si 3a sunt mai frecvente la utilizatorii de droguri injectabile (Pol 1994).

Istoria naturala a hepatitei C la pacientii HIV-pozitivi

Cu toate ca studiile mai vechi indicau faptul ca infectia HIV, prin depresia imuna subiacenta, scade sansele de vindecare a hepatitei virale C, totusi studii recente asupra epidemiei europene VHC transmisa pe cale sexuala la indivizi infectati HIV, indica vindecarea spontana la pana la 20-30% dintre cazurile de infectie VHC acuta.

Totusi, dupa instalarea stadiului cronic al hepatitei C, majoritatea studiilor indica o progresie accelerata la coinfectati cu HIV; astfel, un studiu american multicentric semnaleaza aparitia insuficientei hepatice la minim 9% dintre hemofilicii adulti coinfectati VHC/HIV, fara alte infectii oportuniste sau neoplazii caracteristice stadiului SIDA (Eyster 1993), in timp ce la hemofilicii neinfectati HIV in aceeasi perioada a studiului nu apare nici un caz de insuficienta hepatica. Evolutia nefavorabila a hepatitei C cronice la hemofilicii HIV-pozitivi este confirmata si de alte studii, mai ales la pacientii cu imunosupresie progresiva si numar de limfocite CD4-pozitive mai mic de 100 celule/ μ l (Rockstroh 1996).

De asemenea, intervalul de timp de la achizitia infectiei VHC pana la aparitia cirozei hepatice este mai scurt la pacientii coinfectati HIV, astfel ca la 10-15 ani de la contactul infectant, 15-25% dintre coinfectati VHC/HIV prezinta ciroza, comparativ cu 2-6% dintre pacientii HIV-negativi (Soto 1997). La pacientii hemofilici coinfectati HIV/VHC mortalitatea crescuta prin boli hepatice terminale se inregistreaza cu zece ani mai devreme decat la hemofilicii monoinfectati VHC (Darby 1997).

Efectul hepatitei C asupra infectiei HIV

Influenta hepatitei C asupra istoriei naturale a infectiei HIV nu este inca bine precizata. Un studiu realizat in Elvetia a indicat initial un raspuns mitigat al limfocitelor CD4-pozitive si o progresie accelerata spre SIDA dupa initierea terapiei HAART la pacientii coinfectati HIV/VHC (Greub 2000), dar dupa o perioada de urmarire de patru ani nu s-au putut decela diferente semnificative cu privire la nivelul limfocitelor CD4-pozitive intre pacientii infectati HIV, cu si fara infectie VHC (Kaufmann 2003). Alte studii sustin, de asemenea, ideea ca dupa o perioada de adaptare la terapia HAART se poate observa o evolutie similara a infectiei HIV in mono sau coinfectie VHC (Sulkowski 2002). Informatiile provenite din studiul EuroSIDA, care a evaluat modul de evolutie a infectiei HIV la pacientii fara infectie VHC, fata de cei cu hepatita C cronica (cu replicare VHC persistenta), sau fata de pacientii cu hepatita C vindecata (anticorpi anti-VHC pozitivi, dar ARN VHC negativ persistent), au confirmat ipoteza evolutiei similare a infectiei HIV la pacientii cu hepatita VHC cronica activa fata de cei neinfectati VHC (Rockstroh 2007).

Efectul terapiei HAART asupra hepatitei C

La pacientii coinfectati HIV/VHC care incep terapia antiretrovirală poate aparea o crestere tranzitorie a incarcaturii virale ARN VHC in saptamana 4, dar ulterior nu apar alte modificari ale acesteia, cel putin in primele sase luni de tratament (Rockstroh 1998). Unele studii, desi controversate, au raportat o scadere de 1 log a viremiei VHC la pacientii coinfectati HIV/VHC dupa o perioada de 12 luni de terapie HAART, dupa obtinerea unei reconstructii imune semnificative. Mai mult, a fost semnalata chiar vindecarea hepatitei C la pacientii care reusesc sa atinga un numar normal de limfocite CD4-pozitive dupa terapia HAART, existand tot mai multe dovezi ale efectului favorabil al reconstructiei imune asupra evolutiei hepatitei C (evolutia nefavorabila a hepatitei C este corelata perioadei de deficit imun, mai ales la pacienti cu numar de limfocite CD4-pozitive mai mic de 200/ μ l).

Un studiu realizat pe 162 pacienti coinfectati HIV/VHC tratati cu inhibitori de proteaza ca o componenta a regimului HAART, a indicat scaderea semnificativa a ratei de progresie a fibrozei hepatice detectate prin punctie biopsie hepatica, fapt ce nu a putut fi explicat prin implicarea altor factori (Benhamou 2000). Acest lucru a fost sustinut si de alte studii comparative intre pacientii corect tratati – care prezinta rate semnificativ scazute ale mortalitatii de cauze hepatice, fata de cei cu terapie incompleta (unul sau doi inhibitori nucleozidici de reverstrascriptaza), sau fata de cei netratati (Qurishi 2003).

Un alt studiu recent (Pineda 2007) indica faptul ca pacientii coinfectati HIV/VHC care obtin reconstructia imuna postterapie HAART, cu numar de limfocite CD4- pozitive ajuns la valori normale, sunt cel mai putin afectati de aparitia complicatiilor bolii hepatice induse de VHC. De aceea EACS (European AIDS Clinical Society) recomanda in noul ghid de terapie a infectiei HIV ca pacientii HIV-pozitivi care prezinta coinfectie VHC, sa fie candidati favoriti pentru initierea cat mai rapida a tratamentului antiretroviral.

Trebuie insa subliniat faptul ca rata de succes terapeutic pe termen scurt si lung al terapiei HAART la pacientii coinfectati HIV/VHC este totusi limitata de hepatotoxicitatea asociata medicamentelor antiretrovirale, unele studii indicand cresterea transaminazelor serice pe durata terapiei, independent de evolutia infectiei VHC (Lichterfeld 2004).

Tratamentul infectiei VHC

Motivul cel mai important pentru initierea terapiei HAART la pacientii coinfectati HIV/VHC este reprezentat de evolutia nefavorabila a hepatitei C in absenta terapiei antiretrovirale. Totusi, hepatotoxicitatea asociata antiretroviralelor poate limita beneficiul pe termen lung al acestora, ceea ce subliniaza in continuare necesitatea tratarii concomitente a infectiei VHC (Sulkowski 2000). Studii recente indica faptul ca obtinerea clearance-ului viral VHC postterapeutic amelioreaza leziunile hepatice (chiar dupa instalarea cirozei hepatice), iar dupa vindecarea infectiei VHC aparitia complicatiilor de ordin hepatic este extrem de rara.

Obiectivul principal al tratamentului hepatitei C este eliminarea infectiei, definita ca raspuns virusologic sustinut (RVS), definit ca mentinerea ARN VHC negativ la sase luni dupa incheierea tratamentului. Absenta viremiei la incheierea tratamentului defineste ETR (end-of-treatment response); raspunsul virusologic rapid reprezinta ARN VHC negativ la patru saptamani de la initierea terapiei, iar pacientii care prezinta viremie VHC pozitiva in ciuda terapiei sunt denumiti non-responderi.

Terapia combinata cu interferon pegylat plus ribavirina este considerata terapia standard pentru pacientii coinfectati HIV/VHC, in tabelul 2 fiind sumarizate principalele rezultate obtinute in diferite studii clinice randomizate efectuate pana in prezent.

STUDIUL

Variabile	ACTG5071	APRICOT	RIBAVIC	Laguno	PRESCO
Numar de pacienti	66	289	194	52	389
PEG-interferon α	2a	2a	2b	2b	2a

Utilizatori de droguri iv	-	62%	80%	75%	90%
Ciroza hepatica	11%	15%	39% (F3-F4)	19%	28% (F3-F4)
Genotip 1,4	77%	67%	61%	63%	61%
ALT normal	34%	0%	16%	0%	0%
Numar de CD4+ (mediana)	495	520	477	570	546
Terapie HAART	85%	83%	83%	94%	74%
Intreruperea terapiei datorita RA*	12%	25%	17%	17%	9%
Intreruperea terapiei din alte cauze	-	31%	39%	23%	7%
ETR**	41%	49%	35%	52%	67%
RVS ***	27%	40%	27%	44%	50%

*RA - reactii adverse, ** ETR - raspuns virusologic la incheierea tratamentului (end-of-treatment response), *** RVS - raspuns virusologic sustinut

Table 2. Rezultatele obtinute in studii clinice randomizate efectuate pe pacienti coinfectati HIV/VHC tratati cu interferon pegylat plus ribavirina.

Rata de raspuns virusologic sustinut (RVS) dupa terapia combinata ajunge in general pana la 50% (Torriani 2004; Nunez 2007), diferentele aparute intre studii tinand probabil de doza ribavirina, aceasta fiind redusa initial (800 mg/zi) indiferent de genotipul VHC, datorita eventualei insumari a reactiilor adverse ale acestuia cu inhibitorii nucleozidici de reverstranscriptaza utilizati in terapia HAART. De exemplu, in studiile recente (PRESCO), in care terapia infectiei VHC se baza pe doze de ribavirina de 1000-1200 mg /zi, in functie de greutatea corporala si independent de genotip, rata RVS s-a dublat fata de cea obtinuta la pacientii inrolati in studiile mai vechi (APRICOT), la care doza obisnuita era de 800 mg/zi. De aceea, recomandarea actuala referitoare la doza zilnica de ribavirina este de 1000 mg (pentru greutate corporala <70 kg) si 1200 mg (pentru greutate corporala \geq 70 kg) - divizata in doua prize - si asociata cu interferon pegylat, administrata pacientilor cu coinfectie HIV-VHC indiferent de genotipul VHC. Doza standard pentru preparatele de interferon utilizata in coinfectia HIV/VHC este: pentru PEG-IFN α -2a - 180 μ g/kg corp, administrata saptamanal, iar pentru PEG-IFN α -2b - 1.5 μ g/kg administrata saptamanal. Durata terapiei este stabilita individual, luand in considerare factorii esentiali ai succesului terapeutic ca genotipul VHC, incarcatura virala ARN VHC base-line si durata de timp necesara obtinerii unei incarcaturi virale nedetectabile sub tratamentul antiviral (Figura 1).

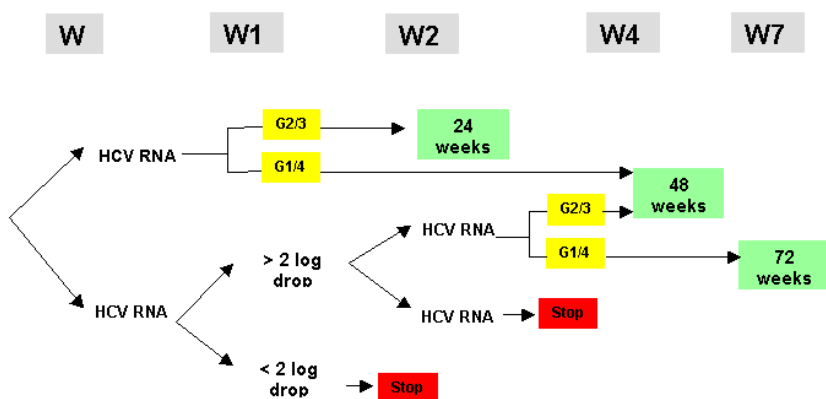


Figura 1. Algoritmul de abordare a infecției cu virus hepatitic C în coinfectie cu HIV:

Durata optimă de tratament la pacienții coinfectați HIV/VHC (W: săptămâna; G: genotip; la pacienți cu încărcătură virală de bază mică - 400 000 UI/l și fibroză hepatică minimă sau absentă (modificat după Rockstroh 2008).

Totii pacienții coinfectați HIV/VHC sunt potențial candidați la tratamentul pentru hepatita C – atunci când beneficiul depășește riscul terapeutic - deoarece acesta poate eradică infecția VHC, ceea ce determină o abordare avantajoasă a infecției HIV. Beneficiile terapeutice trebuie privite prin prisma evoluției rapide a fibrozei hepatice la pacienții coinfectați, informațiile asupra stadiului fibrozei fiind importante înainte luării deciziei terapeutice, punctia biopsie hepatică nefiind totuși obligatorie în decizia de a iniția terapia infecției VHC. Au indicație de tratament acei pacienți cu șanse mari de a obține RVS, de ex. cei cu infecție VHC genotip 2 sau 3 sau cei cu încărcătură virală ARN VHC de bază scăzută (<400.000-500.000 UI/ml) (Rockstroh 2008).

Recent, pentru evaluarea preterapeutică a pacienților coinfectați HIV/VHC a fost propus testul de rezistență la insulină prin determinarea scorului HOMA-IR, deoarece rezistența la insulină, fenomen des raportat în infecția HIV, pare a fi un predictor negativ pentru obținerea RVS. Tratamentul poate fi amânat la pacienții cu fibroză hepatică minimă sau absentă (F0-F1), indicată fie prin biopsie hepatică fie prin teste non-invasive de aprecierea a fibrozei (de ex. elastometria prin FibroScan, Echosense, Franta), indiferent de genotipul VHC implicat. Evaluarea stadiului fibrozei este cu atât mai imperios necesară la pacienții cu șanse mici de reușită terapeutică.

Diagnosticul de hepatita C

Anticorpi anti-VHC (pozitivi la 1-5 luni dupa achizitia infectiei, rareori dispar datorita imunosupresiei)

Nivelul ARN VHC* (nu are valoare prognostica asupra progresiei bolii hepatice, dar este un indicator al raspunsului la tratament)

Stadiul bolii hepatice

Gradul de fibroza (prin Fibroscan, biopsie hepatica sau indici biochimici de fibroza**)

Investigarea functiei de sinteza a ficatului (de ex. factorii de coagulare, proteine serice, albumina)

Echografie si determinarea alpha fetoproteine serice la 6 luni la pacientii cu ciroza (plus gastroscopie in momentul diagnosticarii cirozei si apoi la 1-2 ani)

Inainte de initierea tratamentului pentru VHC

Incarcature virala ARN VHC si genotipare VHC

Autoanticorpi (ANA, SMA, ANCA si LKM1)

TSH si autoanticorpi tiroidieni daca este necesar

Monitorizarea tratamentului pentru VHC

Hemoleucograma si transaminaze serice la 2-4 saptamani

Incarcature virala ARN VHC in saptamana 4 (pentru evaluarea raspunsului virusologic rapid), in saptamanile 12, 24, 48, (72 daca este cazul) si la 24 de saptamani dupa incheierea terapiei

Numaratoare de limfocite CD4-pozitive la 12 saptamani

TSH la 12 saptamani

*Incarcatura virala baseline scazuta este definita ca fiind mai mica de 400.000 UI/l corelata tratamentului combinat PEG-IF plus RBV; nu exista o formula standard de conversie a incarcaturii virale ARN VHC din copii/ml in UI/ml (difera dupa testul utilizat, variind intre 1 si 5 copii ARN VHC per UI).

** Indicii biochimici de fibroza includ APRI, FIB-4, acidul hialuronic, Fibrotest, Forns, s.a.

Tabel 3. Indicatiile diagnostice pentru hepatita C din coinfectia cu HIV (adaptat dupa Rockstroh 2008).

Daca hepatita cronica C este detectata timpuriu (inaintea initierei terapiei HAART) atunci este indicata inceperea tratamentului pentru infectia VHC, cu exceptia cazurilor care prezinta imunosupresie severa (numar de limfocite CD4-pozitive $<200/\mu\text{l}$), deoarece pacientii cu procent relativ de celule CD4 peste 25 % au sanse mai mari de a obtine RVS (Opravil 2007). De asemenea, daca in saptamana 12 sub terapie nu se obtine o scadere a ARN VHC de minim 2 \log_{10} comparativ cu incarcatura virala baseline, tratamentul trebuie intrerupt deoarece obtinerea RVS este improbabila in acest caz. Recomandarile europene actuale privind initierea tratamentului cu peg-interferon plus ribavirina la pacientii coinfectati HIV/VHC sunt indicate in figura 1, iar indicatiile diagnostice pentru hepatita C din coinfectia cu HIV sunt expuse in tabelul 3.

Alegerea antiretroviralelor din timpul tratamentului infectiei VHC

Pentru a putea incheia tratamentul de 24 - 72 de saptamani indicat pentru eradicarea infectiei VHC este necesara alegerea antiretroviralelor cel mai bine tolerate de or-

ganism, trebuind evitate acele medicamente care determina reactii adverse de tip hepatotoxic. Un exemplu in acest sens este reprezentat de acidoza lactica si decompensare hepatica aparute dupa administrarea de didanozina (ddI) la pacientii cu ciroza hepatica instalata inaintea initierii terapiei combinate cu PEG-IFN/RBV (Mauss 2006). Ribavirina pare a accentua procesul de fosforilare a ddI, ceea ce creste riscul de pancreatita si toxicitate mitocondriala la pacientii ce primesc concomitent ribavirina si ddI, de unde imposibilitatea asocierii mai ales la pacientii ciroctici. Folosirea AZT si d4T ar trebui evitata, de asemenea, datorita toxicitatii cumulative: astfel RBV plus AZT pot determina agravarea anemiei, iar RBV plus d4T pot fi asociate cu cresterea toxicitatii mitocondriale, scadere ponderala si agravarea lipoatrofiei preexistente. Actiunea abacavirului nu este inca bine precizata, dar unele studii indica o rata RVS mai scazuta la pacientii a caror regimuri HAART includ acest medicament (Bani-Sadr 2007). Explicatia pare a fi interferenta terapeutica, avand in vedere faptul ca atat abacavirul cat si ribavirina sunt analogi guanozinici, totusi in prezenta unui nivel plasmatic de ribavirina in limite terapeutice nu apar diferente semnificative ale RVS intre pacientii coinfectati HIV/VHC tratati cu PEG-IFN/RBV, aflati sub terapie HAART continuand abacavir fata de cei cu alti analogi nucleozidici.

Tratamentul infectiei VHC la pacientii cu recidiva sau la non-responderi

La pacientii cu recidiva sau cei non-responderi este necesara ajustarea terapiei pentru infectia VHC, optimizand dozele de medicament si durata administrarii, optiunile terapeutice fiind sumarizate in tabelul 4 (Rockstroh 2008).

Categoria	Recomandari
Tratament anterior inadecvat	Retratate folosind combinatia terapeutica peg-interferon α plus ribavirina in doza corespunzatoare greutatii corporale
Interferon (monoterapie sau asociat cu ribavirina)	
Doza scazuta de ribavirina Durata scazuta a tratamentului	
Intreruperea terapiei datorata toxicitatii sau lipsei de aderenta	Terapie de suport* (antidepresive de tip ISS, paracetamol / AINS, factori hematopoietici de crestere)
Esec virusologic	Antivirale noi

*ISS, inhibitori selectivi de serotonina, AINS, antiinflamatoare nonsteroidiene;

Tabel 4. Masuri de reorganizare a tratamentului pentru pacienti coinfectati VHC/HIV-non-responderi sau cu recidive dupa terapii anterioare.

Tratamentul hepatitei C acute la pacientii infectati HIV

Tratamentul infectiei VHC este indicat la pacientii cu hepatita C acuta, daca exista doua testari pentru ARN VHC pozitive la diferenta de 1 saptamana pana in saptamana 12 dupa achizitia infectiei, deoarece rata RVS este mai mare pentru infectia acuta fata de cea cronica VHC. Din pacate nu exista studii controlate legate de acest capitol, un singur studiu pilot indicand rate ale RVS de peste 60% la

pacienti HIV pozitivi cu hepatita C acuta carora li s-a administrat terapie combinata PEG-IFN/ribavirin pe o durata de 24-48 saptamani. Este in derulare un studiu multicentric (NEAT), ale carui obiective sunt determinarea posibilitatii de utilizare a PEG-IFN in monoterapie, excluzand ribavirina si evaluarea duratei acestei terapii.

Transplantul hepatic la pacientii coinfectati HIV/VHC

In general, pacientii coinfectati HIV/VHC dezvolta mai frecvent complicatii hepatice induse de VHC (fibroza sau ciroza hepatica) prezentand in plus o rata crescuta de aparitie a carcinomului hepatocelular (HCC) la varste mai tinere si cu evolutie mai agresiva, ceea ce face ca pacientii coinfectati sa prezinte o durata de supravietuire mai mica fata de pacientii monoinfectati HIV. Din aceste considerente recomandarile ghidului european consens (Alberti 2005) indica efectuarea unei endoscopii gastrointestinale superioare la 1-2 ani pentru pacientii cirofici, in vederea detectiei prezentei de varice esofagiene, iar la pacientii aflati in stadiu F3/F4 al fibrozei, realizarea unei echografii hepatice si determinarea alpha-fetoproteinei serice la 6 luni.

Transplantul hepatic este indicat la pacientii cu ciroza decompensata, aceasta reprezentand o contraindicatie pentru tratamentul medicamentos al VHC, dar pentru a fi eligibil pentru transplant, pacientul infectat HIV trebuie sa indeplineasca urmatoarele criterii: numar de limfocite CD4+ minim 100 celule/ μ l, viremie HIV nedetectabila, sau macar optiuni terapeutice serioase pentru a controla infectia HIV posttransplant. Contraindicatiile transplantului hepatic la pacientii coinfectati HIV/VHC sunt: infectiile oportunistice in evolutie, consumul actual de alcool sau droguri injectabile, metastaze ale HCC, tumori maligne de alta provenienta, boli cardiopulmonare grave sau varsta inaintata, cu risc mare de mortalitate asociata interventiei chirurgicale. Au fost raportate pana in prezent 50 de cazuri de pacienti HIV-pozitivi supusi transplantului hepatic datorita unei boli hepatice terminale induse de VHC, procentul de supravietuire la 2 ani posttransplant fiind de aproximativ 75% (Rockstroh 2004; Ragni 2003). Rata de supravietuire la 1 si 3 ani la pacientii transplantati coinfectati HIV/VHC pare a fi similara cu cea a pacientilor HIV-negativi, indiferent de imunodepresia indusa de terapia imunosupresoare, iar riscul infectiilor oportuniste ramane scazut daca replicarea virala HIV este controlata eficient prin terapia HAART.

In perioada posttransplant este foarte important de determinat nivelul plasmatic al antiretroviralelor deoarece exista numeroase interactiuni medicamentoase intre antiretrovirale si medicamentele imunosupresoare ca tacrolimus si ciclosporina A, la nivelul citocromului P450 si al inductiei p-glicoproteinei. Inhibitorii de proteaza virala pot creste concentratia plasmatica de ciclosporina A sau tacrolimus, mai ales atunci cand se foloseste ca booster ritonavirul (Vogel 2004), in timp ce NNRTI pot scadea concentratia plasmatica a medicamentelor imunosupresoare.

Recurenta hepatitei C posttransplant apare frecvent la pacientii HIV-pozitivi, la care sunt descrise evolutii mai grave, cu progresie rapida spre ciroza si mortalitate crescuta in comparatie cu pacientii monoinfectati VHC, de aceea combinatia peg-interferon plus ribavirina pare a fi optiunea terapeutica optima pentru o perioada 1-3 luni dupa transplant, sau in cazul reinfectiei VHC a ficatului transplantat (detalii in Capitolele 22 si 23).

Concluzii

Infecția HIV accelerează progresia hepatitei C, ceea ce determină creșterea mortalității și morbidității prin boli hepatice terminale la pacienții coinfectați față de cei monoinfectați fie HIV, fie VHC. Hepatotoxicitatea indusă de terapia HAART, ca și interacțiunea medicamentoasă între antiretrovirale și ribavirina subliniază necesitatea unei strategii terapeutice clare la această categorie de pacienți. Un mare număr de studii acceptă combinația interferon pegylat plus ribavirina ca “standard de aur” al terapiei deoarece aceasta permite obținerea unei rate de RVS de aproape 50% la pacienții coinfectați HIV/VHC, dacă sunt adaptate condițiile de tratament (ribavirina 1000-1200 mg / zi, durata tratamentului individualizată).

Totuși nu trebuie omis faptul că un procent apreciabil de pacienți nu sunt eligibili pentru inițierea terapiei sau suferă recăderi ale infecției VHC, mai ales cei infectați cu genotipul 1 și în plus nu există până în prezent decât o singură opțiune terapeutică. De aceea noi strategii terapeutice sunt așteptate pentru pacienții coinfectați HIV/VHC, cum sunt medicamente alternative pentru inhibitorii de reverstranscriptază HIV și inhibitorii noi de polimerază și protează VHC, care sunt pe cale de introducere în practica clinică.

Referințe

- Alberti A, Clumeck N, Collins S, et al. ECC Jury. Short statement of the first European Consensus Conference on the treatment of chronic hepatitis B and C in HIV co-infected patients. *J Hepatol.* 2005 May;42:615-24.
- Bani-Sadr F, Denoed L, Morand P, et al. Agence Nationale pour la Recherche contre le SIDA et les Hépatites Virales HC02-Ribavir Study Team. Early virologic failure in HIV-coinfected hepatitis C patients treated with the peginterferon-ribavirin combination: does abacavir play a role? *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2007;45:123-5.
- Benhamou Y, Demartino V, Boche T et al: Factors effecting liver fibrosis in human immunodeficiency virus and hepatitis C virus coinfecting patients. Impact of protease inhibitor therapy. *Hepatology* 2001; 34: 283-287
- Cribier B, Rey D, Schmitt C et al: High hepatitis C viremia and impaired antibody response in patients coinfecting with HIV. *AIDS* 1995; 9: 1131-1136
- Danta M, Brown D, Bhagani S, et al. and Acute HCV (HAAC) group. Recent epidemic of acute hepatitis C virus in HIV-positive men who have sex with men linked to high-risk sexual behaviours. *AIDS.* 2007 May 11;21:983-91.
- Darby SC, Ewart DW, Giangrande PL, et al. Mortality from liver cancer and liver disease in haemophilic men and boys in UK given blood products contaminated with hepatitis C. UK Haemophilia Centre Directors' Organisation. *Lancet* 1997; 350(9089): 1425-1431
- Eyster ME, Diamondstone LS, Lien JM et al: Natural history of hepatitis C virus infection in multitransfused hemophiliacs: effect of coinfection with human immune deficiency virus – a multicenter hemophilic cohort study. *J Acquir Immune Def Syndr* 1993; 6: 602-610
- Eyster ME, Fried MW, Di Bisceglie AM, Goedert JJ: Increasing hepatitis C virus RNA levels in hemophiliacs: relationship to human immunodeficiency virus infection and liver disease. *Blood* 1994; 84: 1020-1023
- Fialaire P, Payan C, Vitour D et al: Sustained disappearance of hepatitis C viremia in patients receiving protease inhibitor therapy for human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis* 1999; 180: 574-575

- Gotz HM, van Doormun G, Niesters HG et al: A cluster with acute hepatitis C virus infection among men who have sex with men – results from contact tracing and public health implications. *AIDS* 2005; 19: 969-974
- Greub G, Ledergerber B, Battegay M et al: Clinical progression, survival and immune recovery during antiretroviral therapy in patients with HIV-1 and hepatitis C virus coinfection. *Lancet* 2003; 356: 1800-1805
- Kaufmann GR, Perrin L, Pantaleo G, et al. CD4 T-lymphocyte recovery in individuals with advanced HIV-1 infection receiving potent antiretroviral therapy for 4 years: the Swiss HIV Cohort Study. *Arch Intern Med* 2003; 163(18): 2187-2195
- Mauss S, Valenti W, DePamphilis J, et al. Risk factors for hepatic decompensation in patients with HIV/HCV coinfection and liver cirrhosis during interferon-based therapy. *AIDS*. 2004;18:F21-25.
- Nunez M, Miralles C, Berdun MA et al for the PRESCO study group: Role of weight-based ribavirin dosing and extended duration of therapy in chronic hepatitis C in HIV-infected patients: The PRESCO trial. *AIDS Res Hum Retrovir* 2007, 23: 972-982
- Opravil M, Sasadeusz J, Cooper DA et al: Effect of baseline CD4 cell count on the efficacy and safety of peg-interferon- α 2a (40 kd) + ribavirin in patients with HIV-HCV coinfection. *J Acquir Immune Def Syndr* 2008; 47: 36-49
- Pineda JA, García-García JA, Aguilar-Guisado M, et al. Grupo para el Estudio de las Hepatitis Víricas de la Sociedad Andaluza de Enfermedades Infecciosas (SAEI). Clinical progression of hepatitis C virus-related chronic liver disease in human immunodeficiency virus-infected patients undergoing highly active antiretroviral therapy. *Hepatology*. 2007;46:622-30.
- Qian HZ, Vermund SH, Kaslow RA, et al. Co-infection with HIV and hepatitis C virus in former plasma/blood donors: challenge for patient care in rural China. *AIDS* 2006; 20(10): 1429-1435
- Qurishi N, Kreuzberg C, Lüchters G et al: Effect of antiretroviral therapy on liver-related mortality in patients with HIV and hepatitis C coinfection. *Lancet* 2003; 362: 1708-1713
- Pol S, Thiers V, Nousbaum J, et al. Changing distribution of HCV genotypes in Europe in the last decades. *J Hepatol* 1994; 21: S13
- Perez-Olmeda M, Rios P, Nunez M, Garcia-Samaniego J, Romero M, Soriano V. Virological characteristics of hepatitis C virus infection in HIV-infected individuals with chronic hepatitis C: implications for treatment. *AIDS* 2002; 16(3): 493-495
- Ragni MV, Belle SH, Im K, et al. Survival of human immunodeficiency virus-infected liver transplant recipients. *J Infect Dis*. 2003;188:1412-20.
- Rockstroh JK, Spengler U, Sudhop T et al: Immunosuppression may lead to progression of hepatitis C virus associated liver disease in hemophiliacs coinfecting with HIV. *Am J Gastroenterol* 1996; 91: 2563-2568
- Rockstroh JK, Theisen A, Kaiser R et al: Antiretroviral triple therapy decreases the HIV viral load and does not alter hepatitis C virus serum levels in HIV/HCV-coinfecting hemophiliacs. *AIDS* 1998; 12: 829-830
- Rockstroh JK, Spengler U: HIV and HCV coinfection. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 437-444
- Rockstroh JK, Mocroft A, Soriano V et al: Influence of hepatitis C virus infection on HIV-1 disease progression and response to highly antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2005; 192: 992-1002
- Rockstroh JK, Bhagani S, Benhamou Y et al: European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of chronic hepatitis B and C coinfection in HIV-infected adults. *HIV Med* 2008; 9: 82-88
- Soto B, Sanchez-Quijano A, Rodrigo L, et al. Human immunodeficiency virus infection modifies the natural history of chronic parenterally-acquired hepatitis C with an unusually rapid progression to cirrhosis. *J Hepatol* 1997; 26(1): 1-5

- Sulkowski NS, Thomas DL, Chaisson RE, Moore D: Hepatotoxicity associated with antiretroviral in adults infected with human immunodeficiency virus and the role of hepatitis C or B virus infection. *JAMA* 2000; 283: 74-80
- Sulkowski MS, Moore RD, Mehta SH, et al. Hepatitis C and progression of HIV disease. *JAMA*. 2002;288:199-206.
- Torriani FJ, Rodriguez-Torres M, Rockstroh JK et al: peg-interferon- α 2a + ribavirin for chronic hepatitis C virus infection in HIV-infected patients. *New Engl J Med* 2004; 358: 438-450
- Vogel M, Voigt E, Michaelis HC, et al.: Management of drug-to-drug interactions between cyclosporin A and the protease inhibitor saquinavir/ritonavir in liver transplanted HIV-infected patients. *Liver Transplant* 2004;10: 939-944
- Weinbaum CM, Sabin KM, Santibanez SS. Hepatitis B, hepatitis C, and HIV in correctional populations: a review of epidemiology and prevention. *AIDS* 2005; 19 Suppl 3: S41-46
- Zanetti AR, Tanzi E, Paccagnini S et al: Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. Lombard study group on vertical HCV transmission. *Lancet* 1995; 345: 289-291

Capitolul 19: Managementul coinfectiei VHB-VHC

Carolynne Schwarze-Zander and Jürgen Kurt Rockstroh

Epidemiologia coinfectiei VHC - VHB

Virusurile hepatitei B și C sunt cele mai frecvente cauze ale bolilor cronice hepatice. Datorită căilor comune de transmitere, coinfectia cu VHC și VHB este prezentă în teritoriile endemice pentru VHB și în cele în care există risc crescut de transmitere parenterală a infecțiilor, de exemplu, la persoanele care folosesc droguri injectabile, (Pallas 1999), la pacienții cu hemodializă (Reddy 2005), la pacienții cu transplant de organ (Aroldi 2005) și la cei HIV pozitivi (Zhou 2007). Numărul exact al pacienților coinfectați VHC și VHB nu este cunoscut din cauza lipsei studiilor realizate pe un coortă populațională extinsă. Infecția dublă VHB și VHC variază între 9% și 30%, în funcție de regiunea geografică (Zarski 1998; Liaw 1995). Numărul real al persoanelor dublu infectate VHB/VHC este foarte probabil subestimat, datorită existenței infecțiilor oculte VHB (pacienții cu antigenul de suprafață HBs negativ [AgHBs], dar cu încărcătura virală detectabilă) la pacienții cu hepatită cronică C (Cacciola 1999).

Screening-ul persoanelor coinfectate VHB/VHC

Persoanele care prezintă un episod de hepatită acută trebuie testate pentru toate etiologiile virale, inclusiv pentru VHB și VHC (vezi capitolul 8 din testele de diagnostic în cazul hepatitei B acută sau cronică și capitolul 12 din hepatita C). Există pacienți care sunt infectați simultan cu amândouă virusurile și sunt diagnosticați cu hepatită acută. De asemenea, s-a descris fie suprainfecția cu VHB la pacienții cu infecție cronică cu VHC, fie suprainfecția cu VHC la pacienții cu infecție cronică cu VHB (Liaw 2004; Liaw 2000; Liaw 2002). Persoanele diagnosticate cu hepatită cronică B sau hepatită cronică C și care au factori comportamentali de risc pentru infectarea cu un alt virus, de exemplu cei care folosesc droguri intravenoase, trebuie testate pentru suprainfecție dacă apare tabloul clinic de hepatită acută. În plus la pacienții cu hepatită C cronică trebuie exclusă infecția ocultă cu VHB prin testarea prezentei ADN VHB, chiar în absența AgHBs.

Interacțiunile virale între VHB și VHC

Pacienții coinfectați cu VHB și cu VHC pot avea un spectru larg de profiluri virusologice. Infecția cu VHC poate inhiba replicarea virală a VHB și s-a demonstrat că la pacienții coinfectați cu VHB și cu VHC există o încărcătură virală mai mică, o scădere a activității ADN polimerazei VHB și o scădere a exprimării AgHBs și a AgHB core hepatic (Chu 1998). În plus, pacienții cu hepatită cronică B care se suprainfectează cu VHC se poate produce seroconversia în sistemul HBs (Liaw 1994; Liaw 1991). Există autori care au raportat inhibarea replicării VHC în cursul suprainfecției cu VHB (Sato 1994). În mod special, la

persoanele coinfectate cu aceste virusuri replicarea ADN VHB a fost corelata cu scaderea nivelului incarcaturii virale a VHC (Zarski 1998). Pacientii coinfectati au incarcaturi virale mai scazute pentru ambele virusuri comparativ cu cei monoinfec-tati, sugerand posibilitatea supresiei simultane a acestor virusuri (Jardi 2001). Fie VHB, fie VHC pot detine rolul dominant si se pot inhiba unul pe altul simultan sau isi exercita dominanta in mod alternativ (Liaw 1995). Ambele virusuri pot deter-mina seroconversia celuilalt. Cronologia infectiei poate fi importanta in stabilirea virusului dominant, desi virusul hepatitic B are rol important in suprimarea repli-carii VHC (Liaw 2001).

Manifestari clinice ale infectiei cu VHB si cu VHC

Diferite scenarii clinice au fost descrise la pacientii coinfectati cu VHB si VHC de exemplu, prezenta hepatitei acute cu ambele virusuri (Alberti 1995), aparitia hepatitei B oculte la pacientii cu hepatita cronica C (Sagnelli 2001), si suprainfectia cu unul dintre virusuri la persoanele cu hepatita cronica cauzata de celalalt virus (Figure 1).

Hepatita acuta produsa de infectia simultana cu VHB si VHC

Infectia simultana cu VHC si VHB este rar intalnita, dar interactiunea dintre aceste virusuri determina o forma clinica asemanatoare infectiei cronice. In cazul infectiei acute cu VHB si VHC se observa o intarziere in aparitia si in persistenta AgHBs comparativ cu cei care prezinta infectie acuta determinata doar de VHB (Mimms 1993). O crestere bifazica a ALT-ului a fost observata la anumiti pacienti (Alberti 1995).

Suprainfectia cu VHC

Suprainfectia cu VHC este frecventa in zonele endemice pentru VHB, de exemplu in tarile asiatice (Liaw 2002; Liaw 2004), si poate determina supresia replicarii virale a VHB si seroconversia in sistemul HBs. Cercetarile desfasurate pe o perioada lunga de timp descriu o rata mai crescuta a cirozei hepatice si a carcinomului hepatocelular. Instalarea hepatitei fulminante, dupa infectarea cu VHC este mai frecventa la cei care prezinta deja VHB comparativ cu cei la care VHB este absent (23% vs. 3%) (Chu 1999; Chu 1994).

Suprainfectia cu VHB

Suprainfectia cu VHB este putin frecventa la pacientii cu hepatita cronica C, iar datele disponibile sunt limitate. Intr-un raport s-a indicat un pacient care a devenit seronegativ pentru ARN VHC dupa suprainfectia cu VHB, sugerandu-se inhibarea replicarii virale a VHC de catre VHB (Liaw 2000; Wietzke 1999). Alte studii sugereaza ca suprainfectia cu VHB deterioreaza functia hepatica la pacientii cu hepatita cronica C si creste riscul dezvoltarii hepatitei fulminante (Sagnelli 2002).

Infectia oculta cu VHB la persoanele cu VHC

La mai mult de 50% dintre pacientii cu hepatita cronica C, a fost identificata infectia oculta cu VHB. S-a descris o relatie intre infectia oculta cu VHB si rezultatele tratamentului pentru hepatita C (Zignego 1997; Fukuda 2001; Sagnelli 2001). Infectia cu VHC asociata o cu hepatita B oculta determina niveluri mai ridicate ale ALT-ului, un index al activitatii histologice mai mare si boala hepatica progresiva spre ciroza (Fukuda 1999; Cacciola1999; Sagnelli 2001).

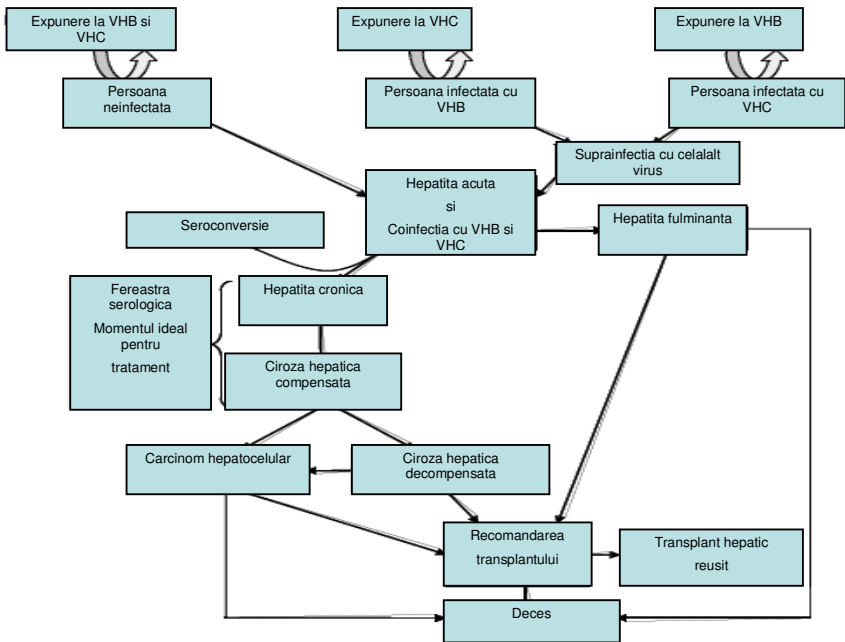


Figura 1. Scenarii clinice ale coinfectiei HBV/HCV (modificat dupa Crockett & Keeffe 2005).

Hepatita cronica la persoanele coinfectate cu VHB si VHC

Diferite profile imunologice au fost descrise la pacientii cu hepatita cronica coinfectati cu VHB si VHC (Tabelul 1).

	Infectie HBV si HCV activa	Infectie oculta VHB la pacientii cu hepatita cronica activa cu VHC	Infectie activa cu VHC la persoanele purtatoare de AgHBs
AgHBs	+	-	+
ADN VHB	+	+	-
Anti-VHC	+	+	+
ARN VHC	+	+	+

Tabelul 1. Profiluri imunologice in cazul pacientilor cu hepatita cronica coinfectati VHC/VHB

Un risc mai crescut in dezvoltarea cirozei hepatice si in decompensare hepatica exista la pacientii cu ADN VHB si ARN VHC detectabil, carora trebuie sa li se recomande tratament. Hepatita virala C activa (ARN VHC +) este identica la persoanele coinfectate, purtatoare de AgHBs (AgHBs+, ADN VHB-) si la cele monoinfectate doar cu VHC. Alta posibilitate descrisa este hepatita virala B la pacientii cu hepatita virala C inactiva sau vindecata (HBV-DNA +/HCV-RNA-/anti-HCV+). Acest ultim profil este putin frecvent si poate indica supresia VHC de catre VHB.

Ciroza hepatica

La pacientii coinfectati cu VHB si VHC s-au descris rate crescute ale incidentei cirozei hepatice. Comparativ cu pacientii monoinfectati cu VHB, rate crescute ale cirozei (44% vs. 21%) si ale decompensarii bolii hepatice (24% vs. 6%) au fost prezentate in cazul pacientilor coinfectati cu VHC si VHB (Fong 1991). Similar si la pacientii coinfectati cu VHB si VHC au fost descrise rate crescute ale cirozei (95% vs. 49%) si mai ales ale bolii hepatice decompensate (Child-Pugh class C 37% vs. 0%) (Mohamed Ael 1997).

Carcinomul hepatocelular

In multe studii coinfectia cu VHB si VHC s-a demonstrat a fi asociata cu un risc crescut al dezvoltarii carcinomului hepatocelular (Kaklamani 1991; Mohamed Ael 1997).

Intr-un studiu clinic longitudinal incidenta CHC a fost de 6,4 per persoana per an la cei coinfectati cu VHB si VHC comparativ cu 2.0 la cei cu VHB si 3.7 la cei cu VHC. Riscul cumulativ al dezvoltarii CHC in 10 ani a fost de 45% la cei coinfectati cu VHC si VHB, de 16% la cei cu VHB si de 28% la cei cu VHC (Chiaramonte

1999). Pacientii coinfectati cu VHC si VHB, la fiecare 6 luni, vor fi testati pentru CHC prin determinarea alfa fetoproteinei serice si efectuarea ecografiei hepatice.

Tratamentul persoanelor coinfectate VHC/VHB

Nu exista in prezent un ghid terapeutic pentru persoanele coinfectate cu VHB si VHC. Ghidurile terapeutice recomandate pacientilor monoinfectati ar trebui aplicate si in cazul coinfectilor. La persoanele coinfectate care prezinta hepatita cronica activa sau ciroza tratamentul trebuie initiat inaintea decompensarii hepatice. Datorita profilurilor imunologice numeroase, la pacientii coinfectati cu VHB si VHC este important de stabilit virusul dominant inaintea inceperii tratamentului. Studii despre conduita terapeutica la pacienti coinfectati VHB - VHC au fost revizuite in (Crockett 2005) si (Chu 2008), la acestia tratamentul ar trebui initiat in momentul indeplinirii criteriilor de includere in schema terapeutica standard din ghidurile de tratament pentru VHC si VHB (vezi capitolul 9 de terapie a hepatitei B si capitolul 13 de terapie al hepatitei C).

La pacientii coinfectati la care predominant este VHC, terapia cu interferon si ribavirina a fost bine studiata si s-a dovedit eficienta. Interferonul pegylat este tratamentul standard in cazul persoanelor monoinfectate cu VHC si in studiile viitoare va fi recomandat si persoanelor coinfectate cu VHB si VHC. Un studiu recent prospectiv, multicentric alcatuit din 19 pacienti coinfectati a determinat ca terapia combinata cu INF-PEG alfa 2b si ribavirina induce raspuns virusologic sustinut in cazul VHC la un procent de 93% (88% dintre persoanele cu VHC genotipul 1 si 100% la cele cu genotipul 2 sau 3) dintre persoanele coinfectate (Potthoff 2008).

La pacientii la care infectia cu VHB este dominanta, administrarea interferonului asociat sau nu cu un inhibitor de polimeraza virala ramane o posibilitate. In prezent date disponibile avem doar in cazul lamivudinei. Exista o experienta limitata in cazul noilor agenti terapeutici anti-VHB. Studii viitoare sunt necesare pentru stabilirea profilului de siguranta si eficienta terapiei combinate cu interferon pegylat, ribavirina si noii analogi nucleozidici (nucleotidici). Se recomanda prudenta inainte de inceperea tratamentului datorita inhibitei prin tratament a virusului dominant care astfel si-ar exercita capacitatea supresiei naturale asupra celuilalt virus ceea ce poate genera o deteriorare a bolii hepatice (Yalcin 2003).

Concluzie

Coinfectia VHB/VHC este frecventa mai ales in acele arii cu prevalenta crescuta a infectiei VHB. Coinfectia VHB/VHC este o provocare pentru clinicieni din cauza interactiunilor multiple dintre cele doua virusuri si datorita posibilitatii dezvoltarii bolilor hepatice severe. Pana in prezent nu a fost stabilit un tratament standard. Tratamentul se bazeaza pe identificarea virusului dominant. Interferonul standard, ribavirina si lamivudina sunt agentii terapeutici cei mai studiati. Se recomanda trialuri clinice randomizate pentru a stabili rolul terapiei combinate cu interferon pegylat, ribavirina si analogi nucleotidici (nucleozidici). Precautie se impune in tratarea persoanelor coinfectate VHB/VHC deoarece pot apare recaderi in cazul virusului netratat.

Referinte

- Alberti A, Pontisso P, Chemello L, et al. The interaction between hepatitis B virus and hepatitis C virus in acute and chronic liver disease. *J Hepatol* 1995;22(1 Suppl):38.
- Aroldi A, Lampertico P, Montagnino G, et al. Natural history of hepatitis B and C in renal allograft recipients. *Transplantation* 2005;79(9):1132.
- Cacciola I, Pollicino T, Squadrito G, et al. Occult hepatitis B virus infection in patients with chronic hepatitis C liver disease. *N Engl J Med* 1999;341(1):22.
- Chiaromonte M, Stroffolini T, Vian A, et al. Rate of incidence of hepatocellular carcinoma in patients with compensated viral cirrhosis. *Cancer* 1999;85(10):2132.
- Chu CJ, Lee SD. Hepatitis B virus/hepatitis C virus coinfection: epidemiology, clinical features, viral interactions and treatment. *J Gastroenterol Hepatol* 2008;23(4):512.
- Chu CM, Sheen IS, Liaw YF. The role of hepatitis C virus in fulminant viral hepatitis in an area with endemic hepatitis A and B. *Gastroenterology* 1994;107(1):189.
- Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Low-level viremia and intracellular expression of hepatitis B surface antigen (HBsAg) in HBsAg carriers with concurrent hepatitis C virus infection. *J Clin Microbiol* 1998;36(7):2084.
- Crockett SD, Keeffe EB. Natural history and treatment of hepatitis B virus and hepatitis C virus coinfection. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2005;4:13.
- Fong TL, Di Bisceglie AM, Waggoner JG, et al. The significance of antibody to hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 1991;14(1):64.
- Jardi R, Rodríguez F, Buti M, et al. Role of hepatitis B, C, and D viruses in dual and triple infection: influence of viral genotypes and hepatitis B precore and basal core promoter mutations on viral replicative interference. *Hepatology* 2001;34(2):404.
- Liaw YF. Role of hepatitis C virus in dual and triple hepatitis virus infection. *Hepatology* 1995;22(4 Pt 1):1101.
- Liaw YF. Concurrent hepatitis B and C virus infection: Is hepatitis C virus stronger? *J Gastroenterol Hepatol* 2001;16(6):597.
- Liaw YF. Hepatitis C virus superinfection in patients with chronic hepatitis B virus infection. *J Gastroenterol* 2002;37 Suppl 13:65.
- Liaw YF, Chen YC, Sheen IS, et al. Impact of acute hepatitis C virus superinfection in patients with chronic hepatitis B virus infection. *Gastroenterology* 2004;126(4):1024.
- Liaw YF, Lin SM, Sheen IS, et al. Acute hepatitis C virus superinfection followed by spontaneous HBeAg seroconversion and HBsAg elimination. *Infection* 1991;19(4):250.
- Liaw YF, Yeh CT, Tsai SL. Impact of acute hepatitis B virus superinfection on chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol* 2000;95(10):2978.
- Mimms LT, Mosley JW, Hollinger FB, et al. Effect of concurrent acute infection with hepatitis C virus on acute hepatitis B virus infection. *Bmj* 1993;307(6912):1095.
- Mohamed Ael S, al Karawi MA, Mesa GA. Dual infection with hepatitis C and B viruses: clinical and histological study in Saudi patients. *Hepatogastroenterology* 1997;44(17):1404.
- Pallas JR, Farinas-Alvarez C, Prieto D, et al. Coinfections by HIV, hepatitis B and hepatitis C in imprisoned injecting drug users. *Eur J Epidemiol* 1999;15(8):699.
- Potthoff A, Wedemeyer H, Boecher WO, et al. The HEP-NET B/C co-infection trial: A prospective multicenter study to investigate the efficacy of pegylated interferon-alpha2b and ribavirin in patients with HBV/HCV co-infection. *J Hepatol* 2008.
- Reddy GA, Dakshinamurthy KV, Neelaprasad P, et al. Prevalence of HBV and HCV dual infection in patients on haemodialysis. *Indian J Med Microbiol* 2005;23(1):41.
- Sagnelli E, Coppola N, Messina V, et al. HBV superinfection in hepatitis C virus chronic carriers, viral interaction, and clinical course. *Hepatology* 2002;36(5):1285.

- Sagnelli E, Coppola N, Scolastico C, et al. HCV genotype and "silent" HBV coinfection: two main risk factors for a more severe liver disease. *J Med Virol* 2001;64(3):350.
- Sato S, Fujiyama S, Tanaka M, et al. Coinfection of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B infection. *J Hepatol* 1994;21(2):159.
- Wietzke P, Schott P, Braun F, et al. Clearance of HCV RNA in a chronic hepatitis C virus-infected patient during acute hepatitis B virus superinfection. *Liver* 1999;19(4):348.
- Yalcin K, Degertekin H, Yildiz F, et al. A severe hepatitis flare in an HBV-HCV coinfecting patient during combination therapy with alpha-interferon and ribavirin. *J Gastroenterol* 2003;38(8):796.
- Zarski JP, Bohn B, Bastie A, et al. Characteristics of patients with dual infection by hepatitis B and C viruses. *J Hepatol* 1998;28(1):27.
- Zhou J, Dore GJ, Zhang F, et al. Hepatitis B and C virus coinfection in The TREAT Asia HIV Observational Database. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22(9):1510.

Partea 5

Fibroza hepatica

Capitolul 20: Evaluarea fibrozei hepatice in hepatita cronica virala

Frank Grünhage & Frank Lammert

Introducere

Metodele non-invazive pentru evaluarea fibrozei hepatice sunt din ce in ce mai frecvent utilizate, biopsia hepatica fiind grevata de o serie de riscuri si un grad scazut de complianta al pacientului. In ciuda unor progrese recente in ceea ce priveste predictia fibrozei hepatice prin markeri surogat si dezvoltarea unor noi tehnici, precum elastografia, histologia hepatica ramane inca standardul de aur pentru evaluarea fibrozei (Goodman 2007). Majoritatea expertilor considera ca tehnicile non-invazive nu vor inlocui biopsia hepatica complet, dar vor ajuta la reducerea numarului de biopsii solicitate (Leroy 2007; Pinzani 2005; Sebastiani 2006).

Testele non-invazive ar trebui sa distinga intre fibroza nesemnificativa (stadiile F0-F1) si fibroza semnificativa (stadiile \geq F2), deoarece la pacientii cu fibroza minora sau absenta initierea tratamentului antiviral poate fi intarziata, in timp ce la pacientii cu fibroza semnificativa tratamentul este recomandat. Oricum, markerii non-invazivi ar trebui sa prezica cu exactitate ciroza hepatica, deoarece acesti pacienti pot avea nevoie de supraveghere in timpul tratamentului antiviral si de ajustari speciale ale dozelor de antivirale.

Mecanismele fibrozei hepatice in hepatita cronica virala

In hepatita virala cronica, fibroza hepatica se caracterizeaza prin pierderea hepatocitelor, distrugerea (micro)arhitecturii hepatice, proliferarea (mio)fibroblastilor hepatici, si depunerea in exces a componentelor matrixului extracelular (Friedman 2008). Stadiul final al fibrozei hepatice (ciroza) se poate complica cu: detoxifiere insuficienta, carcinom hepatocelular, hipertensiune portala, insuficienta renala si pulmonara, si se asociaza cu un exces de mortalitate. In hepatita cronica virala, fibroza se dezvolta ca o consecinta a raspunsului imun al gazdei, ce activeaza mecanismele de aparare antivirala, avand ca scop clearance-ul hepatocitelor infectate. Mecanismele care stau la baza fibrogenezei in hepatitele virale, ca de exemplu hepatita virala cu VHB sau hepatita virala cu VHC sunt complexe (Friedman 2007).

O caracteristica esentiala a fibrozei hepatice este activarea si proliferarea celulelor hepatice stelate. Celulele hepatice stelate stocheaza vitamina A si apartin spatiului subendotelial Disse. Lezarea cronica a ficatului determina activarea acestor celule, care devin contractile, produc componente ale matrixului extracelular si secreta citokine proinflamatorii si chemokine ca factorul de crestere si transformare beta (TGF- β). Se crede ca activarea celulelor hepatice stelate reprezinta evenimentul cheie in fibrogeneza hepatica (Friedman 2008). Activarea celulelor hepatice stelate

depinde de semnalizarea celulelor Kupffer, celulelor endoteliale, hepatocitelor si trombocitelor. Depunerea matrixului extracelular este constant in opozitie cu degradarea acestor proteine. In fibroza hepatica progresiva, aceasta balanta inclina in favoarea depunerii matrixului extracelular in exces. Metaloproteineazele matrixului si factorii lor reglatori (inhibitorii tisulari ai metaloproteinazelor, TIMPs) controleaza depunerea si degradarea matrixului. In fibrogeneza hepatica, TIMP-1 este de asemenea produs de celulele hepatice stelate activate.

Histologia hepatica este considerata standardul de aur in evaluarea si progresia fibrozei. Totusi, dezavantajele acestei metode au determinat testarea unor strategii non-invazive, bazate fie pe evaluarea unuia sau mai multor markeri serici surogat, fie pe modificari ale tehnicilor imagistice.

Biopsia hepatica – standardul de aur pentru stadializarea fibrozei hepatice

In majoritatea centrelor de hepatologie din lume, biopsia hepatica se realizeaza ca o punctie "oarba" sau ghidata cu ultrasunete, fie ca o procedura intraspitaliceasca sau in ambulatoriu. Punctia hepatica este considerata o procedura relativ sigura, cu o rata a complicatiilor ce variaza de la 0.75% pana la 13.6% (Myers 2008; Piccinino 1986; van der Poorten 2006). Cele mai frecvente complicatii sunt durerea sau sangerarea minora. Dupa suplinirea eficienta cu factori de coagulare, biopsia hepatica percutana este de asemenea posibila la pacienti cu tulburari de sangerare mostenite, fara a se observa o crestere a ratei complicatiilor (DiMichele 2003; Schwarz 2008). Ratele mortalitatii legate de procedura variaza de la 0.001 la 0.003% (Piccinino 1986). De notat, rate in exces cu sangerari severe si deces legat de biopsie au fost raportate dupa biopsie percutana la persoane cu fibroza avansata, ciroza sau tumora hepatica (Terjung 2003). Astfel, biopsiile hepatice la acesti pacienti ar trebui intotdeauna sa se realizeze ca proceduri intraspitalicesti, deoarece > 90% din complicatii sunt detectate in primele 24 de ore (Piccinino 1986).

Punctia transjugulara a ficatului prin canularea unei vene hepatice este o alternativa, care se poate realiza de asemenea la pacientii cu deficiente severe de coagulare. Aceasta tehnica este o procedura ce necesita resurse tehnologice importante si prezinta de asemenea un risc de hemoragie intrahepatica sau perforare a capsulei cu sangerare intraabdominala. Rata complicatiilor este mai mica comparativ cu biopsia percutana si variaza de la 2.5% (Mammen 2008) la 6.5%, cu o rata a mortalitatii de pana la 0.09% in grupurile cu risc inalt (Kalambokis 2007). Totusi, calitatea probelor obtinute prin biopsia transjugulara poate fi mai scazuta datorita fragmentarii mari a probelor si a numarului redus de campuri portale in biopsiile transjugulare (Cholongitas 2006).

Laparoscopia si mini-laparoscopia sunt proceduri si mai invazive pentru obtinerea biopsiei hepatice. Un trial randomizat recent a indicat o rata de detectie a cirozei mai inalta, precum si o rata mai redusa a complicatiilor pentru laparoscopie comparativ cu biopsia percutanata (Denzer 2007). Nu sunt disponibile date in ceea ce priveste detectia stadiilor mai putin avansate de fibroza. Astfel, aceasta procedura este recomandata doar in anumite cazuri in care rezultatele pot avea un impact asupra managementului clinic al pacientului (Helmreich-Becker 2003).

Calitatea si exactitatea stadializarii fibrozei prin evaluarea histopatologica a probelor de biopsie hepatica depind de dimensiunea probei si de numarul de campuri portale. Biopsia ar trebui sa aiba 20-25 mm lungime si ar trebui sa permita vizualizarea a mai mult de 11 tracturi portale (Cholongitas 2006; Rousselet 2005; Bedossa 2003). Totusi, aceste cerinte pot fi greu de obtinut in practica uzuala; si chiar daca se obtine o biopsie corespunzatoare ca dimensiuni, proba reflecta doar in jur de 1/50.000 din intregul ficat. Astfel, biopsiile hepatice sunt predispuse la erori de prelevare a probelor si pot genera dificultati – asemanator markerilor non-invazivi – in distingerea stadiilor adiacente ale fibrozei (i.e., F1 vs. F2 or F2 vs. F3). Studii recente au raportat pana la un stadiu diferenta intre probe ce provin din lobul drept si lobul stang in pana la 38% din biopsii (Regev 2002; Siddique 2003). Discrepante de mai mult de un stadiu sunt rare (Regev 2002; Siddique 2003; Skripenova 2007). Variabilitatea intra- si inter-observator poate sa nu fie afectata de dimensiunile probei, dar poate conduce la discrepante in pana la 20% din cazuri, chiar daca o diferenta de un stadiu intre estimari este acceptata (Gronbaek 2002; Petz 2003). Stadializarea automata standardizata prin analiza imaginii poate imbunatati variabilitatea inter-observator (Hui 2003).

Toate sistemele de stadializare a fibrozei hepatice se bazeaza pe definirea stadiilor absolute ale fibrozei hepatice, caracterizate prin cresterea depunerii de colagen si distructia progresiva a arhitecturii hepatice, variind de la absenta fibrozei la ciroza, cu un numar variabil de stadii intermediare (Tabelul 1). Utilizarea clasificarilor scade variabilitatea inter-observator, dar poate duce de asemenea la o pierdere a informatiei ce poate fi redada de un sistem de stadializare mai detaliat (Standish 2006).

In timp ce scorul METAVIR este considerat cel mai bun pentru evaluarea fibrozei produsa de VHC, exista o mare variabilitate in utilizarea altor sisteme de stadializare la pacientii cu hepatita cronica virala. In Germania, ghidurile curente recomanda sistemul de stadializare definit de Desmet & Scheuer (Tabelul 1) (The French METAVIR Cooperative Study Group 1994; Knodell 1981; Ishak 1995; Desmet 1994; Schirmacher 2004).

Sistemul de stadializare	Stadiile fibrozei	Observatii
Scorul METAVIR	F0, F1, F2, F3, F4	Cel mai bine evaluat in cazul fibrozei VHC (The French METAVIR Cooperative Study Group 1994)
Scorul Knodell	F0, F1, F3, F4	Fara stadiu intermediar (Knodell 1981)
Desmet & Scheuer	Analog cu METAVIR	Recomandat de ghidul German pentru evaluarea fibrozei hepatice (Desmet 1994; Schirmacher 2004)
Batts & Ludwig	Similar cu METAVIR	(Batts 1995)
Scorul Ishak	F0, F1, F2, F3, F4, F5, F6	(Ishak 1995)

Tabelul 1. Cel mai frecvent utilizate scoruri de stadializare a fibrozei hepatice

Markerii surogat ai fibrozei hepatice in hepatita cronica virala

Fibroza hepatica se dezvolta mai degraba ca un process continuu, decat intr-o forma treptata. Astfel, asa numiti markeri surogat, care sunt de asemenea variabile continue, pot asigura un sistem de clasificare mai precis. Markerii surogat pot fi clasificati in doua categorii: directi si indirecti. Markerii directi reflecta schimbarile in continutul proteinelor matrixului extracelular (ca de exemplu colagenul) la nivelul ficatului. Markerii indirecti reflecta alterari in functia hepatica, cresterea hipertensiunii portale cu extindere splenica ulterioara, si/sau gradul inflamatiei hepatice care se poate corela cu stadiul fibrozei hepatice (Tabelul 2, vezi <http://hepatologytextbook.com/link.php?id=7>). Markerii directi si indirecti pot fi utilizati singuri sau – mai frecvent - in combinatie ("scoruri mixte"). Calcularea unui asemenea scor poate fi simpla sau se poate baza pe formule de calcul complicate (e.g., Fibrotest / Fibrosure) (Tabelul 2). Majoritatea studiilor asupra markerilor non-invazivi au fost realizate pe pacienti infectati cu VHC, in timp ce studiile pe cohorte de pacienti coinfectati sau infectati cu VHB sunt rare (Pinzani 2008). Obiectivele principale ale studiilor ce au evaluat markeri surogat variaza de la diferentierea intre absenta fibrozei si ciroza, la determinarea stadiilor fibrozei. Totusi, pentru managementul clinic al pacientului cu hepatita virala cronica sunt necesare ambele obiective: in timp ce primul este util pentru identificarea pacientilor ce necesita tratament urgent, cel din urma poate diferentia pacientii cu indicatie pentru tratament antiviral datorita fibrozei semnificative de cei cu fibroza minora sau absenta, la care tratamentul poate fi temporizat.

Din intreaga varietate de markeri surogat doar o parte sunt utilizati in practica. Scorul APRI a fost studiat pe larg atat la pacienti infectati cu VHC si VHB, cat si la pacienti coinfectati (Cacoub 2008; Vallet-Pichard 2008; Wai 2006; Lebesztein 2005). O meta-analiza comprehensiva recenta a performantelor testului APRI a aratat ca valoarea sa majora consta in excluderea fibrozei semnificative, definita ca F2-F4, sau cirozei cu cut-off-uri de 0.5 si 1.0. Totusi, autorii au ajuns la concluzia ca utilizand acest marker singur, doar o treime din toate biopsiile hepatice sunt evitate. Important de retinut, performanta testului variaza cu dimensiunea fibrozei avansate la diferite grupuri de pacienti (Shaheen 2007(a); Shaheen 2007(b)). Fibrotestul a obtinut de asemenea o semnificatie clinica. Totusi, acest test nu poate fi accesibil tuturor pacientilor. Meta-analizele recente asupra performantelor predictive ale Fibrotestului arata ca exactitatea detectiei fibrozei avansate sau cirozei este adecvata pentru practica clinica si se sugereaza o valoare a cut-off-ului de 0.6 (Shaheen 2007(b); Poynard 2007). Este de notat ca, exactitatea detectiei stadiilor timpurii ale fibrozei pare sa fie relativ scazuta (Shaheen 2007(b); Poynard 2007) si majoritatea concluziilor pozitive asupra Fibrotestului provin de la autori direct implicati in comercializarea acestui test (Shaheen 2007(b); Poynard 2007).

In concluzie, markerii surogat pot ajuta in luarea unei decizii clinice, dar un singur marker surogat sau scor nu este in prezent capabil sa inlocuiasca biopsia hepatica. Pe de alta parte, s-au facut incercari pentru a combina diferiti markeri surogat si biopsia hepatica in cadrul algoritmurilor pentru decizia clinica, avand ca scop reducerea necesitatii punctiilor hepatice (vezi Tabelul 2, <http://hepatologytextbook.com/link.php?id=7>).

Elastografia tranzitorie

Elastografia tranzitorie (TE) este o tehnica non-invaziva pentru evaluarea fibrozei hepatice, descrisa pentru prima data in literatura medicala in anul 1999 (Sandrin 1999). TE permite cuantificarea fibrozei hepatice prin determinarea vitezei unei unde elastice cu frecventa joasa produsa de o sonda mecanica plasata direct pe tegumentul pacientului. Viteza acestei unde elastice care se propaga in tesutul hepatic depinde de rigiditatea efectiva a ficatului, rigiditate care la randul ei se coreleaza cu gradul fibrozei hepatice. In practica, sonda este plasata intr-un spatiu intercostal intr-o pozitie comparabila cu pozitia utilizata pentru biopsia hepatica standard. In mod frecvent, sunt necesare 10 determinari pentru evaluarea rigiditatii hepatice. De obicei, aceste determinari pot fi realizate in mai putin de 5 minute. In prezent, dispozitivul pentru TE este disponibil exclusiv prin echosense / France (FibroScan[®]). Rigiditatea ficatului este exprimata in kilo-Pascali (kPa). Metoda este rapida, usor de invatat, rezultatele sunt disponibile imediat, poate fi aplicata atat la copii cat si la adulti (de Ledinghen 2007) si procedura poate fi realizata de catre un asistent tehnic, desi prezinta un grad robust de variabilitate intra- si inter-observator (Fraquelli 2007).

Evaluarea rigiditatii hepatice la subiectii fara boala hepatica aparenta a aratat ca rezultatele sunt influentate de gen si indexul de masa corporala (BMI). In general, rigiditatea ficatului este mai mare la barbati decat la femei (5.81 ± 1.54 vs. 5.23 ± 1.59 kPa) (Roulot 2008). Este important de notat ca aplicabilitatea TE este limitata la pacientii relativ slabi (BMI ≤ 28 kg/m²), pacienti fara ascita si pacienti "cooperanti". In plus, evaluarea fibrozei hepatice prin TE este ingreunata la pacientii cu lezare hepatica acuta ca de exemplu hepatitele virale acute sau hepatitele alcoolice sau reactivari ale unei hepatite virale cronice, toate acestea conducand la o supraestimare a fibrozei hepatice (Arena 2008; Coco 2007; Sagir 2008). In contrast cu histologia hepatica, nu exista in prezent date publicate despre variabilitatea rezultatelor TE. Elastografia tranzitorie se coreleaza bine cu alti markeri surrogat ai fibrozei hepatice cum ar fi APRI si FIB-4 (Vidovic, date nepublicate).

La pacientii cu boala hepatica cronica, eligibili pentru TE, rigiditatea hepatica se coreleaza bine cu stadiul fibrozei, indiferent de etiologia bolii. TE a fost evaluata la pacienti cu hepatita virala cronica, PBC, PSC, si NASH. Datorita compliantei bune a pacientilor, aceasta procedura poate fi usor de utilizat pentru a monitoriza progresia sau regresia fibrozei la pacienti aflati sub observatie sau terapie (Yoneda 2007). TE a fost evaluata pentru detectia fibrozei hepatice la pacienti cu hepatita virala acuta si cronica si de asemenea a fost pozitiv evaluata la pacienti coinfectati HIV/VHC si la pacienti cu recurenta VHC dupa transplant hepatic (de Ledinghen 2006; Maida 2007; de Ledinghen 2006; Carrion 2006). In cazul hepatitei virale cronice, nu se cunosc eventualele diferente in ceea ce priveste rezultatele TE intre pacienti infectati cronic cu VHB, VHC si/sau pacienti coinfectati HIV/VHC.

In unele situatii clinice, cum ar fi, la pacienti in varsta sau la cei cu factori de risc pentru terapie, decizia de initiere a tratamentului hepatitei cronice B si C este luata pe baza diagnosticului de fibroza semnificativa. Prezenta gradului F2 de fibroza indica fibroza hepatica semnificativa, ceea ce justifica initierea tratamentului conform ghidurilor de tratament pentru hepatita cronica B, C si pacienti coinfectati

(ex., German Guidelines for the Management of Patients with Chronic Hepatitis C Viral Infection, in presa).

Studii recente ce au comparat TE cu biopsia hepatica, au aratat ca pentru ambele proceduri exista o inalta sensibilitate si specificitate in detectia fibrozei avansate si cirozei. Totusi, performantele TE sunt mai putin exacte in detectia stadiilor fibrozei ≥ 2 comparativ cu stadiile mai avansate de fibroza cu o sensibilitate variind intre 56-67%, avand ca rezultat valori predictive negative moderate. Astfel, cuantificarea fibrozei hepatice prin elastografia tranzitorie singura, poate avea ca rezultat subestimarea fibrozei hepatice la acesti pacienti. Vice versa, daca TE indica fibroza semnificativa atunci biopsia poate sa nu mai fie necesara. Un dezavantaj pentru practica clinica il reprezinta faptul ca diferite studii asupra TE au sugerat valori usor diferite ale cut-off-ului (Tabelul 3). O meta-analiza recenta ce a evaluat performanta predictiva a TE la pacienti cu boala hepatica cronica sugereaza ca valoarea optima a cut-off-ului pentru diagnosticul fibrozei semnificative este 7.65 kPa (Friedrich-Rust 2008). Acest cut-off s-a dovedit a fi optim in special la pacientii cu infectie cronica cu VHC.

In afara de cuantificarea stadiilor fibrozei hepatice, TE mai poate fi utilizata pentru a prezice prezenta hipertensiunii portale si necesitatea evaluarii pacientului pentru prezenta varicelor esofagiene (Rockey 2008). Sunt necesare studii pentru a stabili exactitatea TE pentru cuantificarea stadiilor cirozei hepatice (Foucher 2006).

Alte tehnici imagistice pentru cuantificarea fibrozei hepatice

Diferite tehnici imagistice cum ar fi ultrasunetele conventionale, real-time elastografia, imagistica NMR si CT au fost aplicate pentru evaluarea fibrozei hepatice. Nici una din aceste metode nu a obtinut inca o acceptare clinica completa in ceea ce priveste detectia formelor timpurii ale fibrozei hepatice, fie datorita sensibilitatii si/sau specificitatii reduse, fie datorita costurilor ridicate.

Algoritm pentru decizia terapeutica

Pana in prezent, nici un marker non-invaziv pentru stadializarea fibrozei hepatice nu a reusit sa inlocuiasca histologia hepatica. Aceasta se datoreaza in mare parte faptului ca studii cu obiective clare (de ex. asupra mortalitatii) nu au fost inca realizate si nici nu vor fi disponibile probabil in viitorul apropiat.

Totusi, avantajele acestor teste non-invazive in comparatie cu biopsia hepatica sunt semnificative. De aceea, o strategie frecvent utilizata este combinarea diferitelor teste non-invazive, apeland la biopsia hepatica doar in cazul in care exista dubii. Totusi, algoritmi curenti variaza foarte mult, fiind raportate rate de reducere a biopsiilor hepatice intre 30% si 80% (Leroy 2007; Sebastiani 2007; Sebastiani 2004). Interesant, performanta acestor algoritmi si caracteristicile lor depind de bolile care stau la baza (VHC, VHB sau coinfectii), nefiind disponibil nici un algoritm unitar. Totusi, in Figura 1 este prezentat un concept utilizat in practica.

Studiu	Populatia	Cut off (kPa)				
		F=0	F≥1	F≥2	F≥3	F=4
Castera et al. [59]	VHC N=183	n.d	n.d	7.1	9.5	12.5
				Se: 0.67	Se: 0.73	Se: 0.87
				Sp: 0.95	Sp: 0.91	Sp: 0.91
				PPV: .95	PPV: .87	PPV: .77
				NPV: .48	NPV: .81	NPV: .97
Ziol et al. [60]	VHC N=327	n.d	n.d	8.8	9.6	14.6
				Se: 0.56	Se: 0.86	Se: 0.86
				Sp: 0.91	Sp: 0.85	Sp: 0.96
				PPV: .88	PPV: .71	PPV: .78
				NPV: .56	NPV: .93	NPV: .97
Foucher et al. [61]	VHC / VHB N=711	n.d	n.d	7.2	12.5	17.6
				Se: 0.64	Se: 0.65	Se: 0.77
				Sp: 0.85	Sp: 0.95	Sp: 0.97
				PPV: .90	PPV: .90	PPV: .91
				NPV: .52	NPV: .80	NPV: .92
Ogawa et al. [62]	VHC / VHB N=229	3.5	6.4	9.5	11.4	15.4
				Se: 0.67	Se: 0.67	Se: 0.67
				Sp: 0.95	Sp: 0.95	Sp: 0.95
				PPV: .95	PPV: .95	PPV: .95
				NPV: .48	NPV: .48	NPV: .48
		6.3	6.7	9.1	13.7	26.4
				Se: 0.67	Se: 0.67	Se: 0.67
				Sp: 0.95	Sp: 0.95	Sp: 0.95
				PPV: .95	PPV: .95	PPV: .95
				NPV: .48	NPV: .48	NPV: .48
Arena et AL: [63]	VHC N=150			7.8	10.8	14.8
				Se: 0.83	Se: 0.91	Se: 0.94
				Sp: 0.82	Sp: 0.94	Sp: 0.92
				PPV: .83	PPV: .89	PPV: .73
				NPV: .79	NPV: .95	NPV: .98
De Ledinghen et al. [52]	HIV/VHC N=72	n.d	n.d	4.5	n.d	11.8
				Se: 0.93		Se: 1.0
				Sp: 0.18		Sp: 0.93
				PPV: n.d.		PPV: n.d.
				NPV: n.d.		NPV: n.d.

Tabelul 3. Valorile cut-off-ului pentru elastografia tranzitorie in diferite studii populationale

Se = sensibilitate

Sp = specificitate

PPV = valoare predictiva pozitiva

NPV = valoare predictiva negativa

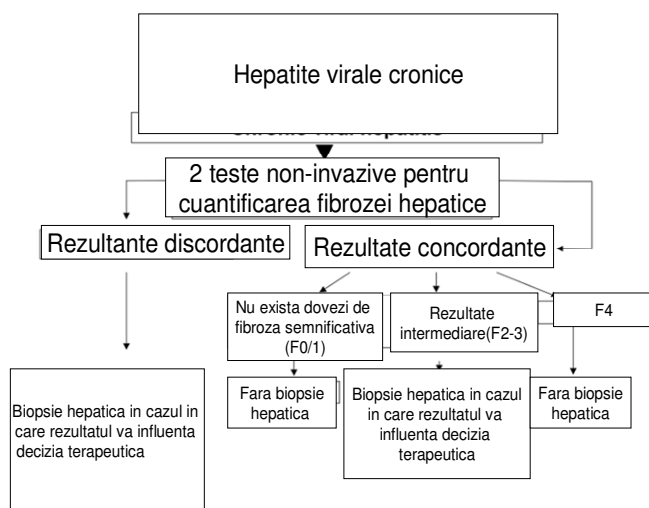


Figura 1. Algoritm potential de decizie clinica pentru siguranta biopsiilor hepatice la pacienti cu hepatita cronica virala

Rezumat

Testele non-invazive nu vor inlocui biopsia hepatica, dar combinarea inteligenta a celor doua optiuni va permite in multe cazuri evitarea procedurii invazive. Indiferent de standardul curent de ingrijire, pacientul ar trebui informat asupra existentei testelor non-invazive, asupra aplicabilitatii si limitelor lor si decizia pentru biopsie hepatica ar trebui luata in cele din urma impreuna cu pacientul astfel informat.

Referinte

Arena U, Vizzutti F, Abraldes J, Corti G, Stasi C, Moscarella S, Milani S, Lorefice E, Petrarca A, Laffi G, Romanelli RG, Bosch J, Marra F, Pinzani M. Reliability of transient elastography for the diagnosis of advanced fibrosis in chronic hepatitis C. *Gut* 2008.

- Arena U, Vizzutti F, Corti G, Ambu S, Stasi C, Bresci S, Moscarella S, Boddi V, Petrarca A, Laffi G, Marra F, Pinzani M. Acute viral hepatitis increases liver stiffness values measured by transient elastography. *Hepatology* 2008, 47(2):380-4.
- Batts KP, Ludwig J. Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. *Am J Surg Pathol* 1995, 19(12):1409-17.
- Bedossa P, Dargere D, Paradis V. Sampling variability of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003, 38(6):1449-57.
- Cacoub P, Carrat F, Bedossa P, Lambert J, Penaranda G, Perronne C, Pol S, Halfon P. Comparison of non-invasive liver fibrosis biomarkers in HIV/HCV co-infected patients: The fibrovic study - ANRS HC02. *J Hepatol* 2008.
- Carrion JA, Navasa M, Bosch J, Bruguera M, Gilibert R, Forns X. Transient elastography for diagnosis of advanced fibrosis and portal hypertension in patients with hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl* 2006, 12(12):1791-8.
- Castera L. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 2005, 128:343. Foucher J. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut* 2006, 55:403.
- Cholongitas E, Quaglia A, Samonakis D, Senzolo M, Triantos C, Patch D, Leandro G, Dhillon AP, Burroughs AK. Transjugular liver biopsy: how good is it for accurate histological interpretation? *Gut* 2006, 55(12):1789-94.
- Cholongitas E, Senzolo M, Standish R, Marelli L, Quaglia A, Patch D, Dhillon AP, Burroughs AK. A systematic review of the quality of liver biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 2006, 125(5):710-21.
- Coco B. Transient elastography: a new surrogate marker of liver fibrosis influenced by major changes of transaminases. *J Viral Hepat* 2007, 14:360.
- de Ledinghen V, Le Bail B, Rebouissoux L, Fournier C, Foucher J, Miette V, Castera L, Sandrin L, Merrouche W, Lavrand F, Lamireau T. Liver stiffness measurement in children using FibroScan: feasibility study and comparison with Fibrotest, aspartate transaminase to platelets ratio index, and liver biopsy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007, 45(4):443-50.
- de Ledinghen V, Douvin C, Kettaneh A, Ziou M, Roulot D, Marcellin P, Dhumeaux D, Beaugrand M. Diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis by transient elastography in HIV/hepatitis C virus-coinfected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006, 41(2):175-9.
- de Ledinghen V. Diagnosis of hepatic fibrosis and cirrhosis by transient elastography in HIV/hepatitis C virus co-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006, 41:175.
- Denzer U, Arnoldy A, Kanzler S, Galle PR, Dienes HP, Lohse AW. Prospective randomized comparison of minilaparoscopy and percutaneous liver biopsy: diagnosis of cirrhosis and complications. *J Clin Gastroenterol* 2007, 41(1):103-10.
- Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 1994, 19(6):1513-20.
- DiMichele DM, Mirani G, Wilfredo Canchis P, Trost DW, Talal AH. Transjugular liver biopsy is safe and diagnostic for patients with congenital bleeding disorders and hepatitis C infection. *Haemophilia* 2003, 9(5):613-8.
- Foucher J, Chanteloup E, Vergniol J, Castera L, Le Bail B, Adhoute X, Bertet J, Couzigou P, de Ledinghen V. Diagnosis of cirrhosis by transient elastography (FibroScan): a prospective study. *Gut* 2006, 55(3):403-8.
- Fraquelli M. Reproducibility of transient elastography in the evaluation of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Gut* 2007, 56:968.

- Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev* 2008, 88(1):125-72.
- Friedman SL, Rockey DC, Bissell DM. Hepatic fibrosis 2006: report of the Third AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2007, 45(1):242-9.
- Friedrich-Rust M, Ong MF, Martens S, Sarrazin C, Bojunga J, Zeuzem S, Herrmann E. Performance of transient elastography for the staging of liver fibrosis: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2008, 134(4):960-74.
- Goodman ZD. Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases. *J Hepatol* 2007, 47(4):598-607.
- Gronbaek K, Christensen PB, Hamilton-Dutoit S, Federspiel BH, Hage E, Jensen OJ, Vyberg M. Interobserver variation in interpretation of serial liver biopsies from patients with chronic hepatitis C. *J Viral Hepat* 2002, 9(6):443-9.
- Helmreich-Becker I, Schirmacher P, Denzer U, Hensel A, Meyer zum Buschenfelde KH, Lohse AW. Minilaparoscopy in the diagnosis of cirrhosis: superiority in patients with Child-Pugh A and macronodular disease. *Endoscopy* 2003, 35(1):55-60.
- Hui AY, Liew CT, Go MY, Chim AM, Chan HL, Leung NW, Sung JJ. Quantitative assessment of fibrosis in liver biopsies from patients with chronic hepatitis B. *Liver Int* 2004, 24(6):611-8.
- Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1994, 20(1 Pt 1):15-20.
- Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween RN, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 1995, 22(6):696-9.
- Kalambokis G, Manousou P, Vibhakorn S, Marelli L, Cholongitas E, Senzolo M, Patch D, Burroughs AK. Transjugular liver biopsy--indications, adequacy, quality of specimens, and complications--a systematic review. *J Hepatol* 2007, 47(2):284-94.
- Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1981, 1(5):431-5.
- Lebensztejn DM, Skiba E, Sobaniec-Lotowska M, Kaczmarski M. A simple noninvasive index (APRI) predicts advanced liver fibrosis in children with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2005, 41(6):1434-5.
- Leroy V. Prospective comparison of six non-invasive scores for the diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2007, 46:775.
- Maida I, Soriano V, Barreiro P, Rivas P, Labarga P, Nunez M. Liver fibrosis stage and HCV genotype distribution in HIV-HCV coinfecting patients with persistently normal transaminases. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007, 23(6):801-4.
- Mammen T, Keshava SN, Eapen CE, Raghuram L, Moses V, Gopi K, Babu NS, Ramachandran J, Kurien G. Transjugular liver biopsy: a retrospective analysis of 601 cases. *J Vasc Interv Radiol* 2008, 19(3):351-8.
- Myers RP, Fong A, Shaheen AA. Utilization rates, complications and costs of percutaneous liver biopsy: a population-based study including 4275 biopsies. *Liver Int* 2008, 28(5):705-12.
- Ogawa E, Furusyo N, Toyoda K, Takeoka H, Otaguro S, Hamada M, Murata M, Sawayama Y, Hayashi J. Transient elastography for patients with chronic hepatitis B and C virus infection: Non-invasive, quantitative assessment of liver fibrosis. *Hepatology Res* 2007, 37(12):1002-10.
- Petz D, Klauk S, Rohl FW, Malfertheiner P, Roessner A, Rocken C. Feasibility of histological grading and staging of chronic viral hepatitis using specimens obtained by thin-needle biopsy. *Virchows Arch* 2003, 442(3):238-44.

- Piccinino F, Sagnelli E, Pasquale G, Giusti G. Complications following percutaneous liver biopsy. A multicentre retrospective study on 68,276 biopsies. *J Hepatol* 1986, 2(2):165-73.
- Pinzani M, Vizzutti F, Arena U, Marra F. Technology Insight: noninvasive assessment of liver fibrosis by biochemical scores and elastography. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008, 5(2):95-106.
- Pinzani M. Fibrosis in chronic liver diseases: diagnosis and management. *J Hepatol* 2005, 42(Suppl 1):S22.
- Poynard T, Morra R, Halfon P, Castera L, Ratziu V, Imbert-Bismut F, Naveau S, Thabut D, Lebrech D, Zoulim F, Bourliere M, Cacoub P, Messous D, Munteanu M, de Ledinghen V. Meta-analyses of FibroTest diagnostic value in chronic liver disease. *BMC Gastroenterol* 2007, 7:40.
- Regev A. Sampling error and intraobserver variation in liver biopsy in patients with chronic HCV infection. *Am J Gastroenterol* 2002, 97:2614.
- Rockey DC. Noninvasive assessment of liver fibrosis and portal hypertension with transient elastography. *Gastroenterology* 2008, 134(1):8-14.
- Roulot D, Czernichow S, Le Clesiau H, Costes JL, Vergnaud AC, Beaugrand M. Liver stiffness values in apparently healthy subjects: Influence of gender and metabolic syndrome. *J Hepatol* 2008.
- Rousselet MC, Michalak S, Dupre F, Croue A, Bedossa P, Saint-Andre JP, Cales P. Sources of variability in histological scoring of chronic viral hepatitis. *Hepatology* 2005, 41(2):257-64.
- Sagir A, Erhardt A, Schmitt M, Haussinger D. Transient elastography is unreliable for detection of cirrhosis in patients with acute liver damage. *Hepatology* 2008, 47(2):592-5.
- Sandrin L, Catheline S, Tanter M, Hennequin X, Fink M. Time-resolved pulsed elastography with ultrafast ultrasonic imaging. *Ultrason Imaging* 1999, 21(4):259-72.
- Schirmacher P, Fleig WE, Dienes HP. (Biopsy diagnosis of chronic hepatitis). *Z Gastroenterol* 2004, 42(2):175-85.
- Schwarz KB, Zellos A, Stamato L, Boitnott J, Perlman E, Chong S, Casella JF. Percutaneous liver biopsy in hemophiliac children with chronic hepatitis C virus infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2008, 46(4):423-8.
- Sebastiani G, Vario A, Guido M, Noventa F, Plebani M, Pistis R, Ferrari A, Alberti A. Stepwise combination algorithms of non-invasive markers to diagnose significant fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2006, 44(4):686-93.
- Sebastiani G. Sequential algorithms combining non-invasive markers and biopsy for the assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2007, 13:525.
- Sebastiani G. Stepwise combination of algorithms of non-invasive markers to diagnose significant fibrosis in chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2004, 44:686.
- Siddique I, El-Naga HA, Mada JP, Memon A, Hasan F. Sampling variability on percutaneous liver biopsy in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Scand J Gastroenterol* 2003, 38(4):427-32.
- Shaheen AA, Myers RP. Diagnostic accuracy of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review. *Hepatology* 2007, 46(3):912-21.
- Shaheen AA, Wan AF, Myers RP. FibroTest and FibroScan for the prediction of hepatitis C-related fibrosis: a systematic review of diagnostic test accuracy. *Am J Gastroenterol* 2007, 102(11):2589-600.
- Skippenova S, Trainer TD, Krawitt EL, Blaszyk H. Variability of grade and stage in simultaneous paired liver biopsies in patients with hepatitis C. *J Clin Pathol* 2007, 60(3):321-4.

- Standish RA, Cholongitas E, Dhillon A, Burroughs AK, Dhillon AP. An appraisal of the histopathological assessment of liver fibrosis. *Gut* 2006, 55(4):569-78.
- Terjung B, Lemnitzer I, Dumoulin FL, Effenberger W, Brackmann HH, Sauerbruch T, Spengler U. Bleeding complications after percutaneous liver biopsy. An analysis of risk factors. *Digestion* 2003, 67(3):138-45.
- Vallet-Pichard A, Mallet V, Pol S. Predictive value of FIB-4 versus fibrotest, APRI, FIBROINDEX and FORNS to noninvasively estimate fibrosis in hepatitis C. *Hepatology* 2008, 47(2):763.
- van der Poorten D, Kwok A, Lam T, Ridley L, Jones DB, Ngu MC, Lee AU. Twenty-year audit of percutaneous liver biopsy in a major Australian teaching hospital. *Intern Med J* 2006, 36(11):692-9.
- Wai CT, Cheng CL, Wee A, Dan YY, Chan E, Chua W, Mak B, Oo AM, Lim SG. Non-invasive models for predicting histology in patients with chronic hepatitis B. *Liver Int* 2006, 26(6):666-72.
- Yoneda M. Transient elastography in patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Gut* 2007, 56:1330.
- Ziol M. Noninvasive assessment of liver fibrosis by measurement of stiffness in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2005, 41:48.

Partea 6

Carcinomul hepatocelular

Capitolul 21: Diagnosticul, prognosticul si tratamentul carcinomului hepatocelular (HCC)

Ulrich Spengler

Clasificarea HCC

Clasificarea stadiala a HCC adoptata pe plan international in vederea aprecierii ratei de supravietuire, selectarii terapiei si optimizarii strategiilor terapeutice este Clasificarea Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC), aceasta fiind recomandata atat de asociatia americana de studiu al bolilor hepatice (American Association for the Study of Liver Diseases - AASLD), ca si de cea europeana (European Association for the Study of the Liver - EASL) (Tabel 1). Clasificarea BCLC ia in considerare starea generala a pacientului, severitatea leziunilor hepatice si extensia tumorii (Llovet 1999), pacientii aflati in stadiile BCLC 0 si A (doar aproximativ 25% fiind insa diagnosticati in acest stadiu) avand prognostic considerabil mai bun decat cei aflati in B, C sau D (Mazzaferro 1996). Ghidurile terapeutice elaborate de EASL si AASLD contin indicatiile terapeutice pentru fiecare stadiu BCLC, aceasta clasificare fiind realizata pe baze clinice deoarece spre deosebire de alte neoplazii, caracteristicile moleculare nu evalueaza corect prognosticul si evolutia clinica a pacientului.

Clasificarea Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC)				
Stadiu		Stare generala	Caracteristicile tumorii	Stadiu Child
0	Foarte timpuriu	Buna	Nodul unic cu dimensiune < 2cm	A/B
A	Timpuriu	Buna	Nodul unic cu dimensiune < 5cm sau 3 noduli cu dimensiuni < 2cm	A/B
B	Intermediar	Buna	Noduli mari, multipli	A/B
C	Avansat	Precara	Invazie vasculara, determinari secundare extrahepatice	A/B
D	Terminal	Alterata	Orice varianta	C
Sala et al. Sem Liver Dis. 2005				

Tabel 1. Clasificarea Barcelona Clinic Liver Cancer (BCLC).

Epidemiologie

Incidenta HCC este de peste 600.000 noi cazuri/anual, fiind in continua crestere atat in Europa cat si in America. HCC se situeaza pe primele sase locuri intre cele mai

frecvente localizari de cancere pe glob si detine locul trei in ceea ce priveste cauzele de mortalitate prin boli maligne (Parkin 2005).

Hepatita cronica B reprezinta factorul de risc major pentru dezvoltarea de HCC in Africa si Asia, in timp ce in SUA, Europa si Japonia hepatita cronica C este cauza principala a HCC. 80% dintre pacientii cu HCC au in antecedente ciroza hepatica, care reprezinta ea insasi o cauza importanta de dezvoltare a HCC, indiferent de etiologie. Pacientii infectati cronic cu virusul hepatitei B (VHB) prezinta un risc de 100 ori mai mare de evolutie spre HCC fata de persoanele neinfectate din populatia generala, studii recente realizate in Taiwan indicand o legatura directa intre incarcatura virala VHB (mai mare de 10.000 copii/ml, indiferent de gradul de inflamatie hepatica) si riscul de dezvoltare a carcinomului hepatic evaluat pe o perioada de zece ani (Chen 2006; Iloeje 2006). In tarile in curs de dezvoltare un alt factor implicat in aparitia HCC este expunerea la carcinogeni de tipul aflatoxinelor.

Aproximativ 170 milioane de oameni sunt infectati in lume cu virusul hepatitei C, dintre care 20 pana la 30% evolueaza spre ciroza hepatica, iar in randul acestora riscul de aparitie a HCC este de 3-5%/anual, ceea ce implica de fapt ca o treime dintre pacientii cirofici cu infectie VHC vor dezvolta la un moment dat carcinom hepatocelular. Spre deosebire de hepatita B, in infectia cronica VHC nu exista o corelatie dovedita intre incarcatura virala ARN VHC si riscul de aparitie a HCC (Bralet 2000), iar ca regula generala se considera ca nici un pacient cu hepatita cronica C nu dezvolta HCC decat trecand prin stadiul de ciroza hepatica. Factori aditionali ce cresc riscul de aparitie a HCC sunt considerati: consumul cronic de alcool si tutun (Donato 2002; Gelatti 2005), dar si obezitatea, desi mai rar studiata (Calle 2003) si diabetul zaharat (Davila 2005) care pot creste riscul de malignitate hepatica de 4 - 40 ori la pacientii cu hepatite cronice virale din tarile vestice.

Supravegherea pacientilor la risc si diagnosticul in stadiile timpurii ale HCC

Pentru toti pacientii cu ciroza hepatica sau alti factori de risc pentru HCC se recomanda supravegherea prin ecografiile repetate la intervale regulate (6 luni), totusi trebuie semnalat un studiu randomizat din China in care s-a diagnosticat HCC in stadiu timpuriu la un numar crescut de pacienti fara ciroza asociata, inrolati intr-un program de screening pentru HCC (Zhang 2004). Un studiu randomizat implicand 1200 de pacienti monitorizati la intervale diferite de timp semnaleaza faptul ca supravegherea la intervale mai mici de 6 luni (3 versus 6 luni) nu este asociata cu diferente semnificative in rata de diagnostic precoce si evolutia postterapeutica (Trinchet 2007), dar controlul la 3 luni este totusi indicat in cazul pacientilor cu ciroza si leziuni nodulare hepatice datorita potentialului inalt de malignizare caracteristic acestui tip de leziune (Yao 2006). Alfa-fetoproteina (AFP) nu mai este recomandata ca marker de supraveghere pentru HCC deoarece nu pare a aduce beneficii importante asupra predictiei evolutiei carcinomului hepatic. Alti markeri noi, ca de-gamma-carboxiprotrombina (DCP) sau izoforma L3 a AFP (AFP-L3), nu par a fi instrumente mai valoroase pentru detectia timpurie a HCC, dar utilizarea unica a ecografiei omite totusi diagnosticul in aprox. 30% dintre cazuri si implicit amana initierea terapiei.

Diagnostic

Diagnosticul HCC se poate pune fie pe baza prezentei hepatocitelor transformate malign la examenul histopatologic al piesei de biopsie hepatica, fie pe aspectul radiologic dupa administrarea de substante de contrast ce evidentiaza hiperperfuza arteriala a regiunii tumorale. In acest fel, aceasta noua optiune poate indica diagnosticul de HCC la un pacient cirotic, fara examen anatomopatologic sau prezenta de markeri tumorali.

Un diagnostic diferential dificil de realizat este cel intre nodulul displazic si stadiile timpurii ale HCC, markerii care sa poata realiza fara echivoc distinctia intre cele doua entitati pe preparatele histologice 'dubioase' fiind inca in studiu. Glypican-A sau o combinatie de trei markeri (glypican-A, LYVE-1 si survivin) ar putea deveni instrumente valoroase, punand diagnosticul anatomo-patologic corect in aproximativ 85-95% dintre cazuri. Sunt in studiu si alti markeri de diagnostic diferential ca serin/treoninkinaza 15, fosfolipaza A2 sau TERT (reverstranscriptaza telomerazica), dar in prezent abordarea clinica a nodulilor displastici este evaluarea radiologica imediata, datorita inaltului potential oncogen al acestora (aproximativ o treime dintre cazuri sufera transformarea maligna).

Evaluarea radiologica a HCC pentru detectia unei leziuni nodulare cu hipervascularizatie colaterala se poate realiza prin echografie cu substanta de contrast, tomografie computerizata (CT) sau rezonanta magnetica nucleara de inalta rezolutie (nuclear magnetic spin resonance tomography - MRT). Noile ghiduri internationale consens accepta diagnosticul de HCC fara examen histopatologic, daca pacientul prezinta o leziune nodulara pe ficat cirotic, cu hipervascularizatie evidenta prin metode radiologice utilizand substante de contrast. Substanta de contrast accentueaza hipervascularizatia in fazele incipiente - arteriale, in timp ce in fazele avansate - venoase, apare asa-numitul fenomen de spalare, caracterizat prin absenta acestei accentuari. Deoarece echografia cu substanta de contrast, CT si MRT in combinatie cu gadolinium au sensibilitate si specificitate mare in diagnosticul tumorilor hepatice mai mari de 2 cm, oricare dintre aceste tehnici pot sustine precis diagnosticul hipervascularizarii pentru leziuni de aceste dimensiuni. Precizia diagnosticului scade insa pentru tumori cu dimensiuni de 1-2 cm, astfel ca in aceasta situatie este nevoie de minim doua examene radiologice diferite care sa evidentieze separat prezenta leziunii cu hipervascularizatie. In situatii echivoce, mai ales pentru aceste tumori de dimensiuni mici, diagnosticul trebuie confirmat prin examen histologic cu punctie-biopsie realizata din tumora si eventual, repetarea biopsiei dupa o perioada scurta de timp. Algoritmul de diagnostic recomandat de EASL si AASLD este reprezentat in figura 1, tumorile cu dimensiuni mici necesitand monitorizare la intervale scazute de timp (3 luni) sau investigare directa prin biopsie hepatica pentru clarificarea caracterului benign/malign.

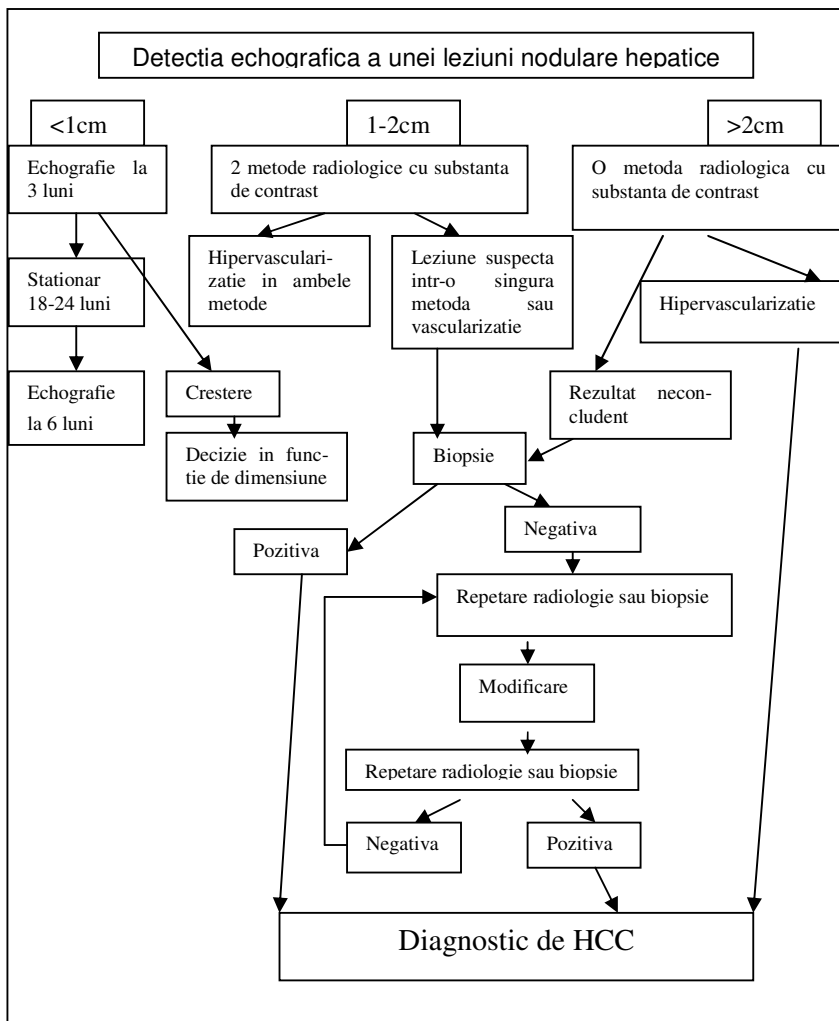


Figura 1. Algoritm de diagnostic al carcinomului hepatocelular dependent de dimensiunea tumorală.

Terapia adaptata stadiului tumoral a cancerului hepatic

A. Tratamentul curativ in stadiile BCLC 0-A

Pacientii aflati in stadii timpurii ale HCC sunt candidati excelenți pentru terapia curativa, atingand rate de supravietuire la 5 ani de 50-70% dupa rezectia chirurgicala, transplantul hepatic sau interventiile ablativă percutane.

Rezectia chirurgicala reprezinta optiunea principala a tratamentului curativ pentru stadiile timpurii ale HCC, fiind de ales in cazul pacientilor cu tumori localizate si de dimensiuni mici sau cu tumori aparute pe ficat non-cirotic (semne sugestive pentru gradul IIIA). Prognosticul dupa rezectie este excelent daca tumora nu depaseste 2 cm diametru, pacientii avand rate de supravietuire la 5 ani de 70-90%, o rata de recidiva a tumorii sub 10% si mortalitate perioperatorie sub 5%, daca se exclude pacientii cu functie hepatica precara preoperator. Criteriile de evolutie favorabila dupa rezectia chirurgicala includ: nodul unic cu dimensiune sub 5 cm sau maxim 3 noduli localizati intr-un singur lob hepatic, la pacientii cu functie hepatica moderat afectata (ciroza stadiul Child A), fara hipertensiune portala (definita prin gradient venos de presiune hepato-portala >10 mm Hg sau prezenta de varice esofagiene sau prin splenomegalie asociata cu trombopenie <100.000 plachete/ μ l) si bilirubina serica in limite normale. Trebuie totusi subliniat faptul ca si cele mai moderne examinari de tip CT sau MRT pot subestima extensia invaziei vasculare la aproximativ 30% dintre pacientii cu HCC in stadii timpurii.

Transplantul hepatic reprezinta o alternativa terapeutica atunci cand rezectia locala nu poate fi efectuata din cauze variate: tumora nu poate fi abordata chirurgical din motive anatomice, functia reziduala hepatica dupa rezectie ar putea fi intens afectata sau tumora este multinodulara, diseminata in ambii lobi hepatici (semne sugestive pentru gradul IIIA). In general pacientii cu HCC sunt selectati pentru transplant hepatic luand in considerare asa-numitele "criterii Milano": pacient cu nodul unic mai mic de 5 cm in diametru sau maxim 3 noduli, nici unul cu dimensiuni mai mari de 3 cm in diametru (Mazzaferro 1996). Pacientii care indeplinesc "criteriile Milano" ating de obicei rate de supravietuire la 1 si 5 ani de 80% si respectiv, 70% dupa transplantul hepatic, totusi au fost demonstrate rate de supravietuire posttransplant relativ crescute si pentru pacientii cu tumori mai extinse (Yao 2001). Selectia in continuare a pacientilor pe baza asa-numitelor "criterii San Francisco" implica detectia unui nodul unic cu dimensiuni de pana la 6.5 cm sau carcinom multinodular cu maxim 3 noduli, fiecare cu dimensiuni mai mici de 4.5 cm si o suma totala a diametrelor de maxim 8 cm; pacientii care se incadreaza in aceste criterii pot obtine rate de supravietuire la 5 ani de 70-80% dupa transplantul hepatic.

O problema importanta in cazul transplantului o reprezinta timpul pana la obtinerea unui organ compatibil, deoarece trecerea rapida intr-un stadiu avansat al HCC poate face inutila aceasta optiune terapeutica, fiind estimat ca dupa un an pe lista de asteptare aprox. 40% din pacientii nu mai pot fi vindecati prin transplant hepatic (Poon 2007). In registrele organizatiei Eurotransplant organele sunt alocate pacientilor dupa scorul MELD, care ia in considerare functia renala, bilirubina serica si gradul de instalare a coagulopatiei. De obicei pacientii aflati in stadii timpurii ale HCC cu indicatie de transplant hepatic au scor MELD scazut, ceea ce le reduce prioritatea pentru alocarea de organ. Pentru escaladarea acestui defect al sistemului de alocare pe baza scorului MELD, Eurotransplant accepta diagnosticul de HCC pe baza criteriilor Milan ca o exceptie standard, pacientii primind puncte aditionale pe baza asa-numitului scor lab-MELD. Numarul de puncte adaugate creste cu fiecare 3 luni pe lista de asteptare pentru a ajusta scorul real MELD al pacientului la riscul crescut de metastazare a carcinomului hepatic.

Multe dintre sectiile de chirurgie care efectueaza transplant hepatic au adoptat strategii terapeutice constand in interventii chirurgicale localizate pana la efectuarea transplantului, cum ar fi chemoembolizarea transarteriala imediat ce pacientul intra pe lista de asteptare pentru transplant. Aceasta strategie actioneaza si ca sistem aditional de selectie, deoarece pacientii cu stare stabila postchemoembolizare pot obtine rata de supravietuire dupa 5 ani mai mare de 90%, in timp ce doar 35% dintre pacientii cu tumora expansiva supravietuiesc la 5 ani dupa transplantul hepatic (Otto 2006).

Pacientii cu HCC limitat din punct de vedere al extensiei tumorale, dar cu varsta inaintata sau comorbiditati importante de alta natura sunt selectati mai ales pentru interventii chirurgicale ablative localizate, ca injectarea percutana cu etanol (PEI) sau ablatia termica prin radiofrecventa (RFA), prezentand, cel putin pe termen mediu, o evolutie postterapeutica similara cu rezectia sau transplantul hepatic, cu rate de supravietuire la 5 ani de 70-80% pentru pacientii cu noduli tumorali mai mici de 3 cm diametru, si de aprox. 50% pentru cei cu tumori intre 3 si 5 cm (Lopez 2006). Ablatia prin radiofrecventa pare a fi superioara injectarii percutane cu etanol, avand rata de recurenta tumorala la 2 ani de 2-18% (semne sugestive pentru gradul ID), evolutia cea mai buna obtinandu-se la pacientii cu ciroza hepatica in stadiul Child A si tumori mai mici de 2 cm in diametru (Sala 2004). Pentru aprecierea eficientei acestor metode este inasa nevoie de un studiu comparativ direct al diferitelor proceduri ablative localizate.

Tratamentul adjuvant asociat rezectiei hepatice, transplantului sau interventiilor ablative localizate poate oferi beneficii terapeutice aditionale, cum este de ex. tratamentul antiviral pentru hepatita B cu analogi nucleoz(t)idici, singurul tratament acceptat dupa excizia tumorii si care pare sa scada efectiv riscul de recurenta in cazul HCC aparut in cursul hepatitei cronice B.

B. Tratamentul paliativ in stadiile BCLC B si C

Tratamentul paliativ ramane singura optiune terapeutica pentru pacientii aflati in stadii avansate ale carcinomului hepatic, care nu pot fi controlate de terapia prin excizie locala.

Chemoembolizarea transarteriala hepatica este interventia cel mai des utilizata ca alternativa pentru rezectia hepatica in cazul pacientilor cu HCC si contraindicatie pentru rezectie, folosindu-se de obicei un cateter intraarterial hepatic pe care se introduce lipiodol combinat cu un agent embolizant ca gelatina sau microsferi in amestec cu un medicament citostatic. Citostaticele adecvate pentru aceasta interventie sunt doxorubicina, mitomicina si cis-platinum, dar nu sunt inca bine stabilite asocierile medicamentoase si posologia, unele studii randomizate indicand efectul benefic al administrarii a 3 - 4 chemoembolizari cu doxorubicina sau cis-platinum per an. Chemoembolizarea prezinta riscul de aparitie a ischemiilor hepatice, cu potential evolutiv spre insuficienta hepatica fulminanta; pentru a reduce acest risc interventia trebuie efectuata numai pacientilor cu functie reziduala hepatica pastrata, cu tumori hepatice multiple asimptomatice, fara invazie vasculara

sau determinari tumorale extrahepatice la distanta. Invers, pacientii cu boala hepatica decompensata (ciroza hepatica Child B sau C) sau iminenta de insuficienta hepatica nu ar trebui tratati prin chemoembolizare arteriala.

Cu toate aceste neajunsuri, chemoembolizarea este totusi singura optiune de terapie paliativa care a dovedit imbunatatirea semnificativa a ratei de supravietuire in studii controlate (Llovet 2002), putand determina raspunsuri parțiale la 15-55% dintre pacientii cu progresie tumorala sau invazie vasculara (semne sugestive pentru gradul ID).

Radioterapia cu microsferi incarcate cu $^{90\text{m}}\text{Yttrium}$ este o metoda paliativa noua care a obtinut rezultate neasteptat de bune in ceea ce priveste activitatea antitumorală la anumite cazuri selectionate de carcinom hepatic (Sangro 2006; Jacobs 2007; Salem 2006; Liu 2004). Avantajul major fata de chemoembolizare este acela ca anumite tipuri de microsferi nu produc ocluzii vasculare, astfel ca poate fi utilizata si la pacientii cu tromboembolism de vena porta, dar potentialul terapeutic al microsferelor incarcate cu $^{90\text{m}}\text{Yttrium}$ nu este inca pe deplin stabilit deoarece nu exista studii prospective randomizate controlate.

Chimioterapia sistematica, pe de alta parte, nu si-a dovedit eficienta terapeutică in ceea ce priveste rata de supravietuire, nici in monoterapie, nici in combinatii terapeutice (Llovet 2003); de asemenea, nici terapia anti-hormonală cu tamoxifen sau octreotid nu au indicat cresterea ratei de supravietuire in studii controlate (Gallo 2006; Yuen 2002).

Terapia moleculara bazata pe semnalizarea intracelulara si reglarea apoptozei, pare a fi noua optiune de tratament paliativ eficient pentru carcinomul hepatic, tintind inhibitia factorilor de crestere sau intreruperea semnalizării cailor esentiale in cresterea si expansiunea tumorala, ca angiogeneza si activarea telomerazelor. Sorafenib (Nexavar®) este un nou inhibitor administrat pe cale orala cu actiune pe mai multe tirozinkinaze (VEGF-R2, PDGF-R, c-Kit receptor), ca si pe serin/treoninkinaze (b-Raf, P38), ceea ce face ca prin inhibarea angiogenezei si a proliferării celulare, sa blocheze caile esentiale implicate in patogenia HCC. Un studiu de faza III realizat pe 602 pacienti, indica faptul ca sorafenib (400 mg/zi, administrat in doua doze) a fost bine tolerat si a crescut rata de supravietuire la 3 luni pentru 44% dintre pacientii tratati (10.7 luni la pacientii cu sorafenib versus 7.9 luni la lotul control). Principalele reactii adverse sunt moderate: diaree, scadere ponderala, sindromul mana-picior si hipofosfatemie, ceea ce face ca sorafenib sa devina primul medicament cu actiune sistematica care prelungeste viata pacientilor cu HCC, cu reactii adverse acceptabile. Sunt in derulare multiple studii de faza II pentru determinarea eficientei terapeutice ale altor inhibitori de transductie, care actioneaza pe caile de semnalizare ce implica VEGF-R, EGF-R, ErbB2, Akt/mTor sau Wnt/ β -catenin. In figura 2 sunt reprezentate optiunile terapeutice adaptate stadiului de dezvoltare pentru carcinomul hepatocelular.

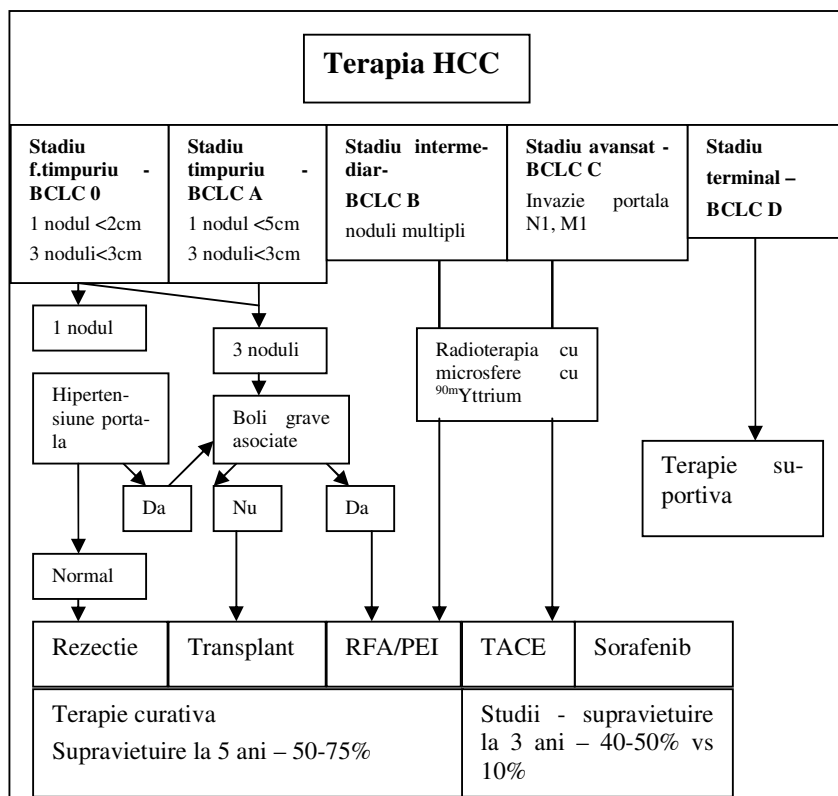


Figura 2. Vedere de ansamblu asupra terapiei cancerului hepatic - corelata stadiului tumoral dupa criteriile BLCL. RFA- ablatie prin radiofrecventa, PEI-injectare percutana cu etanol, TACE-chemoembolizare transarteriala.

Profilaxia cancerului hepatic

In ciuda progresului obtinut in domeniul diagnosticului si terapiei cancerului hepatic, totusi prognosticul HCC nu s-a imbunatatit semnificativ in ultimii ani, ceea ce subliniaza importanta masurilor profilactice. Un exemplu in acest sens este vaccinarea impotriva infectiei VHB, recomandata la ora actuala de majoritatea sistemelor sanitare si care si-a dovedit eficienta in Taiwan, scazand semnificativ rata de infectie VHB si incidenta HCC, ca o complicatie ulterioara a acesteia (Lok 2004).

Pacientii cu infectie cronica VHB, ca si cei cu hepatita cronica C au indicatie de terapie antivirala, ca parte a profilaxiei secundare a HCC. Pentru hepatita cronica B, atat pacientii cu antigen HBe pozitiv (van Zonneveld 2004), cat si cei cu antigen HBe negativ prezinta rate scazute ale incidentei cancerului hepatic daca sunt tratati eficient cu interferon (Papatheodoridis 2001; Brunetto 2002; Lampertico 2003) sau cu analogi nucleo(t)idici (Liaw 2005). Exista, de asemenea, numeroase meta-analize care sustin faptul ca tratarea eficienta cu interferon a hepatitelor virale

cronice B si C determina scaderea riscului de aparitie a HCC (Camma 2001; Papatheodoridis 2001a; Veldt 2004). Totusi, o categorie aparte de pacienti este reprezentata de cei care dezvolta ciroza hepatica inaintea initiierii terapiei antivirale, care trebuie mentinuti in programul de supraveghere pentru HCC deoarece riscul de transformare maligna este inalt, chiar daca se obtine eliminarea infectiei cu raspuns virologic sustinut (Yu 2006). Masuri terapeutice aditionale pentru factorii de risc asociati, cum sunt obezitatea si diabetul zaharat decompensat sunt masuri profilactice, care pot scadea riscul de aparitie a HCC; exista studii care evidentiaza consumul zilnic de cafea in cantitati moderate ca factor de reducere cu 40-50% a riscului de aparitie a cancerului hepatic la pacientii cu hepatita cronica indiferent de etiologie (Gelatti 2005; Bravi 2007; Larsson 2007; Wakai 2007).

Referinte

- Bralet MP, Regimbeau JM, Pineau P, Dubois S, Loas G, Degos F, Valla D, Belghiti J, Degott C, Terris B. Hepatocellular carcinoma occurring in nonfibrotic liver: epidemiologic and histopathologic analysis of 80 French cases. *Hepatology* 2000; 32: 200-4.
- Bravi F, Bosetti C, Tavani A, Bagnardi V, Gallus S, Negri E, Franceschi S, La Vecchia C. Coffee drinking and hepatocellular carcinoma risk: a meta-analysis. *Hepatology* 2007; 46: 430-5.
- Brunetto MR, Oliveri F, Coco B, Leandro G, Colombatto P, Gorin JM, Bonino F. Outcome of anti-HBe positive chronic hepatitis B in alpha-interferon treated and untreated patients: a long term cohort study. *J Hepatol* 2002; 36: 263-70.
- Camma C, Giunta M, Andreone P, Craxi A. Interferon and prevention of hepatocellular carcinoma in viral cirrhosis: an evidence-based approach. *J Hepatol* 2001; 34: 593-602.
- Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ. Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. *N Engl J Med* 2003; 348: 1625-38.
- Chen CJ, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Lu SN, Huang GT, Iloeje UH; REVEAL-HBV Study Group. Risk of hepatocellular carcinoma across a biological gradient of serum hepatitis B virus DNA level. *JAMA* 2006; 295: 65-73.
- Davila JA, Morgan RO, Shaib Y, McGlynn KA, El-Serag HB. Diabetes increases the risk of hepatocellular carcinoma in the United States: a population based case control study. *Gut* 2005; 54: 533-9.
- Donato F, Tagger A, Gelatti U, Parrinello G, Boffetta P, Albertini A, Recarli A, Trevisi P, Ribero ML, Martelli C, Porru S, Nardi G. Alcohol and hepatocellular carcinoma: the effect of lifetime intake and hepatitis virus infections in men and women. *Am J Epidemiol* 2002; 155: 323-31.
- Gallo C, De Maio E, Di Maio M, Signoriello G, Daniele B, Pignata S, Annunziata A, Perrone F; CLIP (Cancer of the Liver Italian Programme) Investigators. Tamoxifen is not effective in good prognosis patients with hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* 2006 24;6:196.
- Gelatti U, Covolo L, Talamini R, Tagger A, Barbone F, Martelli C, Cremaschini F, Franceschi S, Ribero ML, Garte S, Nardi G, Donadon V, Donato F. N-Acetyltransferase-2, glutathione S-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms, cigarette smoking and hepatocellular carcinoma: a case-control study. *Int J Cancer* 2005; 115: 301-6.
- Gelatti U, Covolo L, Franceschini M, Pirali F, Tagger A, Ribero ML, Trevisi P, Martelli C, Nardi G, Donato F; Brescia HCC Study Group. Coffee consumption reduces the risk of hepatocellular carcinoma independently of its aetiology: a case-control study. *J Hepatol*. 2005; 42:528-34.

- Iloeje UH, Yang HI, Su J, Jen CL, You SL, Chen CJ; Risk Evaluation of Viral Load Elevation and Associated Liver Disease/Cancer-In HBV (the REVEAL-HBV) Study Group. Predicting cirrhosis risk based on the level of circulating hepatitis B viral load. *Gastroenterology* 2006; 130: 678-86.
- Jakobs TF, Hoffmann RT, Poepperl G, Schmitz A, Lutz J, Koch W, Tatsch K, Lubiensky A, Reiser MF, Helmberger T. Mid-term results in otherwise treatment refractory primary or secondary liver confined tumours treated with selective internal radiation therapy (SIRT) using (90)Yttrium resin-microspheres. *Eur Radiol* 2007; 17: 1320-30.
- Lampertico P, Del Ninno E, Viganò M, Romeo R, Donato MF, Sablon E, Morabito A, Colombo M. Long-term suppression of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B by 24-month interferon therapy. *Hepatology* 2003; 37: 756-63.
- Larsson SC, Wolk A. Coffee consumption and risk of liver cancer: a meta-analysis. *Gastroenterology* 2007; 132: 1740-5.
- Liaw YF. Prevention and surveillance of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Semin Liver Dis* 2005; 25 Suppl 1: 40-7.
- Liu MD, Uaje MB, Al-Ghazi MS, Fields D, Herman J, Kuo JV, Milne N, Nguyen TH, Ramsinghani NS, Tokita KM, Tsai FY, Vajrgt DJ, Imagawa DK. Use of Yttrium-90 TheraSphere for the treatment of unresectable hepatocellular carcinoma. *Am Surg* 2004; 70: 947-53.
- Llovet JM, Bruix J. Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival. *Hepatology* 2003; 37: 429-42.
- Llovet JM, Bustamante J, Castells A, Vilana R, Ayuso Mdel C, Sala M, Bru C, Rodes J, Bruix J. Natural history of untreated nonsurgical hepatocellular carcinoma: rationale for the design and evaluation of therapeutic trials. *Hepatology* 1999; 29: 62-7.
- Llovet JM, Real MI, Montana X, Planas R, Coll S, Aponte J, Ayuso C, Sala M, Muchart J, Sola R, Rodes J, Bruix J; Barcelona Liver Cancer Group. Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial. *Lancet* 2002; 359: 1734-9.
- Lok AS. Prevention of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004; 127(Suppl 1):S303-9.
- Lopez P, Villanueva A, Llovet JM. Updated systematic review of randomized controlled trials in hepatocellular carcinoma. 2002-2005. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 23: 1535-1547.
- Mazzaferro V, Regalia E, Doci R, Andreola S, Pulvirenti A, Bozzetti F, Montalto F, Ammatuna M, Morabito A, Gennari L. Liver transplantation for the treatment of small hepatocellular carcinomas in patients with cirrhosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 693-9.
- Otto G, Herber S, Heise M, Lohse AW, Monch C, Bittinger F, Hoppe-Lotichius M, Schuchmann M, Victor A, Pitton M. Response to transarterial chemoembolization as a biological selection criterion for liver transplantation in hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2006;12:1260-7.
- Papatheodoridis GV, Manesis E, Hadziyannis SJ. The long-term outcome of interferon-alpha treated and untreated patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J Hepatol* 2001; 34: 306-13.
- Papatheodoridis GV, Papadimitropoulos VC, Hadziyannis SJ. Effect of interferon therapy on the development of hepatocellular carcinoma in patients with hepatitis C virus-related cirrhosis: a meta-analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 689-98.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108.
- Poon RT, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Wong J. Difference in tumor invasiveness in cirrhotic patients with hepatocellular carcinoma fulfilling the Milan criteria treated by resection and transplantation: impact on long-term survival. *Ann Surg* 2007;245: 51-8.

- Sala M, Llovet JM, Vilana R, Bianchi L, Solé M, Ayusa C, et al. Initial response to percutaneous ablation predicts survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2004; 40: 1352-1360.
- Salem R, Hunter RD. Yttrium-90 microspheres for the treatment of hepatocellular carcinoma: a review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2006; 66(2 Suppl): S83-8.
- Sangro B, Bilbao JI, Boan J, Martinez-Cuesta A, Benito A, Rodriguez J, Panizo A, Gil B, Inarrairaegui M, Herrero I, Quiroga J, Prieto J. Radioembolization using 90Y-resin microspheres for patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2006; 66: 792-800.
- Trinchet J, Beaugrand M from GRETCH. A randomized trial comparing 3-month vs. 6 month screening for HCC by ultrasonography Abstract book International Liver Cancer Association 2007.
- van Zonneveld M, Honkoop P, Hansen BE, Niesters HG, Murad SD, de Man RA, Schalm SW, Janssen HL. Long-term follow-up of alpha-interferon treatment of patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2004; 39: 804-10.
- Veldt BJ, Saracco G, Boyer N, Camma C, Bellobuono A, Hopf U, Castillo I, Weiland O, Nevens F, Hansen BE, Schalm SW. Long term clinical outcome of chronic hepatitis C patients with sustained virological response to interferon monotherapy. *Gut* 2004; 53: 1504-8.
- Wakai K, Kurozawa Y, Shibata A, Fujita Y, Kotani K, Ogimoto I, Naito M, Nishio K, Suzuki H, Yoshimura T, Tamakoshi A; JACC Study Group. Liver cancer risk, coffee, and hepatitis C virus infection: a nested case-control study in Japan. *Br J Cancer* 2007; 97: 426-8.
- Yao FY. Should surveillance for hepatocellular carcinoma be increased in patients with cirrhosis and small liver nodules? *Nature Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2006; 3: 544-545.
- Yao FY, Ferrell L, Bass NM, Watson JJ, Bacchetti P, Venook A, Ascher NL, Roberts JP. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: expansion of the tumor size limits does not adversely impact survival. *Hepatology* 2001; 33:1394-403.
- Yu ML, Lin SM, Lee CM, Dai CY, Chang WY, Chen SC, Lee LP, Lin ZY, Hsieh MY, Wang LY, Chuang WL, Liaw YF. A simple noninvasive index for predicting long-term outcome of chronic hepatitis C after interferon-based therapy. *Hepatology* 2006;4 4: 1086-97.
- Yuen MF, Poon RT, Lai CL, Fan ST, Lo CM, Wong KW, Wong WM, Wong BC. A randomized placebo-controlled study of long-acting octreotide for the treatment of advanced hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 36: 687-91.
- Zhang BH, Yang BH, Tang ZY. Randomized controlled trial of screening for hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 417-422.

Partea 7

Transplantul hepatic

Capitolul 22: Managementul pacientilor inainte si dupa transplantul hepatic

S. Beckebaum, G. Gerken si V.R. Cicinnati

Introducere

Prima tentativa de transplant hepatic heterotopic la un caine a fost raportata in urma cu 50 de ani (Welch 1955), iar un an mai tarziu s-a realizat si primul transplant hepatic ortotopic experimental in 1956 la Universitatea din California (Cannon 1956). In anii '60 Starzl a realizat primul transplant hepatic (liver transplant - LT) de la donator uman la un copil de 3 ani cu atrezie biliara congenitala, care a decedat intraoperator (Starzl 1963), in urmatoarele doua interventii primitorii au supravietuit cate 22 de zile, si respectiv, 1 saptamana, (Starzl 1963). Primele interventii reusite de LT au fost realizate in anul 1967 (Starzl 1968).

Odata cu introducerea noilor metode de imunosupresie post-transplant, a tehnicilor chirurgicale avansate, conservarii organelor si imbunatatirii managementului pacientilor, LT a devenit "standardul de aur" al terapiei bolilor hepatice cronice grave si a insuficientei hepatice fulminante, atingand rate de supravietuire la 1 si 5 ani de 80-90%, si respectiv, 60-80% (Seaberg 1999).

Capitolul prezent se refera la cele mai importante aspecte ale transplantologiei, incluzand indicatiile pentru LT, politica de alocare de organ, evaluarea pretransplant, managementul pacientului in timpul petrecut pe lista de asteptare pentru transplant, transplantul de la donator viu (living donor liver transplantation - LDLT) si managementul complicatiilor posttransplant pe termen scurt si lung.

Indicatia de transplant hepatic si alegerea momentului realizarii acestuia

Cele doua aspecte sunt cruciale in selectia candidatilor pentru LT in scopul reducerii mortalitatii si a cresterii rezultatelor obtinute posttransplant, de ex. daca speranta de viata a unui pacient este mai mare in lipsa realizarii transplantului, atunci acesta nu este un candidat eligibil pentru LT, fiind necesare criteriile stricte de selectie a pacientilor. In anul 2002, organizatia PTN (Procurement and Transplantation Network) si UNOS (United Network of Organ Sharing) au pus la punct un nou sistem de prioritizare a pacientilor aflati pe lista de asteptare pentru transplant, sistem bazat pe modelul de boala hepatica terminala (MELD - Model for End-Stage Liver Disease) (tabel 1). In tarile care foloseau sistemul Eurotransplant - utilizand scorul Child-Pugh Turcotte, acesta a fost inlocuit cu scorul MELD incepand din decembrie 2006.

Un studiu extins asupra beneficiilor LT (Merion 2005) a indicat faptul ca pacientii transplantati cu scor MELD <15 au avut o rata de mortalitate semnificativ crescuta comparativ cu cei netransplantati aflati inca pe lista de asteptare, in timp ce pacientii cu scor MELD mai mare sau egal cu 18 prezinta beneficii importante in urma LT. Introducerea noului sistem de alocare a organelor transplantate a dus la

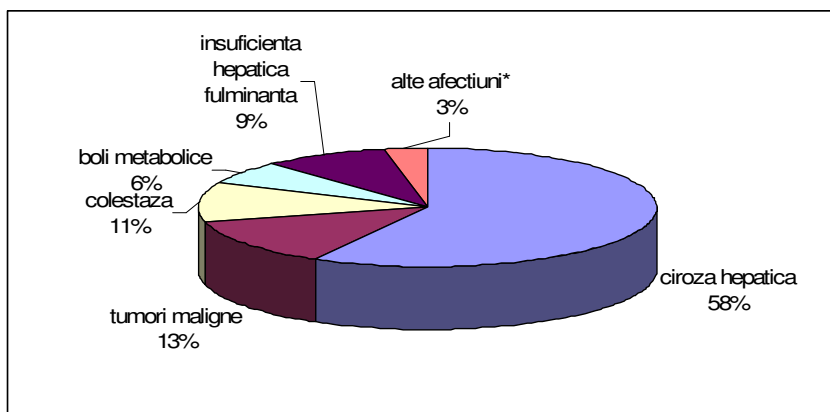
scaderea numarului de pacienti introdusi pe lista de transplant, imbunatatirea ratei de transplant, fara crestere ale ratei de mortalitate (Freeman 2008; Freeman 2004).

Totusi trebuie subliniat faptul ca intr-un procent de 15-20% dintre cazuri scorul MELD nu poate aprecia cu acuratete mortalitatea posttransplant, de aceea o modificare a sistemului de alocare pe baza scorului MELD este in studiu, implicand atat mortalitatea pre si posttransplant, cat si factorii care tin de donatorul de organ. In plus, standardizarea testelor de laborator si introducerea testarii sodiului plasmatic ar putea imbunatati capacitatea de selectie a pacientilor in vederea realizarii LT (Choi 2008).

Candidatii eligibili pentru LT trebuie sa prezinte leziuni ireversibile de boala hepatica terminala acuta sau cronica, cele mai frecvente cauze de indicatie de LT la adulti fiind reprezentate de ciroza hepatica indusa de virusul hepatitei C si ciroza alcoolica (<http://www.eltr.org>; figura 1). Alte cauze de transplant hepatic includ bolile hepatice prin colestaza [ciroza biliara primara (PBC), colangita sclerozanta primitiva (PSC)], infectia cu virus hepatitic B (VHB), hepatita autoimuna (AIH), bolile metabolice ereditare (fibroza chistica, boala Wilson, hemocromatoza, deficitul de alfa-1 antitripsina), steatoza hepatica nonalcoolica, carcinomul hepatocelular fara metastaze extrahepatice (HCC), insuficienta hepatica fulminanta de cauza virala – hepatite acute virale, de cauza toxica sau indusa de medicamente. La copii cele mai frecvente cauze de indicatie de LT sunt atrezia biliara si bolile metabolice congenitale.

Contraindicatiile transplantului hepatic sunt reprezentate de consumul actual de alcool, boli maligne extrahepatice, septicemie, hipertensiune pulmonara decompensata, comorbiditati severe cum sunt bolile cardiopulmonare grave, sau contraindicatiile de ordin tehnic sau anatomic, ca tromboza de vena porta sau mezenterica superioara. Istoricul de malignitate in antecedente implica o evaluare atenta a pacientului si ridica problema posibilitatii de recidiva a tumorii in perioada de dupa transplant.

O situatie frecventa la pacientii transplantati pentru ciroza hepatica alcoolica este recaderea (Neuberger 2007), de aceea politica actuala implica indicatia de abstinenta la alcool pe o perioada de minimum 6 luni inainte de transplantul hepatic. Departamentul de medicina psihosomatica si psihoterapie de la Spitalul Universitar Essen, Germania a realizat un program de psihoterapie cu durata de 6 luni – 18 ore de terapie de grup zilnic, in scopul obtinerii abstinentei la alcool si a unui regim de viata sanatoasa. Determinarea concentratiei de etanol in respiratie si a metabolitilor acestuia in urina a fost realizata la fiecare sedinta de grup, rezultatele sugerand efecte benefice ale terapiei cognitive comportamentale structurate asupra pacientilor alcoolici (Erim 2007).



* Budd Chiari, tumori hepatice benigne, boala polichistica, infectii parazitare, alte afectiuni hepatice

Figura 1. Indicatiile de transplant hepatic. Boli hepatice cu indicatia cea mai frecventa de transplant hepatic in Europa 01/1988 - 06/2007 (date provenite de la Registrul european de transplant hepatic, <http://www.eltr.org>).

Evaluarea pacientilor

Evaluarea unui potential candidat pentru transplant hepatic implica o abordare multidisciplinara complexa, vizand bolile extrahepatice care pot contraindica transplantul sau necesita masuri terapeutice inaintea interventiei chirurgicale. Protocolul de evaluare din centrul de transplant al Spitalului Universitar Essen, Germania este expus in tabelul 2.

<ul style="list-style-type: none"> • Examen fizic • Examen paraclinic (teste biochimice uzuale, screening serologic al bolilor virale, tumorale, bacteriene, teste de autoimunitate, testarea functiei tiroidiene) • Echografie Doppler • Tomografie sau RMN abdominal • Radioscopie pulmonara • Electrocardiograma (ECG), ECG de efort, echografie cardiaca bidimensionala (alte investigatii ale functiei cardiace, daca apar anomalii sau factori de risc) • Fibroscopie si colonoscopie • Teste functionale pulmonare • Mamografie (femei > 35 ani) • Consult de specialitate (anestezie-terapie intensiva, ginecologie, urologie, neurologie, stomatologie, ORL) • Aprecierea starii psiho-sociale (consult psihiatric sau psihologic)

Tabel 2. Protocol de evaluare a potentialilor candidati pentru transplant hepatic.

Managementul pacientilor pretransplant

In cazul hemoragiilor recurente de la nivelul varicelor esofagiene in ciuda terapiei interventionale endoscopice anterioare (si betablocantilor non-selectivi) sau in cazul ascitei refractare, sunturile portosistemice intrahepatice transjugulare (TIPS) sunt folosite ca o modalitate de scadere a presiunii portale si ca suport terapeutic in cazul candidatilor la transplant. In profilaxia si managementul encefalopatiei hepatice (EH), ramane esentiala identificarea factorilor predispozanti, precum si administrarea lactulozei, antibioticelor nonabsorbante si dijetelor sarace in proteine.

Sindromul hepatorenal (SHR) reprezinta o complicatie a stadiului terminal in boala hepatica si se clasifica in SHR tipul 1 caracterizat prin deteriorarea rapida a functiei renale, cu prognostic sever sau rezervat si SHR tipul 2 in care leziunile renale sunt moderate dar permanente (Wong 2008).

La aproape 75% dintre pacienti, medicatia vasoconstrictoare combinata cu dilatatorii de volum, inclusiv terlipresinul, care este utilizat de rutina, a fost eficienta si a completat terapia LT cu restaurare efectiva a circulatiei arteriale. TIPS a avut succes la 50% dintre pacienti, in timp ce la altii au avut succes sistemele de sustinere hepatica externe, bazate pe schimburile sau detoxifierea albuminelor. Dupa includerea pe lista de asteptare, valorile de laborator ale pacientilor trebuie revazute conform anexei de rectificare din Tabelul 3, altfel candidatilor la transplant li se vor atribui automat valorile anterioare scazute din scorul MELD.

O atentie speciala trebuie acordata terapiei specifice afectiunii anterioare transplantului in cazul candidatilor la transplant hepatic cu diagnosticul de CHC sau alte afectiuni hepatice de etiologie virala.

Scor	Recertificare	Valori de laborator
≥25	La fiecare 7 zile	≤48 ore
24-19	La fiecare 30 zile	≤ 7 zile
18-11	La fiecare 90 zile	≤14 zile
≤10	In fiecare an	≤30 zile

Tabel 3. Recertificarea anexei care contine datele Meld.

Monitorizarea candidatilor la transplant hepatic cu hepatita B aflati pe lista de asteptare

Scopul terapiei antivirale la pacientii infectati VHB aflati pe lista de asteptare este supresia virala pana la nivele nedetectabile ale viremiei inainte de transplant. (Figura 2) (Cornberg 2008; Cornberg 2007). Mai multe studii au demonstrat beneficiile clinice ale supresiei virale la pacientii cu ciroza decompensata, beneficii reflectate prin scaderea scorurilor CPT imbunatatirea valorilor hepatice si vindecarea complicatiilor (Kapoor 2000; Schiff 2007; Villeneuve 2000; Yao 2001; Nikolaidis 2005).

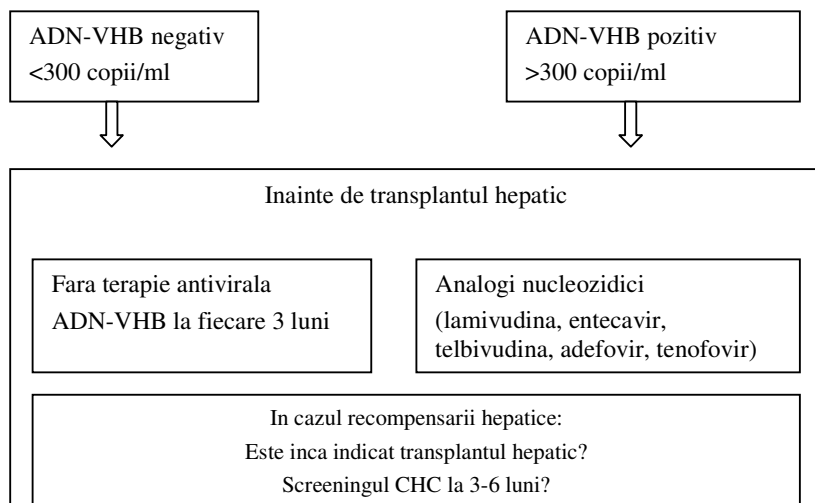


Figura 2. Managementul pacientilor infectati VHB inainte de transplantul hepatic

La toti pacientii cu viremie VHB (>300 copii/mL) care asteapta transplantul hepatic, este necesara terapia antivirala eficienta. Supresia ADN-VHB poate duce la stabilizare clinica fapt care poate scoate pacientul de pe lista sau poate intarzia transplantul hepatic. Recomandarile germane propun monitorizarea ADN-VHB cel putin la 3 luni. (Cornberg 2007).

Un motiv important de ingrijurare il constituie aparitia mutatiilor in secventa YMDD a ADN polimerazei induse de terapia cu lamivudina (LAM), (Tillmann 2007; Beckebaum 2008(a); Ono 2001; Mutimer 2000; Seehofer 2001), motiv pentru care acestui medicament s-a propus sa devina a doua linie terapeutica (Tan 2007). La pacientii in stadiu terminal al bolii hepatice, este preferat un analog nucleozidic mai potent (entecavir [ETV] sau tenofovir [TDF]) pentru a preveni decompensarea clinica ce poate surveni in urma aparitiei rezistentei la LAM.

La pacientii cu rezistenta la LAM, rezultatele recente au aratat ca terapia combinata cu LAM si adefovir dipivoxil (ADV) este superioara monoterapiei cu ADV (Vassiliadis 2007; Lampertico 2007). Intr-un studiu realizat la pacienti infectati VHB cu rezistenta la LAM care erau pe lista de asteptare (N = 226) sau post transplant (N = 241), s-a administrat ADV la un anumit moment fara a preciza exact perioada administrarii terapiei combinate. (Schiff 2007), rezultatele aratand ca in saptamana 96, numai doua treimi din pacientii de pe lista de asteptare au devenit nedetectabili pentru ADN-VHB, ceea ce indica necesitatea unei terapii antivirale mai potente pentru nonresponderi.

La pacientii cu rezistenta la LAM, TDF este o optiune mai buna pentru terapia de salvare comparativ cu ADV. (van Bommel 2004; Neff 2004; Del Poggio 2007). ETV prezinta o bariera inalta de rezistenta, avand nevoie de mutatii multiple pentru dezvoltarea rezistentei fiind foarte eficient pretransplant la pacientii naivi la analogii nucleozidici cu incarcatura virala. Din contra eficacitatea sa antivirala este mult mai scazuta la pacientii infectati VHB, rezistenti la LAM si, datorita

rezistentei partial incrucisate, aparitia rezistentei totale la entecavir este foarte rapida (Colonno 2006; Chang 2006).

Monitorizarea si tratamentul hepatitei C la candidatii la transplant hepatic aflati pe lista de asteptare

Numarul de studii ce investigheaza tolerabilitatea si eficacitatea terapiei antivirale la pacientii infectati VHC inainte de transplantul hepatic este limitat. (Crippin 2002; Iacobellis 2007; Everson 2005; Triantos 2005). Pacientii de pe lista de asteptare care prezinta raspuns virusologic la terapia antivirala au o rata mai scazuta de reinfectie si un raspuns mai bun post transplant. (Thomas 2003; Picciotto 2007). La pacientii de pe lista de asteptare cu ciroza VHC compensata, se recomanda terapia cu interferon pegylat (PEG-IFN) si ribavirina. Terapia antivirala in ciroza decompensata cu scor MELD ≥ 18 trebuie administrata doar in cazuri speciale si monitorizata intr-un centru de transplant. Desi s-a demonstrat ca pretransplant terapia cu IFN-alfa scade viremia VHC la unii pacienti, efectele adverse asociate terapiei sunt frecvente, (Crippin 2002) necesitand reducerea dozei sau eliminarea medicamentului si ulterior esecul eliminarii VHC la pacientii ce asteapta transplantul hepatic.

Tratamentul adjuvant si stadializarea candidatilor cu CHC la transplant

Transplantul hepatic a fost recunoscut ca fiind cel mai eficient mijloc de tratament al pacientilor cu CHC, dar succesul lui este limitat datorita evolutiei bolii sau decesului pacientului aflat pe lista de asteptare. Rata retragerilor de pe lista poate fi reduca cu ajutorul terapiilor ca chemoembolizare sau ablatia prin radio frecventa (Roayaie 2007). Daca se aplica scorul MELD, pacientii trebuie sa indeplineasca criteriile Milan (o tumora mai mica sau egala cu 5 cm in diametru sau pana la 3 tumori, nici una mai mare de 3 cm) pentru a se califica pentru lista de asteptare speciala a pacientilor cu CHC. Diagnosticul de CHC este confirmat daca urmatoarele criterii sunt indeplinite conform recomandarilor germane pentru transplantul de organe (Bundesärztekammer 2008): (1) diagnostic la biopsie hepatica sau (2) alfafetoproteina, AFP >400 ng/mL si leziuni hepatice hipervascularare detectate printr-o tehnica imagistica de tip rezonanta magnetica nucleara (RMN), tomografie computerizata (CT), angiografie sau (3) leziuni hepatice hipervascularare detectabile prin 2 tehnici imagistice diferite. Pacientii pot fi inregistrati cu un scor MELD echivalent cu o probabilitate de 15% de deces in decurs de 3 luni. Pacientii vor primii la fiecare 3 luni puncte aditionale in scorul MELD echivalente cu o crestere de 10% pentru deces pre-transplant pana cand in momentul transplantului saupana cand transplntul este contra datorita progresiei CHC. Evaluarea prealabila a pacientilor trebuie atent realizata pentru a exclude raspandirea extrahepatica si/sau invazia vasculara. Evaluarea trebuie sa includa CT sau RMN abdominal si o scanare a sistemului osos. Pentru detectia timpurie a progresiei bolii sunt necesare examinari de rutina de 3 ori pe luna (RMN sau CT) la pacientii cu CHC de pe lista de asteptare.

Diferentierea exacta a pacientilor cu CHC cu prognostic bun deci cu prognostic sever conform unor criterii fiabile (strategii genomice sau moleculare) este inca in faza exploratorie (Marsh 2003; Finkelstein 2003). La pacientii cu boala hepatica

legata de consumul de alcool si CHC este necesara o abordare multidisciplinara pentru rezolvarea problemelor oncologice si a celor legate de alcoolism (Sotiropoulos 2008a).

Transplantul de la donator viu: Indicatii, evaluarea donatorilor si rezultate

Transplantul hepatic de la donator viu (live donor for liver transplantation/ LDLT) a fost introdus in 1989 cu succes la o serie de cazuri pediatrice (Broelsch 1991). Transplantul hepatic la adult de la un donator adult viu (adult-to-adult living donor liver transplantation/ALDLT) a fost realizat pentru prima oara in tarile asiatice unde se practica rar donarea organelor de la cadavre. (Sugawara 1999; Kawasaki 1998). Perioada de varf a LDLT in Statele Unite a fost in 2001 (Qiu 2005), ulterior inregistrand un declin, in timp ce in Asia este un continua crestere.

Evaluarea donatorilor este un proces consumator de timp eficient din punct de vedere al costurilor. Examinarile clinice, studiile imagistice, examinarile speciale, parametrii biochimici, si evaluarea psihosociala anterior donarii, variaza in functie de centru si au fost descrise in alt capitol. (Valentin-Gamazo 2004). In Germania, costurile evaluarii, admiterea in spital, procedurile chirurgicale, si urmarirea donatorilor post transplant sunt acoperite de asigurarea beneficiarului. Datorita cresterii numarului potentialilor candidati si inaspririi criteriilor de selectie, donatorii potentiali sunt respinsi in 69-86% din cazuri (Valentin-Gamazo 2004; Pascher 2002). Avantajele LDLT includ posibilitatea de a realiza transplantul atunci cand este indicat din punct de vedere medical si o durata scurta a timpului de ischemie rece.

Procedurile chirurgicale pentru LDLT sunt mult mai dificile decat cele utilizate pentru transplant de la cadavru. La primitor cea mai dificila parte a operatiei este reconstructia ductului biliar, complicatii putand sa apara in procent de 16 -60 % din cazuri (Sugawara 2005).

Datele din literatura cu privire la prognosticul donatorilor variaza considerabil. (Patel 2007; Beavers 2002), putand sa apara complicatiile de tip: infectarea ranii, probleme pulmonare, tromboza vasculara cu scurgeri de bila, aderente si hernie la locul inciziei. Cele mai intalnite complicatii postoperatorii in LDLT sunt cele biliare, cu o frecventa de 7% intre donatori (Perkins 2008; Sugawara 2005). Regenerarea hepatica poate fi evaluata cu ajutorul studiilor imagistice si confirmata prin normalizarea bilirubinei, enzimelor hepatice, si parametrilor de sinteza hepatica. LDLT trebuie efectuat numai in centrele de transplant cu expertiza medicala corespunzatoare.

Complicatiile peri-transplant

In ciuda tehnicilor avansate de conservare a organelor, complicatiile postchirurgicale datorate leziunilor din timpul conservarii/reperfuziei nu au scazut foarte mult in ultimii ani. Leziunile ischemice din timpul transplantului sunt ischemia rece datorata conservarii prelungite si ischemia calda aparuta in timpul realizarii alogrefei.

Caracteristicile histologice tipice aparute in urma leziunilor de conservare si reperfuzie sunt reprezentate prin paloare centrilobulara si degenerarea prin balonizare a hepatocitelor, (Washington 2005) ceea ce conduce la cresterea nivelului de bilirubina, a gama glutamil transpeptidazei (γ GT) si a fosfatazei alcaline (FA). La 1.6-4% dintre pacienti apar complicatii vasculare precum tromboza arteriala hepatica (TAH) si de aceea postoperator se efectueaza frecvent examene Doppler ale arterei hepatice si venei porte. TAH aparuta timpuriu postoperator poate fi rezolvata prin trombectomie. TAH aparuta mai tarziu se rezolva prin colangiografie endoscopica retrograda interventionala (CER) in cazurile de stricturi ale ductului biliar; dar la majoritatea pacientilor necesita retransplantul datorita leziunilor intinse de la nivelul ductului biliar. Tromboza timpurie a venei porte este rara (<1%) dar poate duce la respingerea grefei daca nu exista revascularizare.

Grefa non-functionala primara este evidenta clinic imediat dupa revascularizarea alogrefei. Semnele timpurii ale disfunctiei hepatice includ timpul de coagulare prelungit, cresterea enzimelor hepatice (transaminaze, parametrii de colestaza) fara un trend descrescator, LDH crescut, si episoade de hipoglicemie. Grefa primara non-functionala reprezinta o situatie critica si necesita retransplantare imediata.

Majoritatea infectiilor bacteriene si fungice apar in prima luna post transplant hepatic. Este importanta diferentierea corecta intre colonizare si infectie reala. Agentii patogeni comuni includ microorganisme gram negative (enterobacteriacee, pseudomonas aeruginosa) si microorganisme gram pozitive (stafilococul aureus, enterococul faecalis, enterococul faecium). Dintre infectiile fungice, mai mult de 90% sunt infectii nosocomiale cu candida la nivelul ranilor, organelor intra-abdominale, sau cateterelor intravasculare (Singh 2003), iar aspergillus este responsabil de aproximativ 15% cazuri. Infectii fungice sporadice pot fi determinate de cryptococcus, mucor, trichosporon sau fusarium (Walsh 1999). Factorii de risc raportati pentru infectii includ varsta avansata, insuficienta renala, malnutritia, si un numar crescut de transfuzii peri-operator (Patel 1996).

Simptomatologia clinica a reiectiei acute a grefei nu este specifica, poate sa nu fie aparenta sau se poate manifesta prin febra, durere in cadranul drept superior si stare generala alterata. Biopsia hepatica este indispensabila pentru confirmarea diagnosticului reiectiei acute. Ca terapie de prima linie in reiectia acuta se recomanda doze crescute de steroizi (500-1000 mg de metilprednisolon timp de 3 zile).

Complicatiile pe termen lung post transplant hepatic

Datorita rezultatelor excelente imediat post transplant, accentul se pune pe reducerea complicatiilor pe termen lung, ce includ: infectiile oportuniste, reiectia cronica de duct, efectele secundare datorate imunosupresiei, inclusiv complicatiile cardiovasculare, malignitatile de novo, complicatiile biliare, osteoporoza si recurenta bolii.

Infectiile oportuniste

Infectiile oportuniste pe termen mediu si lung post transplant hepatic sunt in principal de origine virala si fungica. Dupa 6 luni, infectiile oportunistice bacteriene sunt rare la pacientii aflati sub terapie imunosupresiva stabila cu doze de intretinere scazute si o functie buna a grefei. Virusul citomegalic (CMV) reprezinta o cauza frecventa de infectie postr transplant (Figura 3). Diagnosticul prin determinarile Ag pp65 si PCR cantitativ au eficacitate similara pentru monitorizarea infectiei cu CMV la transplantatii hepatice (Martin-Davila 2005). Valganciclovir este un precursor cu administrare orala a ganciclovirului si prezinta avantaje variate fata de formulele originale (biodisponibilitate de 10 ori mai buna, frecventa de administrare mai scazuta, rata de aparitie a rezistentei mai scazuta) (Lake 2003). Un studiu clinic recent a demonstrat ca valganciclovir este la fel de eficient si sigur ca si ganciclovirul administrat intravenos in profilaxia bolii cu CMV in cazul transplantului de organe solide (inclusiv la transplantatii hepatice) (Paya 2004). Timpul de debut al bolii CMV si al viremiei au fost intarziate cu valganciclovir; ratele reiectiei acute de alogrefe au fost mai scazute la pacientii tratati cu valganciclovir.

Un numar crescut de copii ADN/EBV plasmatic si un nivel ridicat de imunosupresie (Smets 2002) sunt factori de risc ai bolii limfoproliferative post transplant, (postr transplant lymphoproliferative disease / PTLD).

Prezentarea clinica variaza si se manifesta prin alterarea starii generale cu oboseala, pierdere in greutate, amigdalita, adenopatie, si simptome gastrointestinale. PTLD este mai frecventa postr transplant hepatic la copii, dar se manifesta si la adulti intr-un procent de 15%. La pacientii cu o incarcatura virala mare, cea mai obisnuita metoda de preventie a PTLD este scaderea imunosupresiei. In transplantul cu celule stem hematopoietice tratamentul cu anticorpi monoclonali anti-CD20 (rituximab) suprima eficient replicarea virala (Opelz 2007). Intr-un studiu publicat recent s-a aratat ca 47.6 % dintre copii cu transplant hepatic si infectie EBV au prezentat niveluri nedetectabile de ADN/EBV in urma terapiei pe termen lung cu valganciclovir (Hierro 2008).

Simptomatologia infectiei cu virusul herpetic 6 (HHV)-6 poate varia de la infectia asimptomatica la simptomatologie severa (Lautenschlager 1998). In plus, HHV-6 si HHV-7 pot fi copatogeni directi sau indirecti in boala determinata de CMV. Reactivarea virusului herpes simplex la nivel facial postr transplant este comuna. Aparitia varicelei zoster post transplant este datorata terapiei imunosupresoare si tratamentul este aceiasi in cazul pacientilor imunocompetenti.

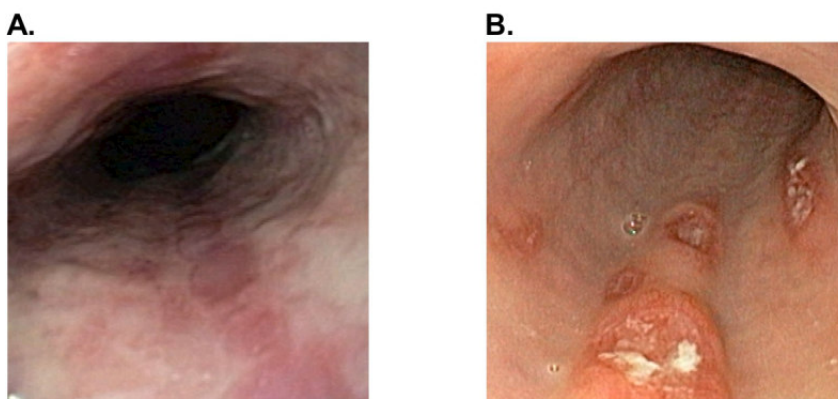


Figura 3. Infectia CMV in tractul gastrointestinal superior

[A.] Pacienti cu disfagie si discomfort epigastric cu multiple ulcere esofagiene longitudinale ce se pot fi vizualizate la endoscopie. [B.] Vizualizare endoscopica a ulcerelor esofagiene adanci cu necroza fibrinoida la un pacient imunocompromis. In ambele cazuri, leziunile au fost determinate de virusul citomegalic. Diagnosticul este dat de biopsia de mucoasa pozitiva si trebuie sa includa probe de la marginea si baza ulceratiei. Colaratiile tipice cu hematoxilina-eozina evidentiaza incluziunile intranucleare si intracitoplasmice in "ochi de bufnita"

Rejectia cronica de duct

Imbunatatirea regimurilor imunosupresoare a redus drastic incidenta rejectiei cronice de duct si esecul alogrefei. Rejectia cronica debuteaza in cateva saptamani, luni sau ani pot transplant si afecteaza pana la 4% - 8% dintre pacienti (Neuberger 1999). Factorii de risc pentru rejectia cronica includ leziunile imunologice aloimune si factori nonimunologici precum varsta inaintata a donatorului, timp prelungit de ischemie la rece, si ateroscleroza donatorului. Cea mai intalnita manifestare a rejectiei cronice de duct este arteriopatia obliteranta (Demetris 1997). Rejectia cronica poate trece neobservata si va fi evidentiata doar de valorile patologice ale constantelor hepatice (γ GT, AP, bilirubina, transaminazele). Diagnosticul trebuie confirmat de examenul histopatologic. La acesti pacienti optiunea terapeutica este modificarea regimului imunosupresor de baza, de la CSA la TAC si initierea terapiei de salvare cu mofetil micofenolat (MMF), (Daly 2002). Un studiu recent care investigheaza eficacitatea si siguranta anticorpilor anti receptori de IL-2 (daclizumab si basiliximab) pentru rejectia rezistenta la steroizi, arata un raspuns histopatologic rezervat in cazul rejectiei cronice, dar o rata buna de succes (75%) la pacientii cu rejectie acuta (Orr 2005).

Nefrotoxicitatea indusa de inhibitorii de calcineurina si protocele alternative imunosupresive

In ciuda introducerii unor noi agenti imunosupresivi (Tabel 4), inhibitorii de calcineurina (CNI) raman cheia regimurilor imunosupresoare. Atat ciclosporina A (CSA) cat si tacrolimus (TAC) inhiba complexul calcineurina-calmodulina si prin aceasta productia de IL-2. Insuficienta renala, datorata in principal nefrotoxicitatii CNI, reprezinta cea mai uzuala complicatie post transplant hepatic. Incidenta disfunctiei renale cronice a fost raportata la 70% dintre pacienti (Afonso 2008;

Ziolkowski 2003). Intr-un studiu de monitorizare a pacientilor post transplant, desfasurat timp de 13 ani s-a observat ca stadiul terminal de boala renala este prezent la 18% dintre pacienti (Gonwa 2001).

La pacientii transplantati hepatic cu nefrotoxicitate indusa de CNI, inlocuirea completa a CNI cu MMF a aratat rezultate diferite cu risc de rejectie intre 0% si 60% (Creput 2007; Moreno 2003; Stewart 2001; Moreno 2004; Schlitt 2001). MMF inhiba inozin monofosfat dehidrogenaza, o enzima critica in calea sintezei *de novo* purinelor. Rezultatele unor studii anterioare asupra regimurilor imunosupresive care includ MMF si tratamente de scurta durata cu CNI sugereaza o imbunatatire semnificativa a functiei renale la acest grup de pacienti (Cicinnati 2007a; Beckebaum 2004a; Raimondo 2003; Cantarovich 2003; Garcia 2003).

Sirolimus (SRL) este o macrolida izolata din *Streptomyces hygroscopicus*. Se leaga de o proteina inalt conservata, FKBP12, si de complexul rapamycin/FKBP12, si inactiveaza mTOR (mammalian target of rapamycin), considerat un switch principal al progresiei ciclului celular (Luan 2003). Reactiile adverse raportate pentru SRL includ incidenta crescuta a infectarii leziunilor si dehiscenta, TAH/tromboza arteriala hepatica, hiperlipidemie, trombocitopenie, leucopenie, si anemie. Efectul antifibrotic al SRL explica scaderea ratei de vindecare a leziunilor (Watson 1999). SRL este investigat in prezent in studii clinice ca agent alternativ sau complementar pentru CNI (Sanchez 2005; Neff 2003; Trotter 2003). Studii individuale au demonstrat beneficiul terapiei combinate cu SRL/MMF (Kniepeiss 2003; Maheshwari 2006). Recent, la pacientii cu CHC cu imunosupresie datorata SRL, s-a raportat un rezultat satisfacator si potentiala crestere a ratei de supravietuire (Kneteman 2004; Zimmerman 2008; Toso 2007).

Un inhibitor secundar al TOR, everolimus (ERL), prezinta biodisponibilitate imbunatatita si un timp de injumatatire mai mic decat SRL. Un studiu recent publicat a demonstrat ca everolimus in combinatie cu CSA administrat per os prezinta un profil acceptabil de siguranta si tolerabilitate (Levy 2006). Cu toate acestea, reactiile adverse au fost mai frecvente in grupul tratat cu ERL in comparatie cu grupul control. Nu a existat nici o diferenta cu privire la incidenta trombocitopeniei sau leucopeniei intre cele doua grupuri.

Clasa de imunosupresoare	Agentul imunosupresor
Corticosteroizi	Prednison, prednisolon, metilprednisolon
Inhibitori de calciuneurina	Ciclosporina A, tacrolim
Antimetabolici	Mofetil micofenolat, azatioprina
Inhibitorii TOR	Sirolimus, everolimus
Anticorpi policlonali	Globulina antitimocite (ATG)
Anticorpi monoclonali anti CD3	Muromonab CD3 (OKT3)
Anticorpi monoclonali himerici	Inhibitori anti IL-2 (daclizumab si basiliximab)
Anticorpi monoclonali anti C52	Alemtuzumab (campath-1H)

Tabel 4. Agentii imunosupresori utilizati in transplantul hepatic.

Alte efecte secundare ale CNI

In ciuda potentialei nefrotoxicitati, terapia cu CNI se asociaza cu reactii adverse care includ complicatiile cardiovasculare, tremor, cefalee, anormalitati ale electrolitilor, hiperuricemie, hepatotoxicitate, si simptomatologie gastrointestinala. Neurotoxicitatea, inclusiv tremorul, paresteziile, slabiciunea musculara, si accidentele vasculare apar frecvent la pacientii tratati cu TAC, hiperplazia gingivala si hirsutismul sunt asociate tratamentului cu CSA.

Reactiile adverse cardiovasculare datorate CNI si steroizilor sunt: hiperlipidemia, hipertensiunea arteriala, si diabetul (Beckebaum 2004b). Tratamentul hiperlipidemiei cu inhibitori de reductaza (statine) este sigur si bine tolerat.

Se recomanda evitarea steroizilor datorita dislipidemiei, osteoporozei, aparitiei cataractei, ingrasarii, hipertensiunii, si impactului negativ asupra controlului glucozei. Clinica Ochsner a investigat eficacitatea administrarii anticorpilor policlonali anti timocite proveniti de la iepure, (polyclonal rabbit anti-thymocyte globulin, RATG), urmata de monoterapia cu TAC, intr-un studiu prospectiv randomizat (Eason 2003). Comparativ cu grupul control tratat cu steroizi, post transplant, grupul tratat cu RATG plus TAC a prezentat o incidenta mai scazuta a diabetului, infectiei cu CMV si rejectiei nrcesitand administrarea steroizilor. Alti cercetatori au raportat rezultate incurajatoare pentru protocoalele in care nu se administrau steroizi, inclusiv terapia cu basiliximab (Filipponi 2004; Neuhaus 2002).

S-a raportat o prevalenta de 9-21% a noilor cazuri de diabet la pacientii post transplant hepatic (John 2002; Konrad 2000). Prevalenta diabetului post transplant este chiar mai mare daca sunt prezenti cofactori cum ar fi hepatita C. In diverse studii, s-a raportat ca potentialul diabetogen este mai mare la pacientii care primesc TAC fata de cei ce primesc CSA. In contrast, CSA are un efect mai intens asupra nivelului lipidelor. CSA poate actiona prin modularea activitatii receptorilor LDL sau prin inhibarea enzimei 26-hidroxilaza ce induce sinteza acidului biliar din colesterol.

Malignitati *de novo*

Malignitatile apar in 4-16% cazuri de transplant, procentele fiind estimate in functie de timpul de monitorizare, caracteristicile populatiei transplantate, tipul terapiei imunosupresoare si momentul transplantului (Fung 2001). Cele mai mari riscuri la persoanele transplantate sunt reprezentate de cancere de piele, altele decat melanoame, in principal carcinomul scuamos celular si carcinomul bazal celular (Figura 4), care apare in 6-70% din tumorile observate post PTLD (4.3-30%) (Yao 2006; Vallejo 2005).

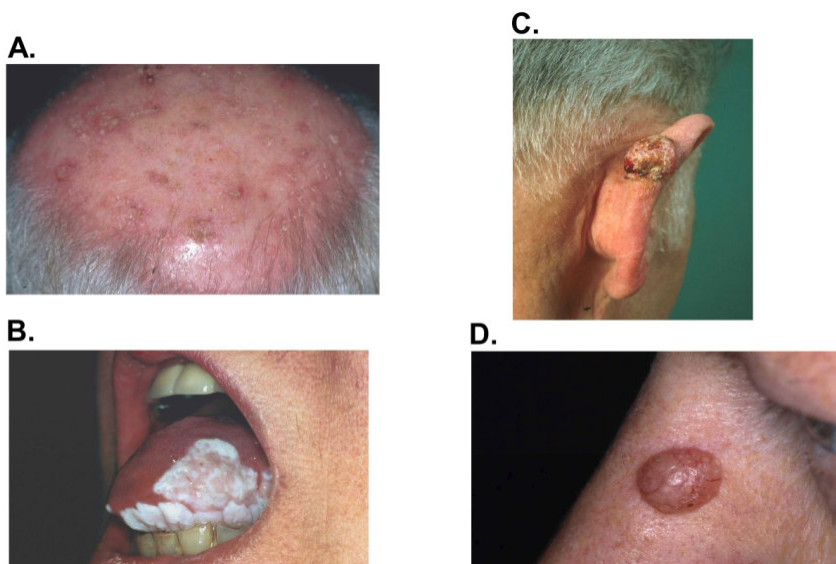


Figura 4. Neoplazii cutanate non-melanom si transplantul hepatic.

Primitorii de transplant de organ prezinta un risc crescut de aparitie a cancerului de piele nonmelanom comparativ cu cei fara transplant. Leziunile premaligne precum keratoza actinica [A.] se localizeaza predominant pe ariile expuse la soare. Carcinomul scuamos celular [B.,C.] este cel mai frecvent cancer de piele post transplant urmat de carcinomul bazal celular [D.] (Fotografiile oferite prin amabilitatea Dr. Hillen, Ambulator dermatologic de transplant , Departamentul de dermatologie, Spitalul universitar Essen, Germania).

Leziunile premaligne precum keratoza actinica sunt localizate in principal pe ariile expuse la soare. Carcinomul celular scuamos si carcinomul bazal celular sunt de 100 si respectiv de 10 ori mai frecvente la transplantati comparativ cu populatia imunocompetenta (Ulrich 2008). La transplantati se recomanda o examinare dermatologica anuala de rutina si masuri de protectie solara.

S-a raportat recent o tendinta de crestere a incidentei polipilor de colon si carcinomului de colon la pacientii imunosupresati post transplant. Este nevoie de studii mai ample pentru a determina daca monitorizarea pentru cancerul de colon ar trebui efectuata mai des post transplant (Rudraraju 2008). Studii recente au raportat o incidenta semnificativ crescuta a cancerelor digestive, si chiar pulmonare, la pacientii cu transplant hepatic care au avut boli hepatice asociate consumului de alcool (Vallejo 2005; Jimenez 2005). SRL exercita actiuni antiangiogenice corelate cu o scadere in producerea factorului de crestere vascular endothelial (VEGF) si inhibitia marcata a raspunsului celulelor endotelial vasculare la stimularea prin VEGH (Guba 2002). In plus, abilitatea SRL de a creste expresia E-cadherinei sugereaza ca acesta ar fi mecanismul prin care blocheaza cresterea tumerala regionala si progresia metastatica. Prin urmare nu numai pacientii transplantati in urma CHC dar si aceia cu malignitati *de novo* post transplant trebuie sa primeasca terapie imunospressoare cu SRL.

Complicatii biliare

Stricturile biliare reprezinta una din cele mai comune complicatii post transplant, cu o incidenta raportata 5.8-34% (Graziadei 2006). Factorii de risc care contribuie la aparitia stricturilor biliare includ ischemia/leziunile de reperfuzare, ischemia prelungita calda si rece, infectiile bacteriene si virale, (in special CMV), varsta, rejectia acuta si cronica, grea de dimensiuni mici, TAH, incompatibilitatea de grup sanguin, medicamentele hepatotoxice, si boli recurente virale sau colestatice. Spectrul complicatiilor biliare a crescut in ultimii ani, datorita transplantarii unor segmente hepatice si LDLT.

Colangiografia endoscopica retrograda (ERC) sau colangiografia percutanata transhepatica (PTC) au fost utilizate deseori ca prima optiune, lasand interventia chirurgicala ca rezerva pentru pacientii fara rezultat la interventiile endoscopice sau pentru cei cu leziuni difuze ale ductului biliar intrahepatic. Noile tehnici radiologice precum colangiopancreaografia prin rezonanta magnetica (MRCP) au fost introduse ca metode diagnostice complementare in complicatiile biliare.

Scurgerile biliare apar in general ca o complicatie timpurie posttransplant, in timp ce stricturile pot aparea la luni sau chiar ani postoperator. Eficacitatea si siguranta pe termen lung a tehnicilor endoscopice au fost evaluate in diferite centre de transplant (Qin 2006; Zoepf 2006; Pascher 2005). Stricturile nonanastomotice se asociază in mod obisnuit cu un raspuns mai putin favorabil la terapia endoscopica interventionala, in comparatie cu stenozele anastomotice (Figura 5). Un grup austriac a raportat aparitia stricturilor anastomotice la 12.6% din pacientii transplantati intre octombrie 1992 si decembrie 2003 si aparitia stricturilor nonanastomotice la 3.7% dintre acestia in cursul a 53.7 luni post transplant hepatic (Graziadei 2006). Manevrelor endoscopice interventionale au fost eficiente la 77% din pacientii cu stenoza anastomotica, in timp ce tratamentul stricturilor nonanastomotice a aratat eficacitate pe termen lung la 63% din pacienti. Abordarea chirurgicala a fost necesara la 7,4% din beneficiarii transplantului.

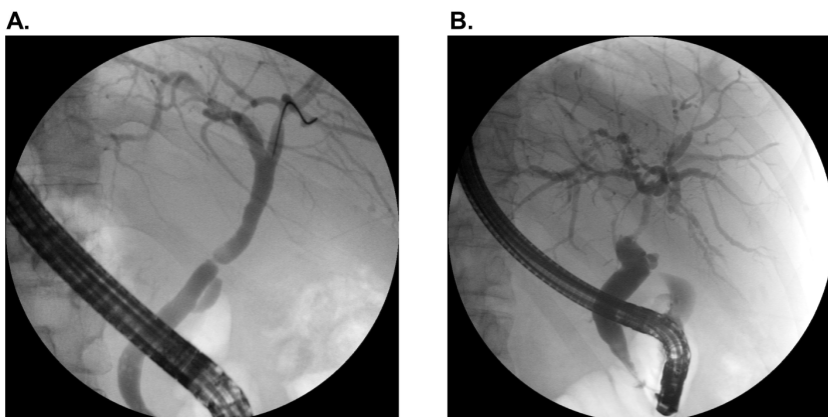


Figura 5. Complicatiile de tract biliar dupa transplantul hepatic

[A.] Colangiografia endoscopica retrograda (ERC) arata o strictura biliara anastomotica scurta filiforma la un pacient de 46 ani ce a suferit in urma cu 6 luni un transplant hepatic datorat ciro-

zei dezvoltate post infecție cu VHC și alcoolism. Terapia include dilatarea și un număr crescut de endoprotezări de duct biliar la intervale scurte de 2-3 luni. Înainte de terapia endoscopică se face sfinterotomia. [B.] ERC la un pacient de 41 ani transplantat datorită infecției cu VHC cu leziuni biliare de tip ischemic (tip 3) cu stricturi lungi nonanastomotice extinse proximal anastomozei și stricturi la nivelul întregului ficat.

La centrul de transplant al autorilor germani, au fost analizate retrospectiv rezultatele provenite de la 75 de pacienți transplantați supuși ERC pentru suspiciunea prezentei stricturilor anastomotice (Zoepef 2006). Dilatarea cu balon și terapia combinată cu dilatare și endoprotezare a fost eficientă în 89% și respectiv 87% din cazuri, iar recurențele au apărut în 62% și 31% din cazuri. Din acest motiv autorii germani recomandă în stricturile anastomotice dilatarea plus stenting cu reevaluare endoscopică. Sesiunile repetate de ERC sunt realizate prin creșterea diametrului endoprotezei la intervale de 3 luni și în paralel stenting dublu sau triplu în cazurile selectate. Până la 75% din pacienți nu au stent după 18 luni de la intervenția endoscopică (Tung 1999).

Tratamentul medical al stricturii de duct biliar constă în UDCA și aditional tratament antibiotic în colangita indusă de stricturi. Complicațiile asociate anastomozei biliointerice necesită PTC sau intervenție chirurgicală. Disfuncțiile ampulei și sfincterului Oddi apar la 5% din pacienții transplantați cu semne tipice de reflux biliopancreatic de substanță de contrast în timpul ERC. Centre diferite au raportat ca tratament endoscopic sfinterotomie sau stentul transpapilar (Clavien 1995; Douzdjian 1994). La pacienții cu pietre în vezica biliară, sfinterotomia endoscopică și extracția pietrelor au fost urmate de succes la aproape toți pacienții (Tung 1999).

Boala metabolică osoasă

A doua cauză de morbiditate după transplantul hepatic este reprezentată de boala metabolică osoasă. Ciroza hepatică și terapia cu corticosteroizi reprezintă factorii de risc în dezvoltarea osteoporozei. Screeningul prin osteodensitometrie este recomandat înainte transplantului hepatic. Pacienților cu valori ale densității osoase scăzute administrându-li-se calciu și vitamina D. Tratamentul cu bifosfonati reprezintă cea mai promițătoare abordare în managementul osteoporozei indusă de transplant la momentul actual (Ebeling 2007).

Recurența bolilor post transplant hepatic

Recurența poate apărea la pacienții transplantați pentru hepatita virală, tumori maligne, boli hepatice autoimune, colestatice sau alcoolice. Recurența hepatitei virale C la toți pacienții cu infecție activă, reprezintă cea mai importantă provocare în prevenirea progresiei bolii la nivelul allogrefei.

Recurența hepatitei B la nivelul allogrefei

Terapia combinată cu imunoglobulina specifică anti hepatita B (IGHB) și analogi nucleotidici sau nucleozidici reprezintă tratamentul de elecție la pacienții cu infecție VHB transplantați (Figura 6) (Han 2003; Yan 2006; Ferretti 2004; Beckebaum 2004c; Rosenau 2001; Yao 1999; Marzano 2005; McCaughan 1999), iar eficiența acestuia a fost îndelung studiată. Rata recurențelor diferă mult în studiile care au

recomandat terapia profilactica combinata, dar majoritatea acestor studii sunt realizate pe loturi mici, avand un numar diferit de pacienti cu hepatita activa la momentul transplantului hepatic si perioade diferite de monitorizare post-transplant. Exista o mare variabilitate a protocolului profilactic (in ceea ce priveste doza, durata tratamentului si modul de administrare a imunoglobulinelor). Profilaxia cu imunoglobuline costa aproximativ 1 euro per unitate. Administrarea pe termen lung a IGHB in centrul de transplant hepatic din Spitalul Universitar Essen, Germania, cuprinde 2000 IU/zi (intravenos) timp de 5 zile consecutive cu o frecventa individuala (cel mai probabil la fiecare 2-3 luni) pentru mentinerea nivelului de Ac anti-HBs la cel mult 100UI/L. Administrarea IGHB subcutanat s-a dovedit a fi superioara administrarii intramusculare sau intravenoase (Beckebaum 2008b). Acest mod de administrare este mai bine tolerat, fiind posibila si acasa, reducandu-se astfel timpul destinat consultatiilor. Rezultatele sunt asteptate dintr-un studiu paralel, in desfasurare, randomizat si prospectiv condus de catre Berlin Transplant Group, iar centrul de transplant Essen investigheaza eficacitatea si profilul de siguranta in cazul administrarii subcutanate a imunoglobulinei specifice la pacientii infectati cu VHB transplantati (BT088).

Considerentele economice au dus la discutii contradictorii cu privire la necesitatea imunizarii pasive nespecifice si daca terapia cu analogi nucleotidici/nucleozidici este suficienta in profilaxia antivirala (Naoumov 2001; Buti 2007; Gane 2007; Angus 2007; Neff 2007; Lo 2005; Wong 2007; Nath 2006; Yoshida 2007). Studiile au descris o rata neacceptabila a rezistentei la 2-3 ani, de aproximativ 30-40% sub monoterapia cu lamivudina in lipsa tratamentului initial cu IGHB (Tabel 5, vezi <http://hepatologytextbook.com/link.php?id=9>) (Marzano 2001; Jiao 2007; Zheng 2006) – acest regim monoprofilactic nefiind suficient, cu exceptia pacientilor seropozitivi doar pentru Ac anti-HBc.

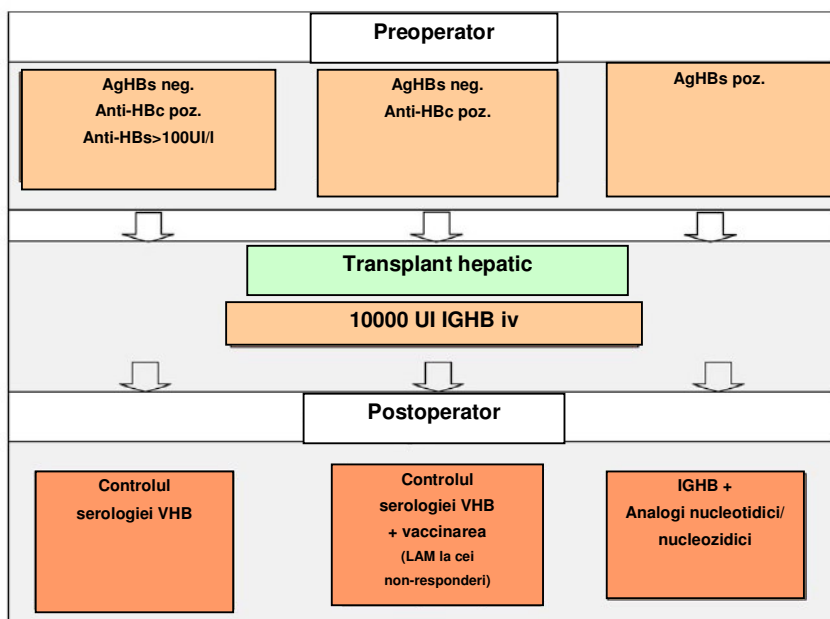


Figura 6. Profilaxia recurenței hepatitei B după transplantul hepatic

La pacienții cu AgHBs pozitiv pre transplant hepatic, terapia combinată cu analogi nucleotidici sau nucleozidici și imunoglobuline specifice (IGHB) reprezintă în prezent standardul de aur în profilaxia reinfectiei grefonului cu VHB post transplant hepatic. Pacienții cu Ac antiHBc pozitivi și cu Ac antiHBs negativi sau cu titrul < 100UI/L ar trebui vaccinați în conformitate cu Ghidul German (Cornberg 2007). În cazul unui răspuns virologic absent sau insuficient (Ac anti HBs < 100UI/L) se inițiază monoterapia cu lamivudina la pacienții cu titru protector, Ac anti HBs > 100UI/L, terapia antivirală nu se recomandă, dar se impune o monitorizare pe termen lung a serologiei VHB, incluzând și determinarea Ac antiHBs.Neg.- negativ; poz.-pozitiv.

Un studiu retrospectiv realizat pe o cohortă mică de pacienți cu VHB nereplicativ a analizat efectele schimbării terapiei de la IGHB și LAM (150 mg/zi) la ADV (5 mg/zi)/LAM (150 mg/zi) după o perioadă medie de timp post-transplant de cca 6,5 luni (Neff 2007) (Tabelul 5). Perioada de timp de urmarire după schimbarea tratamentului a fost de 21 de luni, nici un pacient neprezentând creșteri ale transaminazelor pe parcursul dublei terapii cu analogi nucleozidici/nucleotidici. Autorii au menționat că testele serologice pentru VHB au fost efectuate, dar nici un rezultat nu a fost consemnat după schimbarea terapiei. Un alt studiu deschis, multicentric, prospectiv a urmarit eficiența și profilul de siguranță al terapiei combinate LAM/ADV la pacienții transplantați hepatic cu AgHBs pozitiv (Gane 2007) (Tabel 5). Pacienții cu rezistență clinică și virologică la LAM au fost excluși. Terapia combinată cu analogi nucleotidici/nucleozidici este inițiată în conformitate cu lista de așteptare. Perioada medie de timp alocată terapiei antivirale înainte de transplantul hepatic a fost de 3,6 luni. IGHB (800 IU im) a fost administrat doar o săptămână post transplant. Au fost transplantați 19 pacienți pe durata întregului studiului și niciunul nu a prezentat hepatită recurentă timp de aproximativ 11,7 luni de supraveghere. Același grup conduce un studiu comparativ

intre pacientii care au schimbat terapia de la IGHB/LAM la LAM/ADV si cei care au mentinut terapia cu IGHB/LAM (Tabelul 5) (Angus 2007). Un singur pacient din grupul care a schimbat terapia prezinta Ag HBs pozitiv, dar ramane cu ADN VHB negativ, toti ceilalti au ramas negativi pentru Ag HBs si pentru ADN VHB, dupa 17,2 luni de supraveghere.

Rezultate asemanatoare au fost obtinute de Nath si colab. (2006) (Tabelul 5). Pana in prezent studiile sunt limitate pe cohorte mici, iar perioada de supraveghere este scurta (Tabelul 5). Sunt necesare studii ample, prospective, pentru a demonstra daca combinatia intre un analog nucleozidic si unul nucleotidic este suficienta ca strategie profilactica in cazul recurentei infectiei cu virus hepatitic B.

Au fost studiatii 16 pacienti cu rezistenta la LAM carora li s-a administrat in perioada transplantului hepatic LAM/ADV (Lo 2005). Jumatate dintre pacienti au primit IGHB timp de aproximativ 24 de luni. Nici unul nu avea viremie detectabila, 13 pacienti au prezentat Ag HBs negativ, iar doi pacienti, in lipsa terapiei combinate cu IGHB au devenit Ag HBs pozitivi.

Dupa o perioada lunga de supraveghere, au fost publicate rezultatele finale ale tratamentului cu ADV la pacientii transplantati si rezistenti la LAM (Schiff 2007). In saptamanile 48 si 96 de tratament, valoarea medie a viremiei scade cu 4.0 ± 1.6 si respectiv $4.5 \pm 1.5 \log_{10}$ copii/ml, ajungand la valori nedetectabile la un procent de 40%, respectiv 65% dintre pacienti. Dupa 48 de saptamani de terapie, valorile ALT-ului, ale bilirubinei, ale albuminei si protrombinei se normalizeaza in procent de 51%, 76%, 81% si respectiv, 76%. Kaplan-Meier estimeaza rata de supravietuire la acesti pacienti transplantati in saptamanile 48, 96, 144 de aproximativ 91%, 88% si respectiv 87%. Colectarea incompleta a datelor nu permite compararea ratelor de rezistenta intre pacientii cu terapie combinata LAM/ADV si cei care primesc doar monoterapie cu ADV.

Alegerea terapiei antivirale la pacientii cu recurenta a infectiei cu VHB depinde de medicatia antivirala curenta, de incarcatura virala si de profilul de rezistenta antiviral. Nu exista nici o motivatie pentru continuarea terapiei cu IGHB in cazul reaparitiei replicarii virale cu ADN VHB detectabil. Rezistenta la anumite antivirale poate fi stabilita cu usurinta prin metode de genotipare care sa identifice mutatiile specifice, cunoscute a fi asociate cu o scadere a susceptibilitatii fata de un anumit medicament.

Utilizarea cu succes a TDF (tenofovir) a fost observata la opt pacienti transplantati care au dezvoltat rezistenta la LAM intr-o perioada medie de supraveghere de cca 26 de luni si a caror medicatie a fost schimbata cu TDF la 1-66 luni post transplant (Neff 2007). La toti pacientii s-a obtinut supresia incarcaturii virale, iar la sapte dintre ei viremia a devenit nedetectabila.

Datele obtinute sugereaza avantajele folosirii TDF, din cauza activitatii antivirale scazute a ADV si a cresterii potentialului sau nefrotoxic (van Bommel 2008), parand justificata schimbarea medicatiei si administrarea de TDF, atunci cand s-a instalat rezistenta, in locul adaugarii ADV la LAM (Cornberg 2008; Cornberg 2007). In cazul pacientilor transplantati hepatic, sunt asteptate rezultatele studiilor dupa administrarea terapiei combinate cu TDF si LAM, TDF si ETV (entecavir) sau TDF si emtricitabina.

Experienta in utilizarea terapiei cu ETV la pacientii cu transplant hepatic este limitata (Study 109 [<http://www.clinicaltrials.gov>], Shakil 2002). Intr-un studiu deschis, multicentric (A1463015), pe noua pacienti transplantati, s-a evaluat eficienta antivirala, profilul de siguranta si farmacocinetica acestui medicament (Shakil 2002). In saptamana 48 de tratament, toti pacientii prezinta o scadere a incarcaturii virale $\geq 2 \log_{10}$ copii/ml si patru dintre ei au obtinut normalizarea transaminazei serice. Un singur pacient a obtinut seroconversia si RVS.

Recurenta hepatitei C la nivelul allogrefei

Importanta infectiei cu VHC asupra histologiei allogrefei este variabila. In ciuda incarcaturii virale, afectarea hepatica difera, de la absenta sau usoara pana la ciroza hepatica in tesutul allogrefei (aproximativ 25% din primitori pe o perioada de supraveghere de 5-10 ani) (Berenguer 2003a). Exista pacienti care obtin un raspuns virologic sub terapie, dar prezinta inca progresie a fibrozei hepatice (Cicinnati 2007b). La pacientii cu infectie VHC transplantati s-a raportat o rata de supravietuire mai mica comparativ cu cei care au alte indicatii ale transplantului (Berenguer 2007; Forman 2002; Testa 2000). Dupa diagnosticarea cirozei, riscul decompensarii creste (17% si 42% la 6, respectiv 12 luni) (Berenguer 2000) si rata de supravietuire a pacientilor scade (66% si 30% la 1 si respectiv 5 ani) (Saab 2005).

S-a sugerat ca anumiti factori pot accelera rata de reinfectie cu VHC la nivelul allogrefei (Belli 2007; Berenguer 2003b; Iacob 2007; Saab 2005). Importanta variabilitatii (Tabelul 6) a fost discutata pe larg, cu exceptia factorilor enumerati in cazul donatorilor sau a dozelor crescute de corticosteroizi si a terapiei OKT3. Exista date insuficiente si oarecum controversate in ceea ce priveste legatura dintre agentii imunosupresivi si expresia clinica a recurenteii infectiei cu VHC (Tabelul 7). TAC (tacrolimus) si CSA (ciclosporina) nu par a fi in mod semnificativ diferite (Berenguer 2006a; Lake 2003; Martin 2004; Hilgard 2006) in ceea ce priveste impactul lor in evolutia recurenteii hepatitei cu VHC. Diferite studii au aratat ca administrarea unor mici doze de corticosteroizi poate preveni progresia spre formele severe ale bolii recurente (Brillanti 2002; Berenguer 2002; McCaughan 2003).

Inductia cu MMF (mycofenolat mofetil) este asociata cu recurenta severa a infectiei cu VHC (Berenguer 2003). Pe baza parametrilor biochimici si a evolutiei histologice unii cercetatori au aratat ca MMF nu are impact asupra supravietuirii pacientilor, asupra ratei de rejectie sau asupra procentului de recurenta in cazul pacientilor transplantati infectati cu VHC (Jain 2002). Un studiu recent raporteaza supravietuirea mai buna a pacientului si a grefei daca se recomanda tratamentul cu MMF, TAC si steroizi in comparatie cu cei tratati doar cu TAC si steroizi, astfel la 4 ani ratele de supravietuire ale pacientilor sunt de 79,5% vs. 73,8%, iar ale grefei sunt de 74,9% vs. 69,5% (Wiesner 2005). Alt studiu arata un efect pozitiv al combinatiei MMF si CNI asupra progresiei fibrozei, gradului de inflamatie al grefei si nivelului de ALT pe o perioada de 24 de luni (Bahra 2005). Acest lucru poate fi datorat efectului antifibrotic al MMF.

Factori care tin de donator	Varsta donatorului Steatoza hepatica
Factori care tin de primitor	Factori chirurgicali(timpul ischemiei calde/reci) Varsta primitorului Sexul primitorului Rasa non-caucaziana Incarcatura virala crescuta pretransplant/ imediat post transplant Genotipul 1b Muromonab-CD3(OKT3)

Tabelul 6. Factori care pot accelera progresia bolii hepatice la pacientii infectati cu VHC dupa transplantul hepatic.

Agenti imunosupresori	Incarcatura virala	Severitatea recurenteii infectiei VHC
Inhibitori de calcineurina	Fara diferente intre Ciclosporina A si sirolimus	Fara diferente intre Ciclosporina A si sirolimus
Corticosteroizi in bolus	↑	↑
Azatioprina	↓ (in replicon)	Discutii contradictorii
Micofenolat mofetil	Discutii contradictorii	Discutii contradictorii
Agenti epuizanti de limfocit T	Nu se cunoaste	Discutii contradictorii
Sirolimus	Nu se cunoaste	Nu se cunoaste

Tabelul 7. Impactul imunosupresiei asupra recurenteii hepatitei virale C si asupra viremiei

Cu privire la SRL (sirolimus), sunt putine cazuri raportate si nici o data publicata in urma studiilor control randomizate efectuate la pacienti infectati cu VHC (Samonakis 2005; Schacherer 2007). Exista date insuficiente despre evolutia reinfectiei cu VHC sub influenta receptorilor anticorpilor, de asemenea anti-IL-2 (Nelson 2001; Calmus 2002). Rezultatele unui studiu control randomizat, multicentric arata ca terapia de inductie cu IL-2 a fost asociata cu o rata mai scazuta de mortalitate si de pierdere a allogrefei la 6-12 luni post transplant hepatic (Calmus 2002).

Pe o perioada medie sau lunga post transplant hepatic valoarea ARN VHC nu se coreleaza cu severitatea inflamatiei hepatice. In cazul pacientilor cu hepatita cronica C transplantati, evaluarile histologice periodice la 1 an (maxim 2 ani) sunt recomandate pentru a determina gradul de inflamatie si stadiul fibrozei. Rezultatul biopsiei este important pentru stabilirea strategiei terapeutice, pentru determinarea semnelor de rejet de grefa inaintea inceperii tratamentului antiviral si pentru evaluarea eficacitatii terapiei antivirale. Cu toate ca sunt doar cateva rezultate publicate, in prezent exista studii in desfasurare care evalueaza rolul fibroscan-ului in transplantul hepatic.

Se observa cresterea numarului de studii care sustin ca terapia combinata cu IFN alfa si ribavirina poate preveni dezvoltarea cirozei, chiar si in lipsa unui raspuns virusologic sustinut (Cicinnati 2007b). Acest tratament se asociaza insa cu efecte secundare numeroase si este mai putin eficient decat la pacientii netransplantati. Recurenta infectiei VHC determinand raspuns virusologic sustinut in 20-30% din cazuri. Terapia antivirala preemtiva (Shergill 2005; Sugawara 2004; Sheiner 1998; Singh 1998; Chalasani 2005) nu are efecte superioare in comparatie cu cea recomandata de rutina (Berenguer 2008; Chalasani 2005; Abdelmalek 2004; Giostra 2004; Beckebaum 2004d; Beckebaum 2003; Bizollon 2005; Castells 2005; Toniutto 2005; Neff 2004; Dumortier 2004) si ar trebui prescrisa doar in cazurile cu progresie rapida a infectiei VHC imediat dupa transplant. Majoritatea studiilor despre transplantul hepatic nu sunt controlate, sunt monocentrice si cuprind o cohorta mica de pacienti (Shergill 2005; Sugawara 2004; Gane 1998; Kizilisik 1997; Ghalib 2000).

Momentul optim de initiere a tratamentului, doza si durata lui nu sunt cunoscute inca. Factorii predictivi pozitivi pentru raspunsul virusologic sustinut includ recomandarea eritropoietinei, complianta pacientilor la terapie, utilizarea interferonului pegylat (versus interferon standard) si obtinerea unui raspuns histologic timpuriu (Berenguer 2006b).

Procentul pacientilor la care se reduce doza tratamentului antiviral din cauza anemiei sau leucopeniei, poate fi diminuat prin administrarea eritropoietinei sau a factorului de stimulare a coloniilor granulocitare-macrofagice (neaprobat inca pentru aceasta indicatie). Riscul de rejet raportat este mic daca se asigura o buna monitorizare a terapiei antivirale (Gane 1998; Kizilisik 1997). Medicatia trebuie intrerupta in cazul modificarilor histologice specifice rejetului de grefa.

Recurenta hepatitelor colestatice si autoimune

Datele din literatura difera in ceea ce priveste frecventa de aparitie a recurentei hepatitelor colestatice si autoimune, in functie de perioada de urmarire si de criteriile alese in definirea bolii recurente.

In prezent, in USA a sasea cauza cu indicatie de transplant hepatic este reprezentata de CPB (colangita primara biliara). Prognosticul dupa transplantului hepatic este excelent, rata de supravietuire la 5 ani fiind de 80%, in majoritatea centrelor mari. Rezultatul unui studiu recent raporteaza recurenta CPB post transplant la un sfert dintre pacienti intr-un interval de 11-13 ani (Charatcharoenwithaya 2007). Numeroase alte studii demonstreaza recurenta CPB, asa cum este exemplificat in tabelul 8 (vezi <http://hepatologytextbook.com/link.php?id=10>, Jakob 2006; Sylvestre 2003; Liermann-Garcia 2001; Dmitrewski 1996).

Diagnosticarea CPB la pacientii transplantati hepatic este mai dificila decat in cazurile de novo. Imunoglobulina M si anticorpii antimitocondriali (AMA) persista adesea, iar valorile ridicate ale enzimelor de colestaza pot fi datorate si altor cauze provocatoare de leziuni ale ductului biliar, cum ar fi colangiopatia ischemica sau rejetul cronic ductopenic. Diagnosticul de recurenta a CPB este unul histologic si daca biopsia se efectueaza doar la aparitia semnelor clinice, frecventa recurentei CPB va fi subestimata.

Anumiti cercetatori au descoperit ca terapia imunosupresoare bazata pe CSA se asociaza cu o rata de recurenta mai scazuta comparativ cu tratamentul cu TAC (Dmitrewski 1996; Wong 1993). Impactul acidului ursodeoxicolic (UDCA) asupra evolutiei naturale a bolii recurente ramane necunoscut. In clinica Mayo s-au evaluat pacienti transplantati cu boala recurenta, pe o perioada de 36 de luni, 50% dintre cei cu CPB, carora li s-a administrat UDCA, au inregistrat o normalizare a ALT-ului si a fosfatazei alcaline serice, comparativ cu procentul de 22% obtinut la pacientii netratati cu UDCA (Charatcharoenwithaya 2007). Nu au fost observate diferente semnificative din punct de vedere al progresiei histologice in grupul pacientilor tratati, in comparatie cu cei netratati, procentul pacientilor cu progresie histologica a fost semnificativ scazut in randul celor care au obtinut imbunatatirea parametrilor biochimici dupa tratament.

La pacientii cu CPB importanta este compatibilitatea intre donator si primitor in sistemul HLA-A, -B, si -DR, deoarece scade riscul bolii recurente (Morioka 2007; Hashimoto 2001). Relatia intre rezultatele transplantului hepatic si recurenta CPB post transplant trebuie investigate in situatiile cu LDLT si DDLT (transplant hepatic de la donator viu si transplant hepatic de la donator decedat).

Rata de recurenta raportata pentru PSC (colangita sclerozanta primara) dupa transplantul hepatic variaza intre 9% si 37% (Cholongitas 2008; Yamagiwa 2007; Vera 2002; Graziadei 1999; Goss 1997). CPS este diagnosticata histologic si/sau imagistic prin vizualizarea arborelui biliar si prin excluderea altor cauze de stricturi biliare nonanastomotice. Determinarile histopatologice in CPS includ colangita fibrozanta, leziunile fibro-obliterative, ductopenia si fibroza biliara. Intr-un studiu recent din clinica Mayo, la pacientii la care s-a exclus alte cauze de stricturi ale ductului biliar, CPS a fost diagnosticata cu ajutorul colangiografiei si a criteriilor histologice (Graziadei 2002). Din cauza lipsei criteriilor standardizate de diagnostic histologic a recurentei CPS, se va recomanda utilizarea colangiografiei.

Evoluția clinică a colitei ulcerative a fost cercetată la pacienții cu CPS transplantați (Ho 2005). Cu toate că s-a realizat imunosupresia, 20% dintre pacienți devin dependenți de corticosteroizi după transplantul hepatic și vor necesita doze mai mari de medicament și se va observa creșterea numărului de recaderi. Un studiu recent arată că menținerea administrării de steroizi (> 3 luni) în cazul colitei ulcerative aparute post-transplant hepatic reprezintă factorul de risc important al recurenței CPS (Cholongitas 2008).

Rezultatele unor studii variate nu au arătat nici o diferență în perioada de supraviețuire a pacienților sau a greșei la cei cu sau fără recurență a CPS (Ben-Ari 2003; Graziadei 2002).

Recurența hepatitei autoimune (AIH) a fost observată la aproximativ un sfert dintre pacienți într-o perioadă de supraveghere de ≥ 5 ani (Duclos-Vallee 2003; Campsen 2008a; Vogel 2004). Incidența recurenței crește odată cu trecerea timpului și cu scăderea imunosupresiei (Prados 1998). O perioadă de urmărire mare (>10 ani) realizată de un grup de cercetători francezi arată că recurența hepatitei autoimune apare la 41% dintre pacienți. Autorii recomandă efectuarea cu regularitate a biopsiilor hepatice, deoarece la aproximativ un sfert dintre pacienți semnele histologice preced anomaliile biochimice hepatice (Duclos-Vallee 2003). Diagnosticul recurenței hepatitei autoimune include rezultatele histologice, prezenta autoanticorpilor și creșterea gamma-globulinelor. Majoritatea studiilor publicate nu confirmă rolul prognostic al anticorpilor la pacienții transplantați cu hepatită autoimună. Date contradictorii există în literatură cu privire la antigenele de clasă HLA care predispun pacientul la recurența AIH după transplantul hepatic (Gonzalez-Koch 2001; Molmenti 2002). Semnele histologice ale recurenței se localizează la suprafața hepatică determinând infiltrare limfoplasmocitară și/sau implicare lobulară. Analiza datelor pe o perioadă cuprinsă între anii 1987-1999 la un lot de 28 de pacienți cu hepatită autoimună, raportează rata de supraviețuire la 5 ani de aproximativ 78,2%, neobservându-se diferențe semnificative comparativ cu lotul control de pacienți diagnosticați cu boli genetice (Vogel 2004). Totuși pacienții au mai multe episoade de rejecție acută comparativ cu cei din lotul control.

Pacienții cu hepatită autoimună primesc doze scăzute de steroizi după transplantul hepatic. Centrul de transplant din Colorado intenționează să reducă sau să oprească terapia cu steroizi la pacienții cu hepatită autoimună transplantați (Campsen 2008a). S-a descoperit că doza crescută de imunosupresive și prezenta bolii inflamatorii intestinale se asociază în mod negativ cu intreruperea steroizilor.

Evoluția pacienților transplantați pentru boli hepatice maligne

Rezultatele timpurii ale unor studii despre transplantul hepatic la persoanele cu CHC (carcinom hepato-celular) sunt dezamăgitoare. Mai mult de 60% dintre pacienți vor dezvolta recurențe tumorale în primii doi ani după transplant (Ringe 1989), iar rata de supraviețuire la 1, respectiv 5 ani a fost de 42-71%, respectiv 20-45% (Busuttill 1996; Yokoyama 1990). În prezent, ținând cont de criteriile Milano, rata de supraviețuire la 1 an este de peste 80%, la 5 ani este mai mult de 70%, iar rata de recurență este de 10-15% (Yoo 2003; Zavaglia 2005). Într-o analiză a

factorilor predictivi ai ratei de supravietuire si ai celei de supravietuire fara tumora intr-o cohorta de 155 pacienti transplantati, gradul histologic de diferentiere si invazia vasculara sunt predictorii independenti ai supravietuirii si ai recurentei tumorale la pacientii cu CHC transplantati (Zavaglia 2005).

S-a discutat pe larg extinderea criteriilor Milan cu un set de criterii elaborate de UCSF (formatiune tumorala singulara ≤ 6.5 cm, 2-3 formatiuni tumorale: nici una >4.5 cm sau diametrul total ≤ 8 cm, fara invazie vasculara) sau chiar a unor criterii mai putin rigide (fara invazie portala, fara boli extrahepatice) (Sotiropoulos 2007; Kaihara 2003; Malago 2006; Lo 2004). Centre precum Grupul de transplant din San Francesco si Grupul de transplant UCLA au demonstrat ca rata de supravietuire la 5 ani post transplant hepatic este de 50-80% chiar pentru tumorile mai mari decat cele indicate in criteriile de la Milano, dar cuprinse in limita criteriilor de la UCSF (Duffy 2007; Yao 2007). Extinderea acestor criterii in situatia LDLT reprezinta o provocare mare din cauza riscului observat la persoanele donatoare si a selectiei de formatiuni tumorale cu prognostic nefavorabil (Hiatt 2005). In conformitate cu criteriile UCSF, un studiu multicentric din Coreea, raporteaza la cei cu LDLT o rata de supravietuire la 3 ani de 91% si de 88% la cei cu DDLT (Hwang 2005). Alt studiu coreean (Lee 2008) raporteaza rate de supravietuire comparabile tinand cont de criteriile de la Milano, de cele UCSF sau de alte criterii mai largite (formatiuni tumorale cu dimensiuni mai mari ≤ 5 cm, numarul de CHC ≤ 6 , si fara invazia vaselor mari) (76%, 75.9% si respectiv 76.3%). Folosirea criteriilor medicale extinse duc la o discriminare mai mare decat cele de la Milano sau UCSF. De curand, grupul nostru de transplant a reusit extinderea limitei de varsta (>60 ani); a scorului MELD >22 si a AFP >400 ng/mL, acestea au fost asociate in sens negativ cu rata de supravietuire a pacientilor cu CHC care trec prin LDLT (Sotiropoulos 2008b). Folosirea noilor tehnici de biologie moleculara, cum ar fi genotiparea pacientilor cu CHC, pot fi relevante in stabilirea perioadei de supravietuire fara recurente si in alocarea organelor compatibile.

Noua terapie adjuvanta, radiochimioterapia, secundara transplantului hepatic, determina rezultate promitatoare la pacientii cu carcinom colangiocelular hilar localizat, nerezecabil (CCC) (Rea 2005; Shimoda 2001). Riscurile transplantului hepatic asociate radiochimioterapiei includ injuriile tisulare si complicatiile vasculare, de exemplu tromboza arteriala hepatica. Factorii predictivi ai raspunsului la radiochimioterapia premergatoare transplantului hepatic trebuie bine determinati (Heimbach 2008). Factorii predictivi ai recurentei post transplant sunt varsta inaintata, markerii tumorali cu valori crescute pretransplant, dimensiunea tesutului tumoral rezidual la nivelul grefonului explantat >2 cm, stadiul tumoral, colecistectomie anterioara transplantului si invazia perineuronala (Knight 2007).

Leziunile metastatice provenite din tumorile neuroendocrine (TNE) secreta hormoni (peptide sau aminoacizi) sau se pot prezenta ca formatiuni tumorale fara o functie specifica (Frilling 2006; Coppa 2001; Lehnert 1998). Ele se caracterizeaza prin crestere lenta si frecventa metastazarilor hepatice, dar extinderea la nivelul ficatului poate fi limitata pentru perioade mari de timp. Datele recente publicate de la pacientii cu TNE transplantati sunt limitate si provin dintr-o cohorta mica, ceea ce sugereaza ca transplantul hepatic in cazul acestor pacienti trebuie luat in considerare doar in anumite situatii. Sunt necesare studii prospective pe termen lung pentru definirea criteriilor de selectie in cazul pacientilor cu TNE transplantati, in

vederea identificarii factorilor predictivi ai recurente si pentru determinarea importantei localizarii tumorii primare in supravietuirea post-transplant a pacientului.

Recurenta abuzului de alcool la pacientii cu hepatite alcoolice transplantati

Hepatitele alcoolice au devenit una din indicatiile importante ale transplantului hepatic si reprezinta a doua cauza de transplant din Europa si Statele Unite. Rata de supravietuire a pacientului si a grefei este excelenta la cei care isi mentin abstinenta la alcool dupa transplantul hepatic. Studiile care evalueaza recurenta consumului de alcool au raportat ca incidenta medie a recaderilor apare la o treime dintre pacienti cu limite intre 10% si 50% dupa 5 ani de supraveghere (Burra 2005). S-a dezbaturat in detaliu rolul perioadei de abstinenta pretransplant ca factor predictiv al abstinentei post transplant. Multe studii au stabilit factorii de risc posibili ai recurentei alcoolice dupa transplantul hepatic ca de exemplu: o perioada scurta de abstinenta inaintea transplantului hepatic, mai mult de o recadere inaintea transplantului, abuzul de alcool la rudele de gradul intai, varsta tanara si dependenta de alcool (Perney 2005). Prognosticul cu privire la mentinerea abstinentei post-transplant conform datelor obtinute la Centrul de Transplant din Pittsburgh, este mai favorabil la pacientii diagnosticati cu abuz alcoolic, comparativ cu cei cu dependenta alcoolica (DiMartini 2008).

Un studiu recent publicat asociaza rata crescuta de recaderi cu starea sociala precara, cu istoricul de alcoolism familial si cu abstinenta pretransplant ≤ 6 luni (Dew 2008). In plus, un studiu din Australia identifica comorbiditatile psihiatrice sau scorul mai mare de 3 pe baza scalei de risc inalt de recadere alcoolica (HRAR) ca fiind factori predictivi ai recaderilor (Haber 2007). Informatiile despre consumul anterior de alcool (dependenta, numarul de recaderi, istoric familial) sunt importante pentru prognosticul recurente dupa transplantul hepatic (Perney 2005). Consumul cronic de mari cantitati de alcool post-transplantul hepatic scade in mod semnificativ rata de supravietuire pe termen mediu si lung (Pfitzmann 2007; Bellamy 2001).

Evaluarea transplantului hepatic la pacientii cu boli hepatice metabolice

Transplantul hepatic este privit ca strategie terapeutica eficienta in cazul pacientilor cu boala Wilson care prezinta evolutie grava a cirozei, fara raspuns la medicatie, pentru cei la care boala cronica hepatica se acutizeaza sau la cei cu hepatita fulminanta. Transplantul hepatic influenteaza metabolismul anormal al cuprului prin transformarea cineticii cuprului de la fenotipul homozigot la cel heterozigot, ceea ce determina o crestere corespunzatoare a ceruloplasminei si o scadere a excretiei cuprului urinar dupa transplant. Spitalul Kings College raporteaza incepand cu anul 1994 la pacientii cu boala Wilson rezultate excelente pe termen lung dupa transplantul hepatic, fara decese sau pierderea grefei, cu rata de supravietuire la 5 ani a grefei si a pacientului de 87,5% (Sutcliffe 2003). Exista cateva date in literatura care indica o revenire a simptomatologiei neurologice dupa transplantul hepatic (Martin 2008; Sevmis 2008). Evolutia simptomatologiei neurologice este inca imprevizibila si ramane sa fie dezbaturat daca transplantul

hepatic este indicat in cazul pacientilor cu determinari neurologice severe (Pabón 2008).

Deficitul de alfa-1-antitripsina este una din cele mai intalnite cauze genetice a bolilor hepatice in lume. Acest deficit este frecvent in patologia pediatrica a transplantului hepatic, dar reprezinta o indicatie rara in patologia adultului. S-a sugerat ca un subgrup de indivizi PIZZ sunt predispusi la afectiuni hepatice din cauza insuficientei degradari a alfa-1 antitripsinei Z mutanta la nivelul reticulului endoplasmic (Perlmutter 1998). Rata de supravietuire la un an, raportata in literatura, a fost de 73% in cazul adultilor (Vennarecci 1996).

In cazul hemocromatozei, defectul metabolic este la nivelul intestinului subtire, in timp ce transplantul hepatic trateaza deficitul metabolic al ficatului. Corectarea prin terapie a depletiei fierului inaintea transplantului hepatic este indicata deoarece poate fi asociata cu obtinerea unor rezultate mai bune post transplant (Weiss 2007). S-a aratat ca rata de supravietuire post transplant hepatic in cazul hemocromatozei ereditare este marcat scazuta comparativ cu alte indicatii ale transplantului (Brandhagen 2001). Intre anii 1982-1991, date despre 56 de pacienti cu hemocromatoza comparativ cu 5180 pacienti transplantati hepatic din cauza altor indicatii clinice, a aratat o rata de supravietuire la un an de 69% vs. 79%, iar la 5 ani de 43% vs. 54% (Kilpe 1993). Datele din baza UNOS indica rate de supravietuire la un an, respectiv 5 ani de 75% si 64% la pacientii cu supraincarcature de fier, comparativ cu ratele de 83% si 70% la cei fara incarcature ferice (Brandhagen 2001). Scaderea perioadei de supravietuire la pacientii transplantati cu hemocromatoza se datoreaza problemelor cardiace si cresterii numarului de complicatii infectioase.

Date putine si contradictorii sunt disponibile in legatura cu recurenta depunerilor hepatice de fier; de asemenea, se impune atenta monitorizare a pacientilor cu hemocromatoza ereditara pentru determinarea reaparitiei depozitelor de fier la nivelul allogrefei.

Evolutia transplantului hepatic la pacientii cu insuficienta hepatica acuta

Insuficienta hepatica acuta (AHF) reprezinta 9% din indicatiile transplantului hepatic (Figura 1). Cauzele cele mai frecvente de aparitie a insuficientei hepatice acute sunt reprezentate de supradozele de acetaminofenol, medicamentele cu reactii adverse idiosincrazice (paracetamol, izoniazida/rifampicina, cumarina, ecstasy, antidepresive triclice, etc.) si infectia cu VHB (Khashab 2007). Sindromul Budd Chiari, boala Wilson, hepatita A si, in cazuri rare, bolile autoimune se pot prezenta clinic sub forma unei insuficiente hepatice acute.

Datele disponibile arata ca, in primul an, rata de supravietuire a pacientilor cu insuficienta hepatica acuta transplantati hepatic este inferioara in comparatie cu cea a pacientilor transplantati hepatic fara indicatii acute, dar este comparabila pe termen lung (Wigg 2005). Complicatiile postoperatorii timpurii la pacientii transplantati pentru AHF includ sepsisul, insuficienta organica multipla si insuficienta primara a grefei. Concentratia creatininei serice peste 200 $\mu\text{mol/l}$ pretransplant, primitorii din alta rasa decat cea alba, indixul de masa al donorului de $>35 \text{ kg/m}^2$ si varsta primitorului >50 de ani, sunt factori de risc importanti ai

mortalitatii posttransplant (Wigg 2005). Un studiu care coreleaza cauzele de insuficienta hepatica acuta si rezultatele transplantului hepatic au sugerat ca cele mai bune rezultate sunt intalnite la pacientii transplantati cu boala Wilson, iar cele mai slabe rezultate se obtin pentru cei transplantati din cauza reactiilor idiosincrazice medicamentoase (O'Grady 2005). Rezultatele la pacientii transplantati din cauza insuficientei hepatice acute sunt tot mai bune in ultima decada, datorita stabilirii modelelor de prognostic si a posibilitatii efectuarii de LDLT (transplant hepatic de la donator viu), care are un rol limitat in SUA si Europa, dar detine un rol major in Asia (Lo 2008). Insuficienta hepatica acuta a reprezentat indicatia pentru LDLT la mai mult de 10% din seriile raportate de grupul din Kyoto si de cel din Hong Kong (Morioka 2007; Lo 2004). Campsen si colab. au raportat recent rezultatul la pacientii cu insuficienta hepatica acuta care au fost evaluati pentru LDLT si inclusi in "cohorta de studiu de la donator hepatic viu adult la adult" (A2AAL) (Campsen 2008b). Dintre toti pacientii evaluati doar 1% au fost diagnosticati cu insuficienta hepatica acuta. Totusi autorii au concluzionat ca in acest grup restrans de pacienti LDLT se asociaza cu o rata de supravietuire acceptabila atat pentru primitorii de transplant (70%), cat si pentru donatori.

Concluzii

Transplantul hepatic reprezinta o provocare din cauza lipsei de organe si a listei lungi de asteptare in vederea primirii organului. Neconcordanta mare intre numarul de organe disponibile de la cadavru si pacientii care sunt pe lista de asteptare pentru transplantul hepatic s-a creat datorita criteriilor de selectie din baza date. Rationamentul sistemului de alocare de organe se bazeaza pe scorul MELD, prioritate avand pacientii cu disfunctii hepatice severe ("cei bolnavi inainte"). Noile tehnici chirurgicale, inclusiv divizarea ficatului de la cadavre, LDLT, largirea criteriilor pentru donatori in sensul includerii si a celor marginali, au fost folosite ca strategii de marire a poolului de donatori.

Infectia VHC se gaseste pe primul loc in indicatiile de transplant hepatic de la un cadavru si donator viu in SUA, cuprinzand aproximativ 50% din totalul cazurilor. Numarul persoanelor cu ciroza cauzata de infectia cu VHC este in crestere, de aceea sunt in derulare numeroase studii cu scopul de a defini factorii virali sau ai gazdei, predictivi pentru recurenta virala, impactul strategiilor terapeutice imunosupresoare, momentul potrivit initierii tratamentului antiviral si dozele optime ale terapiei antivirale.

Datorita medicamentelor antivirale disponibile, rata de supravietuire a pacientilor transplantati hepatic pentru infectia cu VHB a crescut semnificativ fiind comparabila sau chiar superioara ratei de supravietuire a pacientilor cu boli hepatice nedeterminate de virusuri. In studiile recente, terapia combinata cu IGHB si analogii nucleotidici/nucleozidici este testata ca si prima linie terapeutica din punct de vedere al eficientei si a profilului de siguranta. Scopul final este reprezentat de prevenirea instalarii rezistentei la antivirale si de identificarea factorilor predictivi ai raspunsului la tratament si ai esecului terapeutic sau ai recaderilor.

Datele cu privire la frecventa boli recurente la cei cu hepatite colestactice sau autoimune sunt diferite in literatura. Diagnosticul recaderii in cazul hepatitelor colestactice si autoimune este mai dificil la transplantati fata de situatiile in care nu

se recomanda transplant. Pacientii au rezultate excelente pe termen mediu si lung, in ciuda acestor limitari terapeutice din cazul recurentei bolilor hepatice.

Abstinenta de la alcool >6 luni pretransplant este considerata in unanimitate o conditie esentiala in cazul transplantul hepatic. In cazul pacientilor alcoolici exista cativa factori predictivi siguri ai recaderii dupa transplantul hepatic. Ratele de supravietuire la pacientii cu hepatite alcoolice transplantati sunt asemanatoare sau chiar mai bune comparativ cu rezultatele pacientilor transplantati pentru alte tipuri de hepatite cronice, dar perioada de supravietuire scade la pacientii consumatori de cantitati mari de alcool dupa transplantul hepatic.

La pacientii cu CHC transplantati se observa rezultate foarte bune si o rata de recurenta scazuta dupa criteriile Milano. Extrapolarea criteriilor de transplant peste criteriile de la Milano au fost discutate pe larg. Noile descoperiri din domeniul genomici si proteomici permit identificarea unor noi biomarkeri predictivi ai recurentei CHC.

S-a schimbat din punct de vedere clinic modul de abordare a complicatiilor cardiovasculare, cerebrale, renale, infectioase, de coagulare, in cazul pacientilor cu insuficienta hepatica acuta. Modele de prognostic sunt folositoare dar nu in totalitate precise in indicarea pacientilor care necesita transplant hepatic. Datorita noilor descoperiri in terapia intensiva si a noilor tehnici chirurgicale, rezultatele pacientilor cu insuficienta hepatica acuta s-au imbunatatit in ultimii 20-30 de ani.

Datorita rezultatelor excelente pe termen scurt dupa transplantul hepatic, atentia s-a indreptat asupra reducerii dozei de inhibitori de calcineurina (CNI), utilizati ca terapie imunosupresoare posttransplant si asociati cu complicatii pe termen lung. Comorbiditatile cardiovasculare datorate complicatiilor metabolice cum ar fi diabetul zaharat, dislipidemia, obezitatea si hipertensiunea arteriala reprezinta aproximativ 30-70% din morbiditatea pe termen lung. Noile tendinte in terapia imunosupresoare includ inhibitorii de calcineurina, protocoalele bazate pe inhibitorii de mTOR si protocoalele care elimina utilizarea corticosteroizilor. In concluzie putem sustine ca protocoalele terapeutice individualizate pot optimiza eficienta medicamentelor, pot reduce toxicitatea lor si pot imbunatati rezultatele transplantului.

Referinte

- Afonso RC, Hidalgo R, Zurstrassen MP, et al. Impact of renal failure on liver transplantation survival. *Transplant Proc* 2008;40(3):808-10.
- Angus PW, Strasser SI, Patterson S, et al. A randomized study to assess the safety and efficacy of adefovir dipivoxil substitution for hepatitis B immune globulin in liver transplantation patients receiving long-term low dose IM HBIG and lamivudine prophylaxis. *Hepatology* 2007;46:238A.
- Abdelmalek MF, Firpi RJ, Soldevila-Pico C, et al. Sustained viral response to interferon and ribavirin in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C. *Liver Transpl* 2004;10:199-207.
- Bahra M, Neumann UJ, Jacob D, et al. MMF and calcineurin taper in recurrent hepatitis C after liver transplantation: impact on histological course. *Am J Transplant* 2005;5:406-11.
- Beavers KL, Sandler RS, Shrestha R. Donor morbidity associated with right lobectomy for living donor liver transplantation to adult recipients. *Liver Transpl* 2002;8:110-7.

- Beckebaum S (a), Sotiropoulos G, Gerken G, Cicinnati V. Hepatitis B and liver transplantation: 2008 update. *Rev Med Virol* 2008;18. Epub ahead of print.
- Beckebaum S (a), Cicinnati V, Brokalaki E, Frilling A, Gerken G, Broelsch CE. CNI-sparing regimens within the liver transplant setting: experiences of a single center. *Clin Transpl* 2004;215-20.
- Beckebaum S (b), Cicinnati VR, Broelsch CE. Future directions in immunosuppression. *Transplant Proc* 2004; 36(2Suppl):574S-6S.
- Beckebaum S (b), Cicinnati V, Gerken G. Current concepts for prophylaxis and treatment of hepatitis B reinfection after liver transplantation. *Med Klin (Munich)* 2008; 103(4):190-7.
- Beckebaum S (d), Cicinnati VR, Zhang X, et al. Combination therapy with peginterferon alpha-2B and ribavirin in liver transplant recipients with recurrent HCV infection: preliminary results of an open prospective study. *Transplant Proc* 2004;36(5): 1489-91.
- Beckebaum S, Cicinnati VR, Karliova M, et al. Daily interferon alpha-2B and ribavirin combination therapy for liver transplant patients with chronic hepatitis C infection. *Transplant Proc* 2003; 35(6):2080-1.
- Beckebaum S (c), Cicinnati VR, Gerken G, et al. Management of chronic hepatitis B in the liver transplant setting. *Transplant Rev* 2004;18:3-12.
- Bellamy CO, DiMartini AM, Ruppert K, et al. Liver transplantation for alcoholic cirrhosis: long term follow-up and impact of disease recurrence. *Transplantation* 2001;72:619-26.
- Belli LS, Burroughs AK, Burra P, et al. Liver Transplantation for HCV cirrhosis: improved survival in recent years and increased severity of recurrent disease in female recipients: results of a long term retrospective study. *Liver Transpl* 2007;13:737-40.
- Ben-Ari Z, Pappo O, Mor E. Intrahepatic cholestasis after liver transplantation. *Liver Transpl* 2003;9:1005-18.
- Berenguer M (b), Crippin J, Gish R, et al. A model to predict severe HCV-related disease following liver transplantation. *Hepatology* 2003;38:34-41.
- Berenguer M (a). Host and donor risk factors before and after liver transplantation that impact HCV recurrence. *Liver Transpl* 2003;9:S44-7.
- Berenguer M. Recurrent hepatitis C: worse outcomes established, interventions still inadequate. *Liver Transplantation* 2007;13:641-3.
- Berenguer M, Prieto M, Rayon JM, et al. Natural history of clinically compensated HCV-related graft cirrhosis after liver transplantation. *Hepatology* 2000;32(4 PT 1):852-8.
- Berenguer (a) M, Aguilera V, Prieto M, et al. Effect of calcineurin inhibitors on survival and histologic disease severity in HCV-infected liver transplant recipients. *Liver Transpl* 2006;12:762-7.
- Berenguer M (b), Palau A, Fernandez A, et al. Efficacy, predictors of response, and potential risks associated with antiviral therapy in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C. *Liver Transpl* 2006;12:1067-76.
- Berenguer M. Outcome of posttransplantation hepatitis C virus disease - is it the host, the virus, or how we modify the host and/or the virus? *Liver Transpl* 2002;8:889-91.
- Berenguer M, Palau A, Aguilera V, Rayón JM, Juan FS, Prieto M. Clinical benefits of antiviral therapy in patients with recurrent hepatitis C following liver transplantation. *Am J Transplant* 2008;8:679-87.
- Bizollon T, Ahmed SN, Radenne S, et al. Long term histological improvement and clearance of intrahepatic hepatitis C virus RNA following sustained viral response to interferon-ribavirin combination therapy in liver transplant patients with hepatitis C virus recurrence. *Gut* 2005;52:283-7.
- Brandhagen DJ. Liver transplantation for hereditary hemochromatosis. *Liver Transpl* 2001;7:663-7.

- Brillanti S, Vivarelli M, De Ruvo N, et al. Slowly tapering off steroids protects the graft against hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl* 2002;8(10):884-8.
- Broelsch CE, Whittington PF, Emond JC, et al. Liver transplantation in children from living related donors. Surgical techniques and results. *Ann Surg* 1991;214 (4):428-37.
- Bundesärztekammer. Richtlinien zur Organtransplantation gem. §16 TPG. *Deutsches Ärzteblatt* 2008;105(26):A1461-4.
- Burra P, Lucey MR. Liver transplantation in alcoholic patients. *Transpl Int* 2005;18:491-8.
- Busutil RW, Farmer DG. The surgical treatment of primary hepatobiliary malignancy. *Liver Transpl Surg* 1996; 2(Suppl 1):114-30.
- Buti M, Mas A, Prieto M, et al. Adherence to lamivudine after an early withdrawal of hepatitis B immune globulin plays an important role in the long-term prevention of hepatitis B virus recurrence. *Transplantation* 2007;84:650-4.
- Calmus Y, Scheele JR, Gonzalez-Pinto I, et al. Immunoprophylaxis with basiliximab, a chimeric anti-interleukin-2 receptor monoclonal antibody, in combination with azathioprine-containing triple therapy in liver transplant recipients. *Liver Transpl* 2002;8:123-31.
- Campsen J (b), Blei AT, Emond JC, et al. Outcomes of living donor liver transplantation for acute liver failure: the adult-to-adult living donor liver transplantation cohort study. *Liver Transpl* 2008;14(9):1273-80.
- Campsen J (a), Zimmerman MA, Trotter JF, et al. Liver transplantation for autoimmune hepatitis and the success of aggressive corticosteroid withdrawal. *Liver Transpl* 2008;14(9):1281-6.
- Cantarovich M, Tzimas GN, Barkun J, Deschênes M, Alpert E, Tchervenkov J. Efficacy of mycophenolate mofetil combined with very low-dose cyclosporine microemulsion in long-term liver-transplant patients with renal dysfunction. *Transplantation* 2003;76:98-102.
- Castells L, Vargas V, Aleende H, et al. Combined treatment with pegylated interferon (alpha-2b) and ribavirin in the acute phase of hepatitis C virus recurrence after liver transplantation. *J Hepatol* 2005;43:53-9.
- Cicinnati VR (a), Yu Z, Klein CG, et al. Clinical trial: switch to combined mycophenolate mofetil and minimal dose calcineurin inhibitor in stable liver transplant patients-assessment of renal and allograft function, cardiovascular risk factors and immune monitoring. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26(9):1195-208.
- Cicinnati V (b), Iacob S, Klein C, et al. Ribavirin with either standard or pegylated interferon to treat recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;26:291-303.
- Chalasanani N, Manzarbeitia C, Ferenci P, et al. Peginterferon alfa-2a for hepatitis C after liver transplantation: two randomized, controlled trials. *Hepatology* 2005;41:289-98.
- Chang TT, Gish RG, de Man R, et al. A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N Engl J Med* 2006; 354: 1001-10.
- Charatcharoenwitthaya P, Pimentel S, Talwalkar, et al. Long-term survival and impact of ursodeoxycholic acid treatment for recurrent primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *Liver Transpl* 2007;13(9):1236-45.
- Choi PC, Kim HJ, Choi WH, et al. Model for end stage liver disease, model for end-stage liver disease-sodium and Child-Turcotte-Pugh scores over time for the prediction of complications of liver cirrhosis. *Liver International* 2008; Epub ahead of print.
- Clavien PA, Camargo CA, Baillie L, Fitz JG. Sphincter of Oddi dysfunction after liver transplantation. *Dig Dis Sci* 1995;40:73-4.
- Colonno RJ, Rose R, Baldick CJ, et al. Entecavir resistance is rare in nucleoside naive patients with hepatitis B. *Hepatology* 2006;44:1656-65.

- Coppa J, Pulvirenti A, Schiavo M, et al. Resection versus transplantation for liver metastases from neuroendocrine tumors. *Transplant Proc* 2001;33:1537-9.
- Cornberg M, Protzer U, Dollinger MM, et al. [Prophylaxis, Diagnosis and Therapy of Hepatitis-B-Virus-(HBV-)Infection: upgrade of the guideline, AWMF-Register 021/011]. *Z Gastroenterol* 2007;45:525-74.
- Cornberg M, Protzer U, Dollinger MM, et al. The German guideline for the management of hepatitis B virus infection: short version. *J Viral Hepatitis* 2008;15:1-20.
- Créput C, Blandin F, Derouere B, et al. Long-term effects of calcineurin inhibitor conversion to mycophenolate mofetil on renal function after liver transplantation. *Liver Transpl* 2007;13(7):1004-10.
- Crippin JS, McCashland T, Terrault N, Sheiner P, Charlton MR. A pilot study of the tolerability and efficacy of antiviral therapy in hepatitis C virus-infected patients awaiting liver transplantation. *Liver Transpl* 2002;8:350-5.
- Daly I, Jain A, Reyes J, Fung J. Mycophenolate mofetil for treatment of chronic rejection in liver allograft under tacrolimus. *Transplant Proc* 2002;34:1503.
- Del Poggio P, Zaccanelli M, Oggionni M, et al. Low-dose tenofovir is more potent than adefovir and is effective in controlling HBV viremia in chronic HBeAg-negative hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2007;13:4096-9.
- Demetris AJ, Murase N, Lee RG et al. Chronic rejection. A general overview of histopathology and pathophysiology with emphasis on liver, heart and intestinal allografts. *Ann Transplant* 1997;2:27-44.
- Dew MA, DiMartini AF, Steel J, et al. Meta-analysis of risk for relapse to substance use after transplantation of the liver or other solid organs. *Liver Transpl* 2008;14(2):159-72.
- DiMartini A, Dew MA, Fitzgerald MG, Fontes P. Clusters of alcohol use disorders diagnostic criteria and predictors of alcohol use after liver transplantation for alcoholic liver disease. *Psychosomatics* 2008;49(4):332-40.
- Dmitrewski J, Hubscher SG, Mayer AD, Neuberger JM. Recurrence of primary biliary cirrhosis in the liver allograft: the effect of immunosuppression. *J Hepatol* 1996;24:253-7.
- Douzdjian V, Abecassis MM, Johlin FC. Sphincter of Oddi dysfunction following liver transplantation. Screening by bedside manometry and definitive manometric evaluation. *Dig Dis Sci* 1994;39:253-6.
- Duclos-Vallee JC, Sebah M, Rifai K, et al. A 10 year follow up study of patients transplanted for autoimmune hepatitis: histological recurrence precedes clinical and biochemical recurrence. *Gut* 2003;52:893-97.
- Duffy JP, Vardanian A, Benjamin E, et al. Liver transplantation criteria for hepatocellular carcinoma should be expanded: a 22-year experience with 467 patients at UCLA. *Ann Surg* 2007;246(3):502-9.
- Dumortier J, Scoazek JY, CVHEallier P, Boillot O. Treatment of recurrent hepatitis C after liver transplantation: a pilot study of peginterferon alfa-2b and ribavirin combination. *J Hepatol* 2004;40:669-74.
- Eason JD, Nair S, Cohen AJ, Blazek JL, Loss GE. Steroid-free liver transplantation using rabbit antithymocyte globulin and early tacrolimus monotherapy. *Transplantation* 2003;75:1396-9.
- Ebeling PR. Transplantation osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep* 2007;5(1):29-37.
- Erim Y, Böttcher M, Dahmen U, Beck O, Broelsch CE, Helander A. Urinary ethyl glucuronide testing detects alcohol consumption in alcoholic liver disease patients awaiting liver transplantation. *Liver Transpl* 2007;13(5):757-61.
- Everson GT, Trotter J, Forman L, et al. Treatment of advanced hepatitis C with a low accelerated dosage regimen of antiviral therapy. *Hepatology* 2005;42(2):255-62.

- Cholongitas E, Shusang V, Papatheodoridis GV, et al. Risk factors for recurrence of primary sclerosing cholangitis after liver transplantation. *Liver Transpl* 2008;14(2):138-43.
- Ferretti G, Merli M, Ginanni CS, et al. Low-dose intramuscular hepatitis B immune globulin and lamivudine for long-term prophylaxis of hepatitis B recurrence after liver transplantation. *Transplant Proc* 2004;36:535-8.
- Filipponi F, Callea F, Salizzoni M, et al. Double-blind comparison of hepatitis C histological recurrence rate in HCV⁺ liver transplant recipients given basiliximab + steroids or basiliximab + placebo, in addition to cyclosporine and azathioprine. *Transplantation* 2004;78:1488-95.
- Finkelstein SD, Marsh W, Demetris AJ, et al. Microdissection-based allelo-typing discriminates de novo tumor from intrahepatic spread in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2003;37:871-9.
- Forman LM, Lewis DJ, Berlin JA, et al. The association between hepatitis C infection and survival after orthotopic liver transplantation. *Gastroenterology* 2002;122:889-96.
- Freeman RB. Model for end stage liver disease (MELD) for liver allocation: A 5-year score card. *Hepatology* 2008;47(3):1052-7.
- Freeman RB. Overview of the MELD/PELD system of liver allocation indications for liver transplantation in the MELD era: evidence-based patient selection. *Liver Transpl* 2004;10(10 Suppl 2):S2-3.
- Frilling A, Malago M, Weber F, et al. Liver transplantation for patients with metastatic endocrine tumors. *Liver Transpl* 2006; 12(7):1089-96.
- Fung JJ, Jain A, Kwak EJ, Kusne S, Dvorchik I, Eghtesad B. De novo malignancies after liver transplantation: a major cause of late death. *Liver Transpl* 2001;7(11 Suppl 1):S109-18.
- Gane EJ, Lo SK, Riordan SM, et al. A randomized study comparing ribavirin and interferon alfa monotherapy for hepatitis C recurrence after liver transplantation. *Hepatology* 1998;27:1403-7.
- Gane E, Strasser SI, Patterson S, et al. A prospective study on the safety and efficacy of lamivudine and adefovir dipivoxil prophylaxis in HBsAg positive liver transplantation candidates. *Hepatology* 2007;46:479A.
- Garcia CE, Ribeiro HB, Garcia RL, et al. Mycophenolate mofetil in stable liver transplant patients with calcineurin inhibitor-induced renal impairment: single-center experience. *Transplant Proc* 2003;35:1131-2.
- Ghalib R, Pandula R, Kadhim T, et al. Treatment of recurrent hepatitis C after liver transplantation with alpha-2b interferon plus ribavirin. *Hepatology* 2000;32:291A.
- Giostra E, Kullak-Ublick GA, Keller W, et al. Ribavirin/interferon-alpha sequential treatment of recurrent hepatitis C after liver transplantation. *Transpl Int* 2004;17:169-76.
- Gonwa TA, Mai ML, Melton LB, Hays SR, et al. End-stage renal disease (ESRD) after orthotopic liver transplantation (OLT) using calcineurin-based immunotherapy: risk of development and treatment. *Transplantation* 2001;72(12):1934-9.
- Gonzalez-Koch A, Czaja AJ, Carpenter HA, et al. Recurrent autoimmune hepatitis after orthotopic liver transplantation. *Liver Transpl* 2001;7:302-10.
- Goss JA, Shackleton CR, Farmer DG, et al. Orthotopic liver transplantation for primary sclerosing cholangitis. A 12-year single center experience. *Ann Surg* 1997;225:472-81.
- Graziadei IW. Recurrence of primary sclerosing cholangitis after liver transplantation. *Liver Transpl* 2002;8:575-81.
- Graziadei IW, Wiesner RH, Marotta PJ, et al. Long-term results of patients undergoing liver transplantation for primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 1999;30:1121-7.
- Graziadei IW, Schwaighofer H, Koch R, et al. Long-term outcome of endoscopic treatment of biliary strictures after liver transplantation. *Liver Transpl* 2006;12(5):718-25.

- Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2002;8:128-35.
- Haber PS, McCaughan GW. "I'll never touch it again, doctor!"-harmful drinking after liver transplantation. *Hepatology* 2007;46(4):1302-4.
- Han SH, Martin P, Edelstein M, et al. Conversion from intravenous to intramuscular hepatitis B immune globulin in combination with lamivudine is safe and cost-effective in patients receiving long-term prophylaxis to prevent hepatitis B recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl* 2003;9:182-7.
- Hashimoto E, Shimada M, Noguchi S, et al. Disease recurrence after living liver transplantation for primary biliary cirrhosis: a clinical and histological follow-up study. *Liver Transpl* 2001;7:588-95.
- Heimbach JK. Successful liver transplantation for hilar cholangiocarcinoma. *Curr Opin Gastroenterol.* 2008;24(3):384-8.
- Hiatt JR, Carmody IC, Busuttill RW. Should we expand the criteria for hepatocellular carcinoma with living-donor liver transplantation?-no, never. *J Hepatol* 2005;43:573-7.
- Hierro L, Diez-Dorado R, Diaz C, et al. Efficacy and safety of valganciclovir in liver-transplanted children infected with Epstein-Barr virus. *Liver Transpl* 2008;14:1185-93.
- Hilgard P, Kahraman A, Lehmann N, et al. Cyclosporine versus tacrolimus as immunosuppression after liver transplantation in patients with chronic hepatitis C: effects on virus replication and recurrent hepatitis. *World J Gastroenterol* 2006;12:1258-62.
- Ho GT, Seddon AJ, Therapondos G, Satsangi J, Hayes PC. The clinical course of ulcerative colitis after orthotopic liver transplantation for primary sclerosing cholangitis: further appraisal of immunosuppression post transplantation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:1379-85.
- Hwang S, Lee SG, Joh JW, Suh KS, Kim DG. Liver transplantation for adult patients with hepatocellular carcinoma in Korea: comparison between cadaveric donor and living donor liver transplantations. *Liver Transpl* 2005;11(10):1265-72.
- Iacob S, Cicinnati V, Hilgard P, et al. Predictors of graft and patient survival in hepatitis C virus (HCV) recipients: model to predict HCV cirrhosis after liver transplantation. *Transplantation* 2007;84:56-63.
- Iacobellis A, Siciliano M, Perri F, et al. Peginterferon alfa-2b and ribavirin in patients with hepatitis C virus and decompensated cirrhosis: a controlled study. *J Hepatol* 2007;46(2):185-8.
- Jacob DA, Neumann UP, Bahra M, et al. Long-term follow-up after recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation in 100 patients. *Clin Transplant* 2006;20(2):211-20.
- Jain A, Kashyap R, Demetris AJ, Eghstesad B, Pokharna R, Fung JJ. A prospective randomized trial of mycophenolate mofetil in liver transplant recipients with hepatitis C. *Liver Transpl* 2002;8:47-9.
- Jiao ZY, Jiao Z. Prophylaxis of recurrent hepatitis B in Chinese patients after liver transplantation using lamivudine combined with hepatitis B immune globulin according to the titer of antibody to hepatitis B surface antigen. *Transplant Proc* 2007;39:1533-6.
- Jimenez C, Marques E, Manrique A, al. Incidence and risk factors of development of lung tumors after liver transplantation. *Transplant Proc* 2005;37:3970-2.
- John PR, Thuluvath PJ. Outcome of patients with new-onset diabetes mellitus after liver transplantation compared with those without diabetes mellitus. *Liver Transpl* 2002;8:708-13.
- Kaihara S, Kiuchi T, Ueda M, et al. Living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Transplantation* 2003;75:S37-40.

- Kapoor D, Guptan RC, Wakil SM, et al. Beneficial effects of lamivudine in hepatitis B virus-related decompensated cirrhosis. *J Hepatol* 2000;33:308-12.
- Kawasaki S, Makuuchi M, Matsunami H, et al. Living related liver transplantation in adults. *Ann Surg* 1998;227:269-74.
- Khashab M, Tector AJ, Kwo PY, et al. Epidemiology of acute liver failure. *Curr Gastroenterol Rep* 2007;9(1):66-73.
- Kilpe VE, Krakauer H, Wren RE. An analysis of liver transplant experience from 37 transplant centers as reported to Medicare. *Transplantation* 1993;56:554-61.
- Kizilisik TA, Sebayel M, Hammad A, al-Traif I, Ramirez CG, Abdulla A. Hepatitis C recurrence in liver transplant recipients. *Transplant Proc* 1997;29:2875-7.
- Kneteman NM, Oberholzer J, Al Saghier M, et al. Sirolimus-based immunosuppression for liver transplantation in the presence of extended criteria for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl*. 2004;10(10):1301-11.
- Kniepeiss D, Iberer F, Grasser B, Schaffellner S, Tscheliessnigg KH. Sirolimus and mycophenolate mofetil after liver transplantation. *Transpl Int* 2003;16(7):504-9.
- Knight SR, Friend PJ, Morris PJ. Role of transplantation in the management of hepatic malignancy. *Br J Surg* 2007;94(11):1319-30.
- Konrad T, Steinmüller T, Vicini P, et al. Regulation of glucose tolerance in patients after liver transplantation: impact of cyclosporin versus tacrolimus therapy. *Transplantation* 2000;69(10): 2072-8.
- Lake JR. The role of immunosuppression in recurrence of hepatitis C. *Liver Transpl* 2003;9:S63-6.
- Lake KD. New prophylactic treatment strategy for cytomegalovirus disease. *Am J Health Syst Pharm* 2003;60(Suppl 8):S13-6.
- Lampertico P, Vigano M, Manenti E, Iavarone M, Sablon E, Colombo M. Low resistance to adefovir combined with lamivudine: a 3-year study of 145 lamivudine-resistant hepatitis B patients. *Gastroenterology* 2007;133:1445-51.
- Lautenschlager I, Hockerstedt K, Linnavuori K et al. Human herpesvirus-6 infection after liver transplantation. *Clin Infect Dis* 1998;26:702-7.
- Lee SG, Hwang S, Moon DB, et al. Expanded indication criteria of living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma at one large-volume center. *Liver Transpl* 2008; 14: 935-45.
- Lehnert T. Liver transplantation for metastatic neuroendocrine carcinoma: an analysis of 103 patients. *Transplantation* 1998;66:1307-12.
- Levy G, Schmidli H, Punch J, et al. Safety, tolerability, and efficacy of everolimus in de novo liver transplant recipients: 12- and 36-month results. *Liver Transpl* 2006;12(11):1640-8.
- Liermann Garcia RF, Evangelista GC, McMaster P, Neuberger J. Transplantation for primary biliary cirrhosis: retrospective analysis of 400 patients in a single center. *Hepatology* 2001;33:22-7.
- Lo CM, Fan ST, Liu CL, Chan SC, Wong J. The role and limitation of living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2004;10:440-7.
- Lo CM, Fan ST, Liu CL, et al. Lessons learned from one hundred right lobe living donor liver transplants. *Ann Surg* 2004;240: 151-8.
- Lo CM, Liu CL, Lau GK, Chan SC, Ng IO, Fan ST. Liver transplantation for chronic hepatitis B with lamivudine-resistant YMDD mutant using add-on adefovir dipivoxil plus lamivudine. *Liver Transpl* 2005;11:807-13.
- Luan FL, Ding R, Sharma VK, Chon WJ, Lagman M, Suthanthiran M. Rapamycin is an effective inhibitor of human renal cancer metastasis. *Kidney Int* 2003;63:917-26.

- Maheshwari A, Torbenson MS, Thuluvath PJ. Sirolimus monotherapy versus sirolimus in combination with steroids and/or MMF for immunosuppression after liver transplantation. *Dig Dis Sci.* 2006;51(10):1677-84.
- Malago M, Sotiropoulos GC, Nadalin S, et al. Living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma: a single center preliminary report. *Liver Transpl* 2006;12:934-40.
- Marsh JW, Finkelstein SD, Demetris AJ, et al. Genotyping of hepatocellular carcinoma in liver transplant recipients adds predictive power for determining recurrence-free survival. *Liver Transpl* 2003;9:664-71.
- Martin AP, Bartels M, Redlich J, Hauss J, Fangmann J. A single center experience with liver transplantation for Wilson's disease. *Clin Transplant* 2008;22:216-21.
- Martin P, Busuttill RW, Goldstein RM, et al. Impact of tacrolimus versus cyclosporine in hepatitis C virus-infected liver transplant recipients on recurrent hepatitis: a prospective, randomized trial. *Liver Transpl* 2004;10:1258-62.
- Martin-Davila P, Fortun J, Gutierrez C, et al. Analysis of a quantitative PCR assay for CMV infection in liver transplant recipients: an intent to find the optimal cut-off value. *J Clin Virol* 2005;33:138-44.
- Marzano A, Salizzoni M, Debernardi-Venon W, et al. Prevention of hepatitis B virus recurrence after liver transplantation in cirrhotic patients treated with lamivudine and passive immunoprophylaxis. *J Hepatol* 2001;34:903-10.
- Marzano A, Lampertico P, Mazzaferro V, et al. Prophylaxis of hepatitis B virus recurrence after liver transplantation in carriers of lamivudine-resistant mutants. *Liver Transpl* 2005; 11: 532-8.
- 119.
- McCaughan GW, Spencer J, Koorey D, et al. Lamivudine therapy in patients undergoing liver transplantation for hepatitis B virus precore mutant-associated infection: high resistance rates in treatment of recurrence but universal prevention if used as prophylaxis with very low dose hepatitis B immune globulin. *Liver Transpl Surg* 1999;5:512-9.
- McCaughan GW, Zekry A. Impact of immunosuppression on immunopathogenesis of liver damage in hepatitis C virus-infected recipients following liver transplantation. *Liver Transpl* 2003;9:S21-7.
- Merion RM, Schaubel DE, Dykstra DM, et al. The survival benefit of liver transplantation. *Am J Transplant* 2005;5:307-13.
- Molmenti EP, Netto GJ, Murray NG, et al. Incidence and recurrence of autoimmune/alloimmune hepatitis in liver transplant recipients. *Liver Transpl* 2002;8(6):519-26.
- Moreno JM, Rubio E, Pons F, et al. Usefulness of mycophenolate mofetil in patients with chronic renal insufficiency after liver transplantation. *Transplant Proc* 2003;35:715-7.
- Moreno Planas JM, Cuervas-Mons Martinez V, Rubio Gonzalez E, et al. Mycophenolate mofetil can be used as monotherapy late after liver transplantation. *Am J Transplant* 2004;4:1650-5.
- Morioka D, Egawa H, Kasahara M et al. Outcomes of adult-to-adult living donor liver transplantation. A single institution's experience with 335 consecutive cases. *Ann Surg* 2007;245:315-25.
- Morioka D, Egawa H, Kasahara M, et al. Impact of human leukocyte antigen mismatching on outcomes of living donor liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Liver Transpl* 2007;13(1):80-90.
- Mutimer D, Dusheiko G, Barrett C, et al. Lamivudine without HBIG for prevention of graft reinfection by hepatitis B: long-term follow-up. *Transplantation* 2000;70:809-15.

- Naoumov NV, Lopes AR, Burra P, et al. Randomized trial of lamivudine versus hepatitis B immunoglobulin for long-term prophylaxis of hepatitis B recurrence after liver transplantation. *J Hepatol* 2001;34:888-94.
- Nath DS, Kalis A, Nelson S, Payne WD, Lake JR, Humar A. Hepatitis B prophylaxis post-liver transplant without maintenance hepatitis B immunoglobulin therapy. *Clin Transplant* 2006;20:206-10.
- Neff GW, Montalbano M, Lapak-Green G, et al. Sirolimus therapy in orthotopic liver transplant recipients with calcineurin inhibitor related chronic renal insufficiency. *Transplant Proc* 2003;35:3029-31.
- Neff GW, Nery J, Lau DT, et al. Tenofovir therapy for lamivudine resistance following liver transplantation. *Ann Pharmacother* 2004;38:1999-2004.
- Neff GW, Montalbano M, O'Brien CB, et al. Treatment of established recurrent hepatitis C in liver transplant recipients with pegylated interferon-alfa-2b and ribavirin therapy. *Transplantation* 2004;78:1303-7.
- Neff GW, Kemmer N, Kaiser TE, et al. Combination therapy in liver transplant recipients with hepatitis B virus without hepatitis B immune globulin. *Dig Dis Sci* 2007;52:2497-500.
- Nelson DR, Soldevila-Pico C, Reed A, et al. Anti-interleukin 2 receptor therapy in combination with mycophenolate mofetil is associated with more severe hepatitis recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl* 2001;8:123-31.
- Neuberger J. Incidence, timing, and risk factors for acute and chronic rejection. *Liver Transpl Surg* 1999;5:S30-6.
- Neuberger J. Public and professional attitudes to transplanting alcoholic patients. *Liver Transplantation* 2007;13(11 Suppl2):S65-8.
- Neuhaus P, Clavien PA, Kittur D, et al. Improved treatment response with basiliximab immunoprophylaxis after liver transplantation: results from a double-blind randomized placebo-controlled trial. *Liver Transpl* 2002;8:132-42.
- Nikolaidis N, Vassiliadis T, Giouleme O, et al. Effect of lamivudine treatment in patients with decompensated cirrhosis due to anti-HBe positive/HBeAg-negative chronic hepatitis B. *Clin Transplant* 2005;19:321-6.
- O'Grady JG. Acute liver failure. *Postgrad Med J* 2005;81:148-54.
- Ono SK, Kato N, Shiratori Y, et al. The polymerase L528M mutation cooperates with nucleotide binding-site mutations, increasing hepatitis B virus replication and drug resistance. *J Clin Invest* 2001;107:449-55.
- Opelz G, Daniel V, Naujokat C, Fickenscher H, Döhler B. Effect of cytomegalovirus prophylaxis with immunoglobulin or with antiviral drugs on post-transplant non-Hodgkin lymphoma: a multicentre retrospective analysis. *Lancet Oncol* 2007;8:212-8.
- Orr DW, Portmann BC, Knisley AS, et al. Anti-interleukin 2 receptor antibodies and mycophenolate mofetil for treatment of steroid-resistant rejection in adult liver transplantation. *Transplant Proc* 2005;37:4373-9.
- Pabón V, Dumortier J, Gincul R, et al. Long-term results of liver transplantation for Wilson's disease. *Gastroenterol Clin Biol*. 2008;32(4):378-81.
- Pascher A, Sauer IM, Walter M, et al. Donor evaluation, donor risks, donor outcome, and donor quality of life in adult-to-adult living donor liver transplantation. *Liver Transpl* 2002;8:829-37.
- Patel R, Snyderman DR, Rubin RH, et al. Cytomegalovirus prophylaxis in solid organ transplant recipients. *Transplantation* 1996;61:1279-89.
- Patel S, Orloff M, Tsoulfas G, et al. Living donor liver transplantation in the United States: identifying donors at risk for perioperative complications. *Am J Transplant* 2007;7:2344-9.

- Paya C, Humar A, Dominguez E, et al. Efficacy and safety of valganciclovir vs. oral ganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2004;4(4):611-20.
- Perkins JD. Biliary tract complications: The most common postoperative complication in living liver donors. *Liver Transpl* 2008;14(9):1372-7.
- Perlmutter DH. Alpha-1-antitrypsin deficiency. *Semin Liver Dis* 1998; 18: 217-25.
- Perney P, Bismuth M, Sigaud H, et al. Are preoperative patterns of alcohol consumption predictive of relapse after liver transplantation for alcoholic liver disease? *Transpl Int* 2005;18:1292-7.
- Picciotto FP, Tritto G, Lanza AG, et al. Sustained virological response to antiviral therapy reduces mortality in HCV reinfection after liver transplantation. *J Hepatol* 2007;46(3):459-65.
- Pfützmann R, Schwenzer J, Rayes N, Seehofer D, Neuhaus R, Nüssler NC. Long-term survival and predictors of relapse after orthotopic liver transplantation for alcoholic liver disease. *Liver Transpl* 2007;13(2):197-205.
- Prados E, Cuervas-Mons V, de la Mata M, et al. Outcome of autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Transplantation* 1998;66:1645-50.
- Qiu J, Ozawa M, Terasaki PI. Liver transplantation in the United States. *Clin Transpl* 2005:17-28.
- Raimondo ML, Dagher L, Papatheodoridis GV, et al. Long-term mycophenolate mofetil monotherapy in combination with calcineurin inhibitors for chronic renal dysfunction after liver transplantation. *Transplantation* 2003;75:186-90.
- Rea DJ, Heimbach JK, Rosen CB. Liver transplantation with neoadjuvant chemoradiation is more effective than resection for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2005;242(3):451-8.
- Ringe B, Wittekind C, Bechstein WO, et al. The role of liver transplantation in hepatobiliary malignancy. A retrospective analysis of 95 patients with particular regard to tumor stage and recurrence. *Ann Surg* 1989;209:88-98.
- Roayie K, Feng S. Allocation policy for hepatocellular carcinoma in the MELD era: room for improvement? *Liver Transpl* 2007;13:S36-43.
- Rosenau J, Bahr MJ, Tillmann HL, et al. Lamivudine and low-dose hepatitis B immune globulin for prophylaxis of hepatitis B reinfection after liver transplantation possible role of mutations in the YMDD motif prior to transplantation as a risk factor for reinfection. *J Hepatol* 2001;34:895-902.
- Rudraraju M, Osowo AT, Singh V, Carey EJ. Do patients need more frequent colonoscopic surveillance after liver transplantation? *Transplant Proc* 2008;40(5):1522-4.
- Saab S, Niho H, Comulada S, et al. Mortality predictors in liver transplant recipients with recurrent hepatitis C cirrhosis. *Liver Int* 2005;25:940-5.
- Samonakis DN, Cholongitas E, Triantos CK, et al. Sustained, spontaneous disappearance of serum-HCV under immunosuppression after liver transplantation for hepatitis C cirrhosis. *J Hepatol* 2005;43:1091-3.
- Sanchez EQ, Martin AP, Ikegami T, et al. Sirolimus conversion after liver transplantation: improvement in measured glomerular filtration rate after 2 years. *Transplant Proc* 2005;37:4416-23.
- Schacherer D, Zeitoun M, Buttner R, et al. Sirolimus-induced drug fever and ciclosporin-induced leukencephalopathy with seizures in one liver transplant recipient. *World J Gastroenterol* 2007;13:6090-3.
- Seaberg EC, Belle SH, Beringer KC, et al. Liver transplantation in the United States from 1987-1998: updated results from the Pitt-UNOS Liver Transplant Registry. In: Cecka JM, Terasaki PI, eds. *Clinical Transplants 1998*. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory; 1999:17-37.

- Seehofer D, Rayes N, Steinmuller T, et al. Occurrence and clinical outcome of lamivudine-resistant hepatitis B infection after liver transplantation. *Liver Transpl* 2001;7:976-82.
- Starzl TE, Marchioro TL, Von Kaulla KN, et al. Homotransplantation of the liver in humans. *Surg Gynecol Obstet* 1963;117:659-76.
- Starzl TE, Groth CG, Bretschneider L, et al. Orthotopic homotransplantation of the human liver. *Ann Surg* 1968; 168 (3):392-415.
- Schiff E, Lai CL, Hadziyannis S, et al. Adefovir dipivoxil for wait-listed and post-liver transplantation patients with lamivudine-resistant hepatitis B: final long-term results. *Liver Transpl* 2007;13:349-60.
- Schlitt HJ, Barkmann A, Boker KH, et al. Replacement of calcineurin inhibitors with mycophenolate mofetil in liver-transplant patients with renal dysfunction: a randomised controlled study. *Lancet* 2001;357:587-91.
- Sevmis S, Karakayali H, Aliosmanoglu I, et al. Transplantation for Wilson's disease. *Transplant Proc* 2008;40(1):228-30.
- Shakil A O, Lilly L, Angus P, et al. Entecavir significantly reduces viral load in liver transplant recipients failing lamivudine therapy for HBV. *J Hepatol* 2002;36:122.
- Sheiner PA, Boros P, Klion FM et al. The efficacy of prophylactic interferon alfa-2b in preventing recurrent hepatitis after liver transplantation. *Hepatology* 1998;28:831-8.
- Shergill AK, Khalili M, Straley S, et al. Applicability, tolerability, and efficacy of preemptive antiviral therapy in hepatitis C infected patients undergoing liver transplantation. *Am J Transplant* 2005;5:118-24.
- Shimoda M, Farmer DG, Colquhoun SD, et al. Liver transplantation for cholangiocellular carcinoma: analysis of a single-center experience and review of the literature. *Liver Transpl* 2001;7(12):1023-33.
- Singh N, Gayowski T, Wannstedt CF, et al. Interferon-alpha for prophylaxis of recurrent viral hepatitis C in liver transplant recipients: a prospective, randomized, controlled trial. *Transplantation* 1998;65:82-6.
- Singh N. Fungal infections in the recipients of solid organ transplantation. *Infect Dis Clin North Am* 2003;17(1):113-34.
- Smets F, Sokal EM. Epstein-Barr virus-related lymphoproliferation in children after liver transplant: role of immunity, diagnosis, and management. *Pediatr Transplant* 2002;6:280-7.
- Sotiropoulos GC, Molmanti EP, Lösch C, Beckebaum S, Brolesch CE, Lang H. Meta-analysis of tumor recurrence after liver transplantation for hepatocellular carcinoma based on 1,198 cases. *Eur J Med Res* 2007;12(10):527-34.
- Sotiropoulos GC (b), Lang H, Sgourakis G, et al. Liberal policy in living donor liver transplantation for hepatocellular carcinoma: Lessons learned. *Dig Dis Sci*. 2008. Epub ahead of print.
- Sotiropoulos CG(a), Beckebaum S, Lang H, et al. Single-center experience on liver transplantation for hepatocellular carcinoma arising in alcoholic cirrhosis: results and ethical issues. *Eur Surg Res* 2008; 40(1):7-13.
- Stewart SF, Hudson M, Talbot D, Manas D, Day CP. Mycophenolate mofetil monotherapy in liver transplantation. *Lancet* 2001;357:609-10.
- Study 109. Medical review baraclude (entecavir): Antiviral activity of entecavir in patients receiving liver transplant due to chronic hepatitis B virus infection. (Accessed December 14, 2007, at <http://www.clinicaltrials.gov>.)
- Sugawara Y, Makuuchi M. Technical advances in living-related liver transplantation. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 1999;6:245-53.
- Sugawara Y, Makuuchi M, Matsui Y et al. Preemptive therapy for hepatitis C virus after living-donor liver transplantation. *Transplantation* 2004;78:1308-11.

- Sugawara Y, Makuuchi M. Living donor liver transplantation: present status and recent advances. *Br Med Bull* 2005;75-76:15-28.
- Sutcliffe RP, Maguire DD, Muesan P, et al. Liver transplantation for Wilson's disease: long-term results and quality-of-life assessment. *Transplantation* 2003;75(7):1003-6.
- Sylvestre PB, Batts KP, Burgart LJ, Poterucha JJ, Wiesner RH. Recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation: Histologic estimate of incidence and natural history. *Liver Transpl* 2003;9:1086-93.
- Tan J, Lok AS. Antiviral therapy for pre- and post-liver transplantation patients with hepatitis B. *Liver Transpl* 2007;13:323-6.
- Testa G, Crippin JS, Netto GJ, et al. Liver transplantation for hepatitis C: recurrence and disease progression in 300 patients. *Liver Transpl* 2000;6:553-61.
- Thomas RM, Brems JJ, Guzman-Hartman G, Yong S, Cavaliere P, van Thiel DH. Infection with chronic hepatitis C virus and liver transplantation: a role for interferon therapy before transplantation. *Liver Transpl*. 2003;9(9):905-15.
- Tillmann HL. Antiviral therapy and resistance with hepatitis B virus infection. *World J Gastroenterol* 2007;13:125-40. Trotter JF. Sirolimus in liver transplantation. *Transplant Proc* 2003;35(3 Suppl): 193S-200S.
- Toniutto P, Fabris C, Fumo E, et al. Pegylated versus standard interferon-alpha in antiviral regimens for post-transplant recurrent hepatitis C: comparison of tolerability and efficacy. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:577-82.
- Toso C, Meeberg GA, Bigam DL, et al. De novo sirolimus-based immunosuppression after liver transplantation for hepatocellular carcinoma: long-term outcomes and side effects. *Transplantation*. 2007;83(9):1162-8.
- Triantos C, Samonakis D, Stigliano R, Thalheimer U, Patch D, Burroughs A. Liver transplantation and hepatitis C virus: systematic review of antiviral therapy. *Transplantation* 2005;79:261-8.
- Tung BY, Kimmey MB. Biliary complications of orthotopic liver transplantation. *Dig Dis* 1999;17:133-44.
- Ulrich C, Degen A, Patel MJ, Stockfleth. Sunscreens in organ transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:1805-8.
- Valentin-Gamazo C, Malago M, Karliova M, et al. Experience after the evaluation of 700 potential donors for living donor liver transplantation in a single center. *Liver Transpl* 2004; 10: 1087-96.
- Vallejo GH, Romero CJ, de Vicente JC. Incidence and risk factors for cancer after liver transplantation. *Crit Rev Oncol Hematol* 2005;56:87-99.
- van Bommel F, Wunsche T, Mauss S, et al. Comparison of adefovir and tenofovir in the treatment of lamivudine-resistant hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2004;40:1421-5.
- van Bommel F, De Man RA, Stein K, et al. A multicenter analysis of antiviral response after one year of tenofovir mono-therapy in HBV-monoinfected patients with prior nucleos(t)ide analog experience. *J Hepatol* 2008;48: 73.
- Vassiliadis T, Giouleme O, Koumerkeridis G, et al. Adefovir dipivoxil plus lamivudine combination treatment is superior to adefovir dipivoxil monotherapy in lamivudine-resistant hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B patients. *Hepatology* 2007;46:662A.
- Vennarecci G, Gunson BK, Ismail T, et al. Transplantation for end stage liver disease related to alpha 1 antitrypsin. *Transplantation* 1996;61:1488-95.
- Vera A, Moledina S, Gunson B, et al. Risk factors for recurrence of primary sclerosing cholangitis of liver allograft. *Lancet* 2002;360:1943-4.
- Villeneuve JP, Condreay LD, Willems B, et al. Lamivudine treatment for decompensated cirrhosis resulting from chronic hepatitis B. *Hepatology* 2000;31:207-10.

- Vogel A, Heinrich E, Bahr MJ, et al. Long-term outcome of liver transplantation for autoimmune hepatitis. *Clin Transplant* 2004;18:62-9.
- Walsh TJ, Groll AH. Emerging fungal pathogens: Evolving challenges to immunocompromised patients for the twenty first century. *Transpl Infect* 1999;1:247-61.
- Washington K. Update on post-liver transplantation infections, malignancies, and surgical complications. *Adv Anat Pathol* 2005;12:221-6.
- Watson CJ, Friend PJ, Jamieson NV, et al. Sirolimus: a potent new immunosuppressant for liver transplantation. *Transplantation* 1999;67:505-9.
- Weiss KH, Gotthardt D, Schmidt J, et al. Liver transplantation for metabolic liver diseases in adults: indications and outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22(Suppl 8):viii9-12.
- Welch CS. A note on transplantation of the whole liver in dogs. *Transplant Bull* 1955;2:54-5.
- Cannon JA. Organs. *Transplant Bull* 1956;3-7.
- Wiesner RH, Shorr JS, Steffens BJ, Chu AH, Gordon RD, Lake JR. Mycophenolate mofetil combination therapy improves long-term outcomes after liver transplantation in patients with and without hepatitis C. *Liver Transpl* 2005;11:750-9.
- Wigg AJ, Gunson BK, Mutimer DJ. Outcomes following liver transplantation for seronegative acute liver failure: experience during a 12-year period with more than 100 patients. *Liver Transpl* 2005;11:27-34.
- Wong F. Hepatorenal syndrome: current management. *Curr Gastroenterol Rep* 2008;10(1):22-9.
- Wong PY, Portmann B, O'Grady JG, et al. Recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation following FK506-based immunosuppression. *J Hepatol* 1993;17:284-7.
- Wong SN, Chu CJ, Wai CT, et al. Low risk of hepatitis B virus recurrence after withdrawal of long-term hepatitis B immunoglobulin patients receiving maintenance nucleos(t)ide analogue therapy. *Liver Transpl* 2007;13:374-81.
- Yan ML, Yan LN, Li B, et al. Intramuscular hepatitis B immune globulin combined with lamivudine in prevention of hepatitis B recurrence after liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2006;5:360-3.
- Yao FY, Osorio RW, Roberts JP, et al. Intramuscular hepatitis B immune globulin combined with lamivudine for prophylaxis against hepatitis B recurrence after liver transplantation. *Liver Transpl Surg* 1999;5:491-6.
- Yao FY, Terrault NA, Freise C, Maslow L, Bass NM. Lamivudine treatment is beneficial in patients with severely decompensated cirrhosis and actively replicating hepatitis B infection awaiting liver transplantation: a comparative study using a matched, untreated cohort. *Hepatology* 2001;34:411-6.
- Yao FY, Gautam M, Palese C, et al. De novo malignancies following liver transplantation: a case-control study with long-term follow-up. *Clin Transplant* 2006;20(5):617-23.
- Yao FY, Xiao L, Bass NM, Kerlan R, Ascher NL, Roberts JP. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: validation of the UCSF-expanded criteria based on preoperative imaging. *Am J Transpl* 2007;7(11):2587-96.
- Yamagiwa S, Ichida T. Recurrence of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis after liver transplantation in Japan. *Hepatol Res* 2007;37(Suppl 3):S449-54.
- Yokoyama I, Todo S, Iwatsuki S, Starzl TE. Liver transplantation in the treatment of primary liver cancer. *Hepatogastroenterology* 1990;37:188-93.
- Yoo HY, Patt CH, Geschwind JF, et al. The outcome of liver transplantation in patients with hepatocellular carcinoma in the United States between 1988 and 2001: 5-year survival has improved significantly with time. *J Clin Oncol* 2003;21:4329-35.
- Yoshida H, Kato T, Levi DM, et al. Lamivudine monoprophylaxis for liver transplant recipients with non-replicating hepatitis B virus infection. *Clin Transplant* 2007;21:166-71.

- Zavaglia C, De Carlis L, Alberti AB, et al. Predictors of long term survival after liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Am J Gastroenterol* 2005;100:2708-16.
- Zheng S, Chen Y, Liang T, et al. Prevention of hepatitis B recurrence after liver transplantation using lamivudine or lamivudine combined with hepatitis B immunoglobulin prophylaxis. *Liver Transpl* 2006;12:253-8.
- Zimmerman MA, Trotter JF, Wachs M, et al. Sirolimus-based immunosuppression following liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2008;14(5):633-8.
- Ziolkowski J, Paczek L, Senatorski G, et al. Renal function after liver transplantation: calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Transplant Proc* 2003;35(6):2307-9.
- Zoepf T, Maldonado-Lopez EJ, Hilgard P, et al. Balloon dilatation vs. balloon dilatation plus bile duct endoprosthesis for treatment of anastomotic biliary strictures after liver transplantation. *Liver Transpl* 2006;12:88-94.

Capitolul 23: Transplantul hepatic in hepatitele B, C si in coinfectiile acestora cu HIV

José M. Miró, Fernando Agüero, Montserrat Laguno, Montserrat Tuset, Carlos Cervera, Asuncion Moreno, Juan-Carlos García-Valdecasas, Antonio Rimola and the Hospital Clinic OLT in HIV Working Group

Introducere

In prezent, in tarile dezvoltate bolile hepatice datorate hepatitei cronice B si C sunt principala cauza de mortalitate si morbiditate in cadrul pacientilor infectati cu HIV. In timp ce pacientii cu hepatita cronica C fara coinfectie tind sa evolueze spre stadiul final al bolii hepatice (end stage liver disease- ESLD) in decurs de 20-30 de ani, pacientii coinfectati prezinta rate inalte ale progresiei bolii (Mohsen 2003; Poynard 2003). O meta-analiza a aratat un risc relativ (RR) ajustat global de ciroza histologica sau boala hepatica decompensata mai mare la subiectii coinfectati cu HIV si VHC decat la subiectii mono infectati-VHC (Graham 2001).

ESLD este frecvent intalnit la pacientii coinfectati si acest material va trece in revista diferite abordari in ceea ce priveste tratamentul aplicat.

Epidemiologie

Din cele 40 de milioane de persoane infectate cu HIV din intreaga lume, 4-5 milioane sunt coinfectati cu VHC si 2-4 milioane cu VHB (Alter 2006).

Prevalenta coinfectiei cu VHC si/sau VHB este inalta in tarile dezvoltate. Studiile realizate pe pacienti infectati cu HIV arata rate de 33% si respectiv 9% in Europa si valori similare in SUA, 28% si respectiv 9% (Fung 2004).

Unele studii au prezentat semnificatia VHC, ca fiind o cauza a decesului nelegat de SIDA (Palella 2006; Crum 2006; Lewden 2005). Un centru de studiu din Spania (Martinez 2007) a analizat cauzele unui numar de 235 de decese in cadrul unui grup de 4471 de pacienti (5%) aflati sub tratament ARV pe o perioada cuprinsa intre 1997 si 2004. Numarul pacientilor care au murit de ESLD a crescut de la 8% in anul 1997 la 41% in 2004, si in ultimii ani ESLD a devenit cauza principala de deces la pacientii infectati HIV. In comparatie cu populatia generala de varsta similara, decesele datorate bolilor hepatice au fost de 11 ori mai frecvente la pacientii infectati cu HIV. Un alt studiu prospectiv realizat in Franta (Rosenthal 2007) a determinat mortalitatea datorata ESLD la toata populatia tarii infectata cu HIV. A rezultat un total de 20 940 de pacienti infectati HIV, din care 4005 (19.9%) erau coinfectati cu virusuri hepatice si s-a aratat ca in 2003 mortalitatea datorata ESLD a reprezentat 23.7% din decesele neprovocate de SIDA. In cadrul acestei populatii, decesele datorate ESLD au reprezentat 1.5% in anul 1995, 6.6% in 1997, 14.3% in 2001, si 12.6% in anul 2003. Hepatita cronica C a fost prezenta la 92.6% din pacientii care au murit de ESLD. S-a realizat un studiu prospectiv, observational pe 11 cohorte in Europa, Statele Unite si Australia (The D:A:D Study 2006); acest studiu a inclus 23 441 pacienti infectati HIV-1 (22.5% erau VHC-pozitivi) care au

fost urmariti din decembrie 1999 pana in februarie 2004. S-a observat ca din totalul de 1246 de decese, marea majoritate au avut legatura cu SIDA (31,1%), iar boala hepatica a reprezentat urmatoarea cauza de deces (14,5%). Infectia cu VHC s-a dovedit a fi un predictor independent al decesului legat de o boala hepatica.

Caracteristicile clinice ale pacientilor coinfectati cu ESLD

Un studiu spaniol retrospectiv (Pineda 2005) a descris frecventa unor evenimente specifice cum ar fi prima decompensare si cauza decesului la subiectii HIV-negativi si subiectii coinfectati HIV/VHC. Ascita si icterul au fost mai frecvente in grupul pacientilor infectati HIV, in timp ce hemoragia digestiva superioara si carcinomul hepatocelular (HCC) au fost mai frecvente la pacientii mono infectati. Encefalopatia hepatica (HE), atat ca prima decompensare cat si ca o cauza a decesului a fost mai frecventa la pacientii coinfectati.

Caracteristicile clinice si consecintele peritonitei bacteriene spontane (SBP) au fost evaluate la o populatie infectata HIV cu ciroza. Treizeci si cinci de pacienti infectati HIV cu ciroza au fost comparati cu 70 de subiecti HIV-negativi cu ciroza. In acest studiu s-a observat ca la pacientii infectati HIV diagnosticul etiologic a fost obtinut in aproape 80% din cazuri si bacteriemia a fost prezenta in mai mult de 50% din cazuri, ambele procente fiind mai mari decat cele observate la pacientii HIV-negativi (Shaw 2006). O observatie bacteriologica importanta in acest studiu a fost inalta incidenta a *S. pneumonia* ca agent etiologic al SBP in cadrul pacientilor infectati HIV, al doilea agent etiologic ca frecventa dupa *E. coli*.

Este bine cunoscut faptul ca la pacientii coinfectati HIV/VHC carcinomul hepatocelular (HCC) are consecinte mai rapide si mai grave comparativ cu pacientii mono infectati VHC (Puoti 2004; Bruno 2006).

Observatiile cu privire la HCC la 41 de pacienti infectati HIV si 2384 de pacienti neinfectati au fost comparate in Italia (Puoti 2004). Autorii au observat o evolutie mai agresiva a HCC la pacientii infectati HIV, cu o asociere independenta intre infectia HIV si stadiul mai avansat al HCC, precum si o rata mai inalta a infiltrarii neoplasmice si a metastazelor extranodale-extrahepatice. In plus, tromboza venei porte a fost mai frecventa in grupul pacientilor infectati HIV cu HCC.

Au fost comparati 63 de pacienti infectati HIV cu HCC si 226 pacienti HIV-negativi cu HCC si s-a observat ca pacientii infectati HIV au fost mai tineri si au prezentat mai frecvent simptomatologie clinica (Bräu 2007). In aceasta cohorta HCC a avut un prognostic sever (supravietuirea medie fiind de 6 luni), dar stadializarea tumorală si ratele supravietuirii au fost similare.

In ultimii ani, rata de supravietuire a pacientilor mono infectati-VHC/VHB cu HCC (detectati prin screening) s-a imbunatatit datorita tratamentului curativ prin introducerea transplantului de ficat si ablatiei prin radiofrecventa (RFA) (Chan 2008).

Prognosticul dupa decompensare

Supravietuirea pacientilor infectati-HIV cu ciroza decompensata este mult mai mica comparativ cu pacientii HIV-negativi; exista date clare ca rata supravietuirii este in jur de 50% pe o perioada de urmarire de 1 an (Pineda 2005; Merchante 2006; Miró 2005). Intr-un studiu caz-control recent realizat in Spania (Pineda 2005), consecintele cirozei dupa prima decompensare la pacientii coinfectati sunt mult mai grave comparativ cu pacientii mono infectati. Supravietuirea la un an, doi ani si cinci ani pentru pacientii coinfectati si mono infectati a fost de 54% vs 74%, 40% vs 61%, si respectiv 25% vs 44%. Intr-un alt studiu (Merchante 2006), acelasi grup de cercetatori a identificat ca predictorii independenti ai rezultatelor slabe la pacientii coinfectati: severitatea bolii hepatice (clasificarea Child-Turcotte-Pugh [CTP] sau HE ca prima decompensare hepatica) si nivelul imunosupresiei celulare (<100 celule CD4 /mm³). Pe de alta parte, ART a fost asociata cu o rata redusa a mortalitatii.

Un alt studiu spaniol a urmarit evolutia unui numar de 104 pacienti infectati HIV cu ciroza dupa prima lor decompensare hepatica sau carcinom hepatocelular (Miró 2005). In aceasta cohorta, timpul mediu de supravietuire a fost de 14 luni, similar cu cohorta Merchante (13 luni). Acest studiu a inclus pacienti infectati VHC si pacienti VHC-negativi; nu s-au observat diferente semnificative in ceea ce priveste timpul de supravietuire tinand cont de etiologia cirozei; acest lucru sugereaza ca pacientii infectati HIV au in general un rezultat slab indiferent de natura bolii lor hepatice. In plus, scorul MELD a fost singurul factor independent asociat cu mortalitatea. Acest lucru este important, deoarece in decursul ultimilor ani MELD a fost utilizat din ce in ce mai frecvent pentru a stabili prognosticul pacientilor cu ciroza si, in consecinta, ca indicator al necesitatii transplantului hepatic.

Intr-un studiu prospectiv recent (Girón-González 2007) care a urmarit 92 de pacienti infectati HIV cu ciroza compensata si decompensata s-a observat ca probabilitatea generala de deces a fost de 25% si 37% la 1 an si respectiv 2 ani. Factorii independenti asociati cu mortalitatea datorata cirozei hepatice au fost CTP, progresia CTP, prezenta a mai mult de o decompensare si absenta ART in timpul perioadei de monitorizare.

Pacientii infectati HIV cu ciroza au un prognostic slab dupa dezvoltarea SBP (Shaw 2006). Infectia HIV a fost asociata cu o crestere mai mare de sase ori a probabilitatii de deces in termen de o luna de la primul episod de SBP. Deteriorarea functiei renale la diagnostic si severitatea bolii hepatice au fost identificate ca predictorii ai decesului. Cand s-a analizat mortalitatea pe termen lung, pacientii infectati HIV au avut de asemenea un timp de supravietuire mult mai scurt comparativ cu pacientii HIV-negativi: numai 50% din pacienti erau inca in viata la 3 luni dupa primul episod SBP si doar 23% au supravietuit dupa 1 an. Decesul a fost provocat in marea majoritate a cazurilor de complicatiile bolii hepatice avansate si mai putin de complicatiile legate de SIDA.

In doua studii au fost raportate de asemenea rate inalte ale mortalitatii in randul pacientilor coinfectati cu ESLD aflati in asteptare pentru transplantul de ficat (Maida 2005; Ragni 2005). In unul din aceste studii (Maida 2005), decesul datorat ESLD a aparut la 25% din pacienti in timpul perioadei de evaluare. In celalalt studiu (Ragni 2005), ratele mortalitatii in timpul evaluarii pre-transplant la pacientii

HIV-pozitivi (nr = 58) si HIV-negativi (nr = 1359) au fost de 36% si respectiv 15% ($p < 0.001$).

Totusi, aceste date nu au fost confirmate intr-un studiu recent din SUA. Mortalitatea la pacientii aflati pe lista de asteptare a fost de 14% la pacientii cu infectie HIV (nr = 167) si 11% in grupul control (nr = 792) ($p = 0.30$). In urma mai multor analize, scorul MELD mai mare de 25 a fost singura variabila asociata cu decesul in grupul pacientilor aflati pe lista de asteptare (Subramanian 2008).

In orice caz, medicii curanti ai pacientilor infectati HIV cu ciroza ar trebui sa monitorizeze prospectiv acesti pacienti si sa ii evalueze timpuriu pentru transplantul hepatic ortotopic (Orthotopic Liver Transplantation- OLT), dupa prima decompensare clinica a bolii hepatice. In mod similar, pacientii cu ciroza asociata cu HCC ar trebui de asemenea sa fie evaluati (Llovet 2004). Atat preventia cat si tratamentul efectiv al acestor complicatii pot imbunatati probabilitatea de supravietuire a acestor pacienti pana la OLT si ar trebui sa se realizeze in acelasi mod ca la pacientii HIV-negativi (Agüero 2007; Merchante 2007).

Managementul complicatiilor cirozei

Managementul complicatiilor (hipertensiune portala, ascita, sangerari gastrointestinale, encefalopatie, SBP, HCC si sindrom hepatorenal) trebuie sa fie planificat, la fel ca la populatia neinfectata (Cardenas 2005; Han 2006; Arroyo 2008). Managementul medical include de asemenea preventia infectiei. Avand in vedere supravietuirea de scurta durata dupa dezvoltarea SBP, ar trebui luata in considerare profilaxia primara cu antibiotice precum chinolone sau trimetoprim-sulfametoxazol (Fernandez 2007).

In ceea ce priveste HCC, screening-ul este necesar la fiecare 3-6 luni (Puoti 2004; Bruno 2006). Tratamentul HCC poate fi descurajator, depinzand de stadiul tumoral; HCC este incurabil in stadiile avansate.

La pacientii cu sindrom hepatorenal, hemodializa poate fi utilizata ca un pod catre transplantul hepatic; altfel, sindromul hepatorenal se caracterizeaza printr-o mortalitate inalta (Han 2006). Sistemul de recirculare cu absorbant molecular (MARS) poate fi o noua metoda terapeutica in aceasta situatie si asocierea sa cu transplantul/retransplantul poate fi foarte eficienta (Gaspari 2006), desi sunt necesare dovezi suplimentare la pacientii coinfectati cu ESLD si sindrom hepatorenal.

Alte solutii care pot intarzia progresia bolii hepatice, cum ar fi evitarea medicamentelor hepatotoxice (i.e., ddI), si vaccinarea impotriva hepatitei A si B, ar trebui luate in considerare.

Abuzul de substante toxice

Fumatul a fost legat de HCC (Kuper 2000) si cresterea fibrozei hepatice (Pessione 2001), precum si de cresterea activitatii histologice la pacientii cu infectie cronica cu VHC, indiferent de consumul de alcool (Hezode 2003).

Conform unui studiu desfasurat in 2003 (Rosenthal 2007), consumul de alcool a fost mai frecvent in grupul pacientilor care au murit de ESLD (92%); un alt studiu sugereaza ca alcoolul consumat in exces creste nivelul ARN-VHC (Cooper 2005).

In plus, studii recente au ajuns la concluzia ca fumatul zilnic de cannabis este asociat semnificativ cu progresia fibrozei in cazul hepatitei cronice C si recomanda pacientilor cu ciroza hepatica determinata de infectia cu VHC sa renunte la consumul de cannabis (Hezode 2008).

Managementul infectiei VHC/VHB

Chiar in stadiul de ciroza se poate trata specific hepatita B sau C, desi rezultatele sunt mai greu de obtinut mai ales in cazul hepatitei C (Soriano 2007; Rockstroh 2008).

Unul din obiectivele urmarite in tratamentul cu interferon-pegylat si ribavirina la pacientii monoinfectati-VHC cu ciroza hepatica avansata este obtinerea unor niveluri plasmaticice ale ARN-VHC nedetectabile in momentul OLT, cu scopul de a reduce riscul recurentei VHC dupa transplant. Un studiu (Everson 2005) ce a utilizat un regim terapeutic anti-VHC cu doze progresive (LADR) la pacienti monoinfectati aflati pe lista de asteptare pentru OLT a aratat ca 30 (24%) din 124 de pacienti au obtinut un raspuns virusologic sustinut (RVS) si 12 (80%) din 15 pacienti, care erau ARN VHC-negativi inainte de OLT au ramas ARN VHC-negativi 6 luni sau mai mult dupa transplant. Aceasta abordare nu a fost inca aplicata la pacientii coinfectati, desi unele informatii legate de siguranta pot fi extrapolate de la un substudiu APRICOT (Maus 2004). Decompensarea hepatica a fost observata doar la pacientii coinfectati HIV/VHC cu markeri de ciroza avansata; incidenta sa a fost de 10.4% (14/134). Totusi, sase (43%) din 14 pacienti au murit in urma decompensarii hepatice. Unul din factorii de risc asociati, a fost tratamentul antiretroviral cu didanozina (ddI). In contrast, decompensarea hepatica nu a fost observata la pacientii coinfectati-HIV/VHC fara ciroza. De aceea, tratamentul anti-VHC in timpul evaluarii pretransplant sau pe perioada in care pacientul se afla pe lista de asteptare ar trebui individualizat (ex., pacienti cu Child A si HCC sau genotip 2/3) si acesti pacienti trebuie monitorizati indeaproape, datorita riscului lor inalt de decompensare hepatica si deces.

Intr-un studiu caz-control recent, au fost evaluati 129 de pacienti monoinfectati-VHC cu ciroza decompensata. 66 din acesti pacienti au fost tratati cu PEG-IFN plus ribavirina timp de 24 de saptamani si comparati cu grupul de control netratat (nr = 63). 13 pacienti au intrerupt tratamentul datorita intolerantei. Raspunsul virusologic sustinut (RVS) a fost observat la 82.6%, 43.5%, 30.2% si 7% din pacientii cu genotip VHC 2, 3, 1 si respectiv 4. Odds ratio pentru infectie severa sau deces datorita infectiei a fost mai mare in cadrul grupului tratat, in timp ce ascita, encefalopatia si hemoragia esofagiana au scazut in acest grup. Pe timpul perioadei de monitorizare s-au inregistrat 15 decese in grupul de control si noua in grupul de non-responderi. Toti pacientii care au obtinut RVS au supravietuit si niciunul nu a necesitat OLT. Autorii au ajuns la concluzia ca la pacientii monoinfectati-VHC clearance-ul VHC prin terapie reduce progresia bolii (Lacobellis 2007).

Deoarece replicarea VHB este o contraindicatie pentru OLT si doar pacientii fara viremie VHB sunt acceptati pentru OLT, tratamentul acestei infectii ar trebui sa fie o prioritate. Pacientii HIV-pozitivi care necesita terapie antiretrovirala si au infectie cronica cu VHB pot fi tratati cu lamivudina (sau emtricitabina) si tenofovir, ca parte a terapiei antiretrovirale triple (Soriano 2007; GESIDA/PNS Panel of Experts 2007).

Adefovirul si tenofovirul s-au dovedit a fi utile impotriva VHB si pot fi utilizate in caz de rezistenta la lamivudina (Soriano 2007).

Tratamentul antiretroviral (ART)

Rolul ART in progresia bolii hepatice si in general asupra mortalitatii la pacientii coinfectati-HIV/VHC este o problema inca in dezbateri (Tedaldi 2003; Qurishi 2003). Utilizarea inhibitorilor de proteaza poate oferi protectie pentru progresia fibrozei legate de VHC (Benhamou 2001; Macias 2006). Regimurile antiretrovirale ar trebui luate in considerare cu prudenta la persoanele cu HIV si ESLD. Acesti pacienti ar trebui sa urmeze recomandarile generale (GESIDA/PNS Panel of Experts 2007; Clumeck 2008) si functia lor hepatica trebuie monitorizata indeaproape in vederea determinarii hepatotoxicitatii. O atentie speciala trebuie acordata prescriptiei medicamentelor si posibilelor interactiuni.

Mai mult, unele medicamente antiretrovirale pot fi contraindicate la pacientii cu ciroza (ex., ddl, nevirapina, ritonavir doza intreaga) si doza lor ar trebui ajustata conform gradului deteriorarii hepatice (Wyles 2005; Back 2008; Tuset 2008)

Monitorizarea terapeutica a medicamentelor (TDM) poate fi utila pentru efavirenz si inhibitorii de proteaza. Indinavirul si atazanavirul pot creste nivelurile bilirubinei neconjugate prin inhibarea UDP-glucuronosiltransferazei. Deoarece bilirubina totala este o componenta atat a clasificarii CTP cat si a scorului MELD, rezultatele la pacientii care iau aceste medicamente ar trebui interpretate cu prudenta.

In sfarsit, medicii ar trebui sa consulte bazele de date actualizate ale interactiunilor intre medicamente, datorita vitezei cu care noile antiretrovirale apar si interactiunilor necunoscute care sunt astfel generate (Back 2008; Tuset 2008).

OLT (Transplantul hepatic ortotopic)

OLT este singura optiune terapeutica pentru pacientii ESLD. Infectia HIV nu este o contraindicatie pentru transplantul hepatic (Miró 2007; Stock 2007; Samuel 2008; Norris 2008). Exista 3 clase diferite de criterii pentru includerea pacientilor infectati HIV in lista de asteptare pentru transplant hepatic: cele legate de boala hepatica, cele legate de infectia HIV si alte criterii.

Criteriile bolii hepatice

Criteriile legate de boala hepatica sunt aceleasi ca pentru populatia neinfectata HIV; principala indicatie pentru OLT la pacientii HIV-infectati este ESLD produs de coinfectia VHC. Indicatii mai putin frecvente sunt coinfectia cu VHB (fie acuta, fie ESLD) si cancerul hepatic.

In cadrul ghidului UK (O'Grady 2005), indicatiile pentru transplant hepatic includ insuficienta hepatica acuta, boala hepatica decompensata (cu ascita, encefalopatie [este important sa fie exclusa dementa legata de HIV] sau hemoragia varicelor esofagiene care este greu de stapanit cu terapiile standard, si functia hepatica redusa [e.g., albumina <30 g/l, INR >1.5 si bilirubina serica crescuta >450 mmol/L]) si HCC detectat in timpul controlului tumoral regulat. In zona Eurotransplant aceste criterii au fost inlocuite cu scorul MELD (Capitolul 22). Criteriile pentru transplant hepatic la pacientii cu HCC sunt urmatoarele: nu mai mult de trei noduli tumorali, nici unul cu diametrul mai mare de 5 cm, absenta invaziei macroscopice a venei porte si absenta bolii extrahepatice (Milan criteria, Capitolul 22).

Criteriile legate de infectia HIV

Majoritatea centrelor pentru transplant hepatic din Europa si America de Nord utilizeaza criteriile similare pentru infectia HIV. Aceste criterii sunt sumarizate in Tabelul 1 (O'Grady 2005; Grossi 2005; Miró 2005; Anonymous 2004).

	Spania [Miro 2005]	Italia [Grossi 2005]	UK [O'Grady 2005]	SUA [Anon 2004]
Evenimente anterioare:				
- Infectii oportuniste	Unele*	Nici una in anul precedent.	Nici una dupa restaurarea imunologica indusa de ART.	Unele**
- Neoplasme	Nu	Nu		Nu
Celule CD4 /mm³	>100***	>200 sau >100 in caz de ciroza decompensata	>200 sau >100 in caz de hipertensiune portala	>100***
Incarcature virala ARN HIV-1 BDL sub HAART****	Da	Da	Da	Da

BDL:Sub nivelul de detectie (<200 copii/mL). * In Spania, pacienti cu tuberculoza in antecedente, pneumonie cu *Pneumocystis jiroveci* (PCP) sau candidoza esofagiana pot fi evaluati pentru OLT; ** In SUA, PCP si candidoza esofagiana nu au fost criterii de excludere; *** Pacienti cu infectii oportuniste anterioare ar trebui sa aiba >200 celule CD4 /mm³; **** Daca PVL a fost detectabila, supresia post-OLT cu ART ar trebui sa fie previzibila la toti pacientii.

Tabelul 1. Criteriile legate de infectia HIV pentru OLT in unele tari europene si SUA.

Criterii clinice

Unii autori sunt in favoarea eliminarii unor criterii de excludere, precum unele infectii oportuniste care pot fi eficient tratate si prevenite (tuberculoza, candidiaza si pneumonia cu *Pneumocystis jiroveci*) (Roland 2003; Neff 2004; Radecke 2005).

De fapt, un studiu sponsorizat de NIH a actualizat recent criteriile de includere pentru infectiile oportuniste si doar acele boli care nu se afla sub terapie reprezinta inca, un criteriu de excludere pentru transplantul hepatic (ex., leucoencefalopatia multifocala progresiva, criptosporidioza cronica, infectiile fungice sistemice multirezistente la medicamente, limfomul cerebral primar si sarcomul Kaposi visceral) (Roland 2006).

Criterii imunologice

Toti autorii sunt de acord ca pentru OLT numarul limfocitelor CD4+ ar trebui sa fie peste 100 celule /mm³ (Roland 2003; Neff 2004). Aceasta valoare este mai mica decat in cazul transplantului de rinichi (CD4 >200 celule/mm³), deoarece pacientii cu ciroza au adesea limfopenie datorata hipersplenismului, care conduce la un numar absolut al celulelor CD4+ mai mic, in ciuda procentului ridicat de CD4 si controlului virusologic bun al replicarii HIV. In Spania si SUA pacientii cu infectii oportuniste anterioare ar trebui sa aiba mai mult de 200 celule/mm (Miró 2005; Anonymous 2004).

Pe de alta parte, un numar de celule CD4 peste 200 celule/mm³ este pragul utilizat in Italia (Grossi 2005) si UK (O'Grady 2005), mai putin la pacientii cu ciroza decompensata sau respectiv, hipertensiune portală. In aceasta situatie, ei utilizeaza acelasi prag pentru celulele CD4 folosit in Spania si SUA (100 celule/mm³).

Criterii virusologice

Criteriul esential pentru OLT este ca pacientii sa beneficieze de terapie antiretrovirala eficienta, sigura si de lunga durata pe timpul perioadei posttransplant (Neff 2004; Fung 2003). Situatia ideala este aceea in care pacientul tolereaza ART inainte de transplant si este gata pentru transplant, avand incarcature virala HIV nedetectabila prin tehnici ultra-sensibile (< 50 copii/ml). Unii pacienti nu au indicatie pentru ART, deoarece fie sunt supravietuitori de lunga durata (LTNP), fie nu au criterii imunologice (limfocitele CD4+ >350 celule/mm³) sau clinice pentru initierea ART si, de aceea, viremia lor este detectabila in plasma. In aceasta situatie, nu este cunoscut daca si cand (pre-transplant sau post-transplant) ar fi benefica initierea ART in vederea obtinerii unor niveluri nedetectabile ale ARN HIV plasmatic.

Alte criterii

Pentru a fi inclus pe lista de asteptare pentru OLT, un pacient infectat HIV trebuie sa aiba o evaluare psihiatrica favorabila. Pacientii care consuma in mod activ droguri vor fi exclusi. In Spania, o perioada de doi ani fara consum de heroina si cocaina (Miró 2005) si sase luni fara dependenta de alte droguri (e.g., alcool) este acceptata. Pacientii care urmeaza un program stabil de intretinere cu metadona nu sunt exclusi de la transplant si pot continua acest program post-transplant (Liu 2003). In sfarsit, ca in cazul oricarui candidat pentru transplant, pacientii infectati HIV trebuie sa aiba un nivel adecvat de stabilitate sociala pentru a putea asigura o ingrijire corespunzatoare in perioada post-transplant.

Evolutia transplantului hepatic ortotopic (OLT) la pacientii HIV-infectati

In general, ratele de supravietuire pe termen scurt la pacientii HIV-infectati care au suferit OLT au fost raportate ca fiind similare cu cele ale pacientilor HIV-negativi fara coinfectie VHC (Fung 2004; Roland 2002; Ragni 2003; Neff 2003; Norris 2004; Duclos-Vallee 2006; De Vera 2006; Schreiber 2007; Coffin 2007; Grossi 2008). Pacientii infectati HIV nu au avut un risc crescut de complicatii post-operatorii, nici o incidenta mai mare a infectiilor oportuniste sau tumorilor fata de pacientii HIV-negativi (Samuel 2008; Norris 2008). Infectiile bacteriene au fost frecvente la primitorii de transplant hepatic (43%) si renal (35%) si infectia VHC a fost singurul factor asociat cu cresterea riscului de infectie bacteriana (numai la primitorii de transplant hepatic) (Blumberg 2008).

In tarile dezvoltate, cateva sute de pacienti au suferit OLT cu o rata de supravietuire pe termen scurt buna (Tabelul 2).

Supravietuirea pe termen mediu este afectata de hepatita C recurenta (De Vera 2006). Dupa OLT, recurenta infectiei cu VHC este universala, indiferent daca pacientul este infectat cu HIV sau nu; de fapt, in prezent, este cauza principala de deces. Unele studii au sugerat ca recurenta VHC la pacientii coinfectati tinde sa fie mai severa si apare mai devreme (De Vera 2006; Castells 2006).

Rezultatele la 27 de pacienti coinfectati au fost comparate cu cele obtinute la 54 de pacienti mono infectati VHC care au suferit OLT (De Vera 2006). Cercetatorii au observat ca pacientii HIV-pozitivi au o mai mare probabilitate de a dezvolta ciroza sau de a deceda din cauza unei complicatii legate de VHC comparativ cu subiectii HIV-negativi (RR = 2.6, 95%CI, 1.06–6.35; p = 0.03). Cumulativ, supravietuirea la 1 an, 3 ani si 5 ani la pacientii coinfectati si mono infectati a fost de 67% vs. 76%, 56% vs. 72% si respectiv 33% vs. 72% (p = 0.07).

Autorul	Anul	Tara	Nr. de cazuri	Virusul	Perioada de monitorizare (luni)	Rata de supravietuire
Roland	2002	International	19	Majoritatea VHC	10	15 (79%)
Ragni	2003	International	24	VHC - 62% VHB - 29%	17	18 (75%)
Neff	2003	SUA	16	VHC sau VHB	12	14 (87%)
Fung	2004	SUA	29	VHC - 90%	18	20 (69%)
Norris	2004	UK	14	VHC - 50% VHB/OH - 50%	12 19	2 (29%) 7 (100%)
Duclos-Vallee	2006	Franta	41	VHC - 88% VHB - 12%	18	29 (81%) 5 (100%)
De Vera	2006	SUA	27	VHC - 100%	27	13 (48%)

Scherei bman	2007	SUA	15	VHC - 40% VHB - 33%	74	10 (67%)
Coffin	2007	SUA	16	VHB - 100%	8,5	14 (86%)
Studiu spaniol*	2008	Spania	127	VHC - 94%	21	89 (74%)
Grossi	2008	Italia	60	VHC - 65% VHB - 12%	12	41 (58.3%)

*Date nepublicate

Tabelul 2. Transplantul hepatic la pacientii infectati HIV: principalele serii de cazuri (≥ 10) in era ART recenta (2002-2008).

Intr-un studiu retrospectiv recent realizat in SUA, care a urmarit 138 de pacienti infectati HIV cu transplant hepatic in era ART (1996-2006), rata de supravietuire la 2 si 3 ani a fost semnificativ mai mica la pacientii cu infectie HIV (70% si 60%) comparativ cu populatia generala ($n = 30,520$) (81% si 77%), desi aceasta diferenta a fost observata exclusiv in grupul pacientilor coinfectati VHC/HIV-VHB/HIV. Nici unul din cei 24 de pacienti mono infectati-HIV transplantati nu a decedat (Mindikoglu 2008). Prin urmare, transplantul hepatic la pacientii infectati HIV nu prezinta o mortalitate mai mare pe termen scurt (1-2 ani). Cu toate acestea, rezultatul reinfectiei cu VHC poate afecta supravietuirea pe termen mediu (3-5 ani) si lung (5-7 ani).

In Franta, datele de la 35 de pacienti coinfectati HIV/VHC au fost analizate si comparate cu cele obtinute de la 44 de pacienti mono infectati VHC. Rata de supravietuire la 2 si 5 ani a fost de 81% si 91% si 51% si 73% la pacientii coinfectati HIV/VHC si respectiv la pacientii mono infectati VHC ($p = 0.004$) (Duclos-Vallée 2008).

Invers, intr-un studiu caz-control spaniol (Miró 2007), rata de supravietuire a pacientilor si grefelor la 3 ani a fost similara la pacientii coinfectati HIV/VHC ($nr = 51$) cu cea observata la pacientii mono infectati VHC ($nr = 1177$). Rata de supravietuire la 1, 2 si 3 ani a fost de 88% versus 81%, 75% versus 74% si respectiv 64% versus 69% ($p = NS$). Desi in acest studiu nu exista date disponibile la 5 ani, diferentele observate intre rezultatele din Spania si cele obtinute in Franta si America arata necesitatea realizarii unor noi studii de cohorta pentru a examina caracteristicile donatorilor si primitorilor si problemele legate de activitatea ambelor virusuri, precum si eficienta si siguranta terapiei antivirale in vederea aprecierii prognosticului pe termen lung al acestei proceduri.

Dupa OLT, recurenta infectiei cu VHC este generala, indiferent daca pacientul este infectat cu HIV sau nu. Unele studii au sugerat ca recurenta VHC la pacientii coinfectati tinde sa fie mai severa si apare mai devreme (De Vera 2006; Castells 2006).

O progresie rapida a bolii hepatice legata de VHC la primitorii infectati HIV ar reprezenta un dezavantaj major si ar conduce la o speranta de viata mai reduasa la acesti pacienti; de fapt, in prezent este principala cauza de deces. Un studiu francez

a observat ca progresia spre fibroza (F2 sau mai mult) a fost semnificativ mai mare in grupul pacientilor infectati HIV ($p < 0.0001$) (Duclos-Vallée 2008) si scorul MELD a fost singurul predictor semnificativ al mortalitatii, desi varsta donatorului a avut o semnificatie la limita ($p = 0.06$).

Alti factori negativi pentru supravietuire raportati de un studiu spaniol au fost: progresia histologica spre ciroza (F4) si varsta donatorului (Miró 2008).

In sfarsit, un studiu recent a descris doua cazuri de clearance spontan al ARN VHC dupa OLT. Acest fenomen este foarte rar si mecanismul sau nu este inca cunoscut (Bhagat 2008).

Experienta in ceea ce priveste eficienta si siguranta terapiei cu interferon si ribavirina este insuficienta la pacientii coinfectati transplantati. Un studiu (Miró 2007) a realizat sumarizarea rapoartelor ce au evaluat eficienta tratamentului cu PEG-IFN plus ribavirina in cazul reinfectiei cu VHC la OLT (Fung 2004; Duclos-Vallee 2006; De Vera 2006; Vennarecci 2006; Castells 2007; Miró 2007). Acesti pacienti au fost tratati cand au avut criteriile histologice. Doar 12 (18.5%) din 65 de pacienti coinfectati HIV/VHC au obtinut un raspuns virusologic sustinut (RVS) (Tabelul 3).

Autorul Anul publicatiei (Referinte)	Pacienti coinfectati HIV/VHC		Pacienti mono infectati-VHC fara infectie HIV (Grupul control)	
	Nr. de cazuri	RVS ^a Nr (%)	Nr. de cazuri	RVS ^a Nr (%)
Fung 2004	12	2 (17%)	-	-
Duclos-Vallee 2006	13	2 (15%)	-	-
de Vera 2006 ^b	15	4 (27%)	27	7 (28%) ^c
Vennarecci 2006 ^d	9	0 (0%)	-	-
Castells 2007 ^e	5	1 (20%)	9	1 (11%)
Spanish study 2007	16	4 (25%)	-	-
Total	65	12 (18.5%)	-	-

^aRVS: raspuns virusologic sustinut; ^bMajoritatea cazurilor au fost genotip 1. Trei pacienti au fost tratati clasic cu interferon plus ribavirina; ^cRata raspunsului virusologic sustinut nu a fost specificata. Datele arata rata raspunsului virusologic (clearance-ul ARN VHC seric); ^d Autorii nu au specificat tipul de interferon utilizat; si, ^eAcesti pacienti au fost inclusi in studiul spaniol si nu a fost luata in calcul rata de raspuns global. Miro et al. J HIV ther. 2007; 12(1):24-35.

Tabelul 3. Sumarizarea studiilor ce au evaluat eficienta tratamentului cu interferon pegylat plus ribavirina in cazul reinfectiei cu VHC la OLT.

Krishnan si colaboratorii au analizat factorii asociati cu RVS la 23 de pacienti coinfectati HIV/VHC care au suferit OLT si au observat ca varsta donatorului <60 ani ($p = 0.03$), genotipul altul decat 1 ($p = 0.001$) si utilizarea ciclosporinei (Cya) ($p = 0.002$) s-au corelat cu RVS. Intr-o analiza logica a regresiei, genotipul viral altul decat 1 ($\text{ExpB} = 7.25$, 95% CI = 2.14-24.49, $p = 0.001$), utilizarea Cya in timpul

tratamentului ($ExpB = 7.05$, $95\% CI = 2.03-24.51$, $p = 0.002$) si varsta donatorului <60 ani ($ExpB = 4.16$, $95\% CI = 1.22-14.22$, $p = 0.02$) au fost predictori independenti ai RVS (Krishnan 2008).

Sunt necesare noi strategii pentru a imbunatatii rezultatele recurenteii VHC post-OLT. Un studiu german recent a aratat ca RVS a fost obtinut la 6 din 7 pacienti tratati in primele trei luni dupa OLT (Emmelkamp 2007).

Cohortele de pacienti coinfectati HIV/VHB nu sunt atat de mari precum cele de pacienti infectati HIV/VHC; totusi, rezultatele dupa OLT sunt mult mai bune (Terrault 2006; Coffin 2007; Grossi 2008). Probabil datorita incidentei scazute a reinfectiei VHB, rata de supravietuire pe termen scurt si mediu la pacientii coinfectati VHB/HIV este inalta si similara cu cea observata la pacientii mono infectati VHB.

In ceea ce priveste HCC, experienta italiana preliminara arata rezultate bune la sapte pacienti infectati HIV-1 cu HCC care au suferit OLT. Ei au observat o rata de supravietuire generala la pacienti si grefa de 86% dupa o perioada de monitorizare de 8 luni. Acesti autori recomanda OLT la pacientii infectati HIV cu stadiu HCC timpuriu (Di Benedetto 2006; Di Benedetto 2008).

Concluzii

ESLD devine o situatie clinica tot mai frecventa in cazul coinfectiei HIV/VHC si importanta sa este in crestere de cand a fost introdusa terapia antiretrovirală.

Diagnosticul timpuriu al complicatiilor ESLD este foarte important si acestea trebuie activ monitorizate si tratate. In termeni generali, managementul ESLD la pacientii infectati HIV trebuie sa fie acelasi ca in cazul pacientilor fara infectie HIV.

Medicii care au in grija pacienti cu ESLD ar trebui sa ii monitorizeze prospectiv si sa ii evalueze pentru OLT dupa prima decompensare clinica a bolii hepatice.

OLT este o procedura de salvare in cadrul acestei populatii. Este o metoda terapeutica sigura si eficienta la pacientii cu infectie VHB. Pe de alta parte, reinfectia cu VHC poate juca un rol negativ, afectand grefa si supravietuirea pe termen lung si mediu la pacientii coinfectati HIV/VHC. Este necesara realizarea unor studii prospective si de amploare, cu o perioada mai mare de monitorizare pentru a determina beneficiile OLT in aceasta situatie.

Referinte

- Agüero F, Laguno M, Moreno A et al. Management of end-stage liver disease in HIV-infected patients. *Curr Op HIV/AIDS*. 2007, 2:474-481.
- Alter M. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. *J Hepatol* 2006;44,S6-S9
- Anonymous. Solid organ transplantation in the HIV-infected patient. *Am J Transplant*. 2004 Nov;4 Suppl 10:83-8.
- Arroyo V, Fernandez J, Ginés P. Pathogenesis and treatment of hepatorenal syndrome. *Semin Liver Dis*. 2008 Feb;28(1):8.

395 | Transplantul hepatic in hepatitele B, C si in coinfectiile acestora cu HIV

- Back D, Gibbons S. The University of Liverpool HIV drug interactions website. Available at: http://www.hiv-druginteractions.org/frames.asp?pharmacology/pharma_main.asp. June 2008
- Bhagat V, Foont J, Schiff E et al. Spontaneous Clearance of Hepatitis C Virus After Liver Transplantation in Two Patients Coinfected with Hepatitis C Virus and Human Immunodeficiency Virus. *Liver Transpl* 14:92-95, 2008
- Benhamou Y, Di Martino V, Bochet M et al. Factors affecting liver fibrosis in HIV and hepatitis C coinfecting patients: impact of protease inhibitor therapy. *Hepatology* 2001; 34: 283–287.
- Blumberg E, Barin B, Olthoff K et al. Bacterial Infections in HIV Positive Transplant Recipients. American Transplant Congress. May 31- June 4 2008. Toronto Canada. Abstract# 17
- Bräu N, Fox R, Xiao P, et al. Presentation and outcome of hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: a U.S.-Canadian multicenter study. *H Hepatol.* 2007; 47(4): 447-50
- Bruno R, Puoti M, Sacchi P et al. Management of hepatocellular carcinoma in human immunodeficiency virus-infected patients *J Hepatol* 2006; 44: S146-S150
- Cardenas A, Gines P. Management of complications of cirrhosis in patients awaiting liver transplantation. *J Hepatol* 2005;42 Suppl 1: S124-S133.
- Castells L, Esteban J, Bilbao I et al. Early antiviral treatment of hepatitis C virus recurrence after liver transplantation in HIV-infected patients. *Antiviral Therapy* 2006; 11:1061-1070
- Castells L, Escartin A, Bilbao I, et al. Liver Transplantation in HIV-HCV Coinfected Patients: A Case-Control Study. *Transplantation.* 2007; 83:354-358
- Chan A, Poo R ,Ng K et al. Changing Paradigm in the Management of Hepatocellular Carcinoma Improves the Survival Benefit of Early Detection by Screening. *Ann Surg* 2008;247: 666–673
- Clumeck N, Pozniak A, Raffi F; EACS Executive Committee. European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of HIV-infected adults. *HIV Med.* 2008 Feb;9(2):65-71.
- Coffin CS, Berg CL, Dove LM. Survival and risk of hepatitis B virus (HBV) recurrence in HIV-HBV coinfecting liver transplant recipients: preliminary findings from the HIV-TR study. 58th Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. Boston, MA. November 2-6, 2007. Abstract 28
- Cooper C, Cameron DW: Effect of alcohol use on the impact of effective antiretroviral therapy for HIV co-infection on plasma HCV levels. *Clin Infect Dis* 2005, 41:S105-109.
- Crum NF, Riffenburgh RH, Wegner S, et al. Comparisons of causes of death and mortality rates among HIV-infected persons: analysis of the pre, early, and late HAART (highly active antiretroviral therapy) eras. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; 41:194–200.
- De Vera ME, Dvorchik I, Tom K et al. Survival of liver trasplant patients coinfecting with HIV and HCV is adversely impacted by recurrent Hepatitis C. *Am J Transplant* 2006; 6:2983-2993
- Di Benedetto F, de Ruvo N, Berretta M, Massetti M, Montalti R, di Sandro S et al. Don't Deny Liver Transplantation to HIV Patients With Hepatocellular Carcinoma in the Highly Active Antiretroviral Therapy Era. *J Clin Oncol.* 2006; 24: e26-e27.
- Di Benedetto F, De Ruvo N, Berretta N, et al. Hepatocellular carcinoma in HIV patients treated by liver transplantation. *EJSO* 34 (2008) 422e427
- Duclos-Vallee JC, Teicher E, Feray C, et al. Liver Transplantation of HIV-HCV and HIV-HBV Coinfected Patients: A Large Experience in a Single Centre. *Liver Transpl* 2006, 12, No. 5 C-103.

- Duclos-Vallée J, Féray C, Sebagh M, et al. Survival and recurrence of hepatitis C after liver transplantation in patients coinfectd with human immunodeficiency virus and hepatitis C virus. *Hepatology*. 2008 Feb;47(2):407-17
- Emmelkamp J, Guaraldi G, Cocchi S et al. Antiviral therapy for HCV-recurrence after liver transplantation in HIV/HCV-infected individuals. 11th European AIDS Conference/EACS. October 2007, Madrid
- Everson G. Treatment of Hepatitis C in Patients Who Have Decompensated Cirrhosis. *Clin Liver Dis* 9 (2005) 473– 486
- Fernández J, Navasa M, Planas R, et al. Primary prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis delays hepatorenal syndrome and improves survival in cirrhosis. *Gastroenterology*. 2007 Sep;133(3):818-24.
- Fung J, Eghtesad B, Patel-Tom K et al. Liver transplantation in patients with HIV infection. *Liver Transpl* 2004;10 (Suppl 2): S39-S53.
- Fung LT, Roland ME, Stock PG. Review of solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *Transplantation* 2003;75: 425-429.
- Gaspari R, Avolio AW, Zileri Dal Verne L. Molecular adsorbent recirculating system in liver transplantation: safety and efficacy. *Transplant Proc* 2006; 38(10):3544-51
- Girón-González J, Brun F, Terrón A et al. Natural history of compensated and decompensated HCV-related cirrhosis in HIV-infected patients: a prospective multicentre study. *Antivir Ther* 2007;12(6):899-907
- Graham CS, Baden LR, Yu E et al. Influence of human immunodeficiency virus infection on the course of hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2001; 33:562-9
- Grossi PA, Tumietto F, Costigliola P et al. Liver Transplantation In HIV-Infected Individuals: Results Of The Italian National Program. *Transplant International* 2005;18 (suppl 1): 11.
- Grossi P, Gabbriellini F, De Cillia C et al. The Italian Experience of Liver Transplantation in HIV-Infected Individuals. 43rd annual meeting of the European Association for the Study of the Liver (EASL 2008). Milan, Italy. April 23-27, 2008
- Han MK, Hyzy R. Advances in critical care management of hepatic failure with insufficiency. *Crit Care Med* 2006; 9: S225-31
- Hezode C, Lonjon I, Roudot-Thoraval F et al. Impact of smoking on histological liver lesions in chronic hepatitis C. *Gut* 2003, 52:126-129
- Hezode C, Zafrani ES, Roudot-Thoraval F, et al. Daily cannabis use: a novel risk factor of steatosis severity in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 2008 Feb;134(2):432-9.
- Iacobellis A, Siciliano M, Perri F, et al. Peginterferon alfa-2b and ribavirin in patients with hepatitis C virus and decompensated cirrhosis: a controlled study. *J Hepatol*. 2007 Feb;46(2):206-12)
- Konopnicki D, Mocroft A, de Wit S et al. Hepatitis B and HIV: prevalence, AIDS progression, response to highly active antiretroviral therapy and increased mortality in the EuroSIDA cohort. *AIDS*. 2005;19: 593-601.
- Krishnan K, Poordad F, Reddy R et al. Safety and Efficacy of Antiviral Therapy in Hepatitis C Virus (HCV)-Human Immunodeficiency Virus (HIV) Coinfected Liver Transplant Recipients: Preliminary HIVTR Results. American Transplant Congress 2008. May 31-June 4 2008. Toronto Canada. Abstract# 1618
- Kuper H, Tzonou A, Kakkamani E et al. Tobacco smoking, alcohol consumption and their interaction in the causation of hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2000, 85:498-502.

397 | Transplantul hepatic in hepatitele B, C si in coinfectiile acestora cu HIV

- Lewden C, Salmon D, Morlat P, et al. Causes of death among human immunodeficiency virus (HIV)-infected adults in the era of potent antiretroviral therapy: emerging role of hepatitis and cancers, persistent role of AIDS. *Int J Epidemiol* 2005; 34:121-130.
- Liu LU, Schiano TD, Lau N et al. Survival and risk of recidivism in methadone-dependent patients undergoing liver transplantation. *Am J Transplant* 2003;3: 1273-1277.
- Llovet JM, Fuster J, Bruix J; Barcelona-Clinic Liver Cancer Group. The Barcelona approach: diagnosis, staging, and treatment of hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2004;10(2 Suppl 1): S115-S120.
- Macias J, Mira J, Lopez Cortes L. Antiretroviral therapy based on protease inhibitors as a protective factor against liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *Antiviral therapy* 2006; 11: 839-846.
- Maida I, Nunez M, Gonzalez-Lahoz J, Soriano V. Liver transplantation in HIV-HCV coinfecting candidates: what is the most appropriate time for evaluation? *AIDS Res Hum Retroviruses* 2005; 21: 599-601.
- Mauss S, Valenti W, DePhamphilis J. Risk factors for hepatic decompensation in patients with HIV/HCV coinfection and liver cirrhosis during interferon-based therapy. *AIDS* 2004; 18:F21-F25
- Martinez E, Milinkovic A, Buiria E et al. Incidence and causes of death in HIV-infected persons receiving highly active antiretroviral therapy compared with estimates for the general population of similar age and from the same geographical area. *HIV Medicine* 2007;8: 251-258
- Merchante N, Giron-Gonzalez JA, Gonzalez-Serrano M et al. Survival and prognostic factors of HIV-infected patients with HCV-related end-stage liver disease. *AIDS*. 2006 Jan 2;20(1):49-57.
- Merchante N, Jiménez-Saenz M, Pineda JA. Management of HCV-related end-stage liver disease in HIV-coinfecting patients. *AIDS Rev*. 2007; 9:131-9
- Miro JM, Murillas J, Laguno M et al. Natural history and prognosis of end stage liver disease (ESLD) in Spanish HIV-1 infected patients: A prospective cohort study of 104 patients (1999-2004). 10th European AIDS Conference. Dublin (Ireland). November 17-20, 2005. Abstract # PS7/1.
- Mindikoglu A, Regev A, Magder L. Impact of human immunodeficiency virus on survival after liver transplantation: analysis of United Network for Organ Sharing database. *Transplantation*. 2008 Feb 15;85(3):359-68).
- Miró JM, Torre-Cisneros J, Moreno A, et al. GESIDA/GESITRA-SEIMC, PNS and ONT consensus document on solid organ transplant (SOT) in HIV-infected patients in Spain – March, 2005. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2005; 23: 353-362.
- Miro JM, Montejo M, Castells LL, et al. Treatment of Spanish HIV-infected patients with recurrent hepatitis C virus (HCV) after liver transplantation (OLT) with pegylated interferon (PEG-INF) plus ribavirin (RBV): Preliminary results of the FIPSE OLT-HIV-05 - GESIDA 45-05 Cohort Study (2002-06). 14th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Los Angeles, California. February 25-28, 2007. Abstract 890.
- Miró JM, Montejo M, Castells L et al. 3-year survival of HCV-HIV coinfecting liver transplant recipients (OLT) is similar to that of HCV monoinfected recipients. 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). Chicago, 2007. V-1732.
- Miro JM, Aguero F, Laguno M et al. Liver transplantation in HIV/Hepatitis coinfection. *J HIV ther*. 2007; 12(1):24-35.
- Miró JM, Montejo M, Castells L et al. Prognostic Factors of Mortality in HCV-HIV-Coinfecting Liver Transplant Recipients From the FIPSE OLT-HIV-05 - GESIDA 45-05 Cohort Study. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2008) February 3-6, 2008, Boston. Abstract P1062.

- Mohsen AH, Easterbook PJ, Taylor C et al. Impact of human immunodeficiency virus (HIV) on the progression of liver fibrosis in Hepatitis C virus infected patients. *Gut* 2003; 52:1035-40
- Neff GW, Sherman KE, Eghtesad B, Fung J. Review article: current status of liver transplantation in HIV-infected patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20: 993-1000.
- Neff GW, Bonham A, Tzakis AG et al. Orthotopic liver transplantation in patients with human immunodeficiency virus and end-stage liver disease. *Liver Transpl.* 003;9(3):239-47.
- Norris S, Taylor C, Muiesan P et al. Outcomes of liver transplantation in HIV-infected individuals: the impact of HCV and HBV infection. *Liver Transpl* 2004;10: 1271-1278.
- Norris S, Houlihan D. Liver transplantation in HIV-positive patients. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008, 2, 39-46
- O'Grady J, Taylor C, Brook G. Guidelines for liver transplantation in patients with HIV infection (2005). *HIV Med.* 2005;6 Suppl 2:149-53.
- Palella FJ Jr, Baker RK, Moorman AC, et al. Mortality in the highly active antiretroviral therapy era: changing causes of death and disease in the HIV outpatient study. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; 43:27-34.
- Panel de expertos de GESIDA; Plan Nacional sobre el Sida. Recommendations from the GESIDA/Spanish AIDS Plan regarding antiretroviral treatment in adults with human immunodeficiency virus infection (update January 2007)]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2007; 25:32-53.
- Pessione F, Ramond MJ, Njapoum C et al. Cigarette smoking and hepatic lesions in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2001, 34:121-125.
- Pineda JA, Romero-Gomez M, Diaz-Garcia F, Giron-Gonzalez JA, Montero JL, Torre-Cisneros J, et al. HIV coinfection shortens the survival of patients with hepatitis C virus-related decompensated cirrhosis. *Hepatology.* 2005;41: 779-789.
- Poynard T, Mathurin P, Lai CL et al. A comparison of fibrosis progression in chronic liver diseases. *J Hepatol* 2003; 38:257-65
- Puoti M, Bruno R, Soriano V, et al. Hepatocellular carcinoma in HIV-infected patients: epidemiological features, clinical presentation and outcome. *AIDS* 2004; 18: 2285-93
- Qurishi N, Kreuzberg C, Luchters G et al. Effect of antiretroviral therapy on liver-related mortality in patients with HIV and hepatitis C virus coinfection. *Lancet* 2003; 362: 1708-1713.
- Radecke K, Fruhauf NR, Miller M et al. Outcome after orthotopic liver transplantation in five HIV-infected patients with virus hepatitis-induced cirrhosis. *Liver Int.* 2005 Feb;25(1):101
- Ragni MV, Belle SH, Im K et al. Survival of human immunodeficiency virus-infected liver transplant recipients. *J Infect Dis* 2003;188: 1412-1420
- Ragni MV, Eghtesad B, Schlesinger KW et al. Pretransplant survival is shorter in HIV-positive than HIV-negative subjects with end-stage liver disease. *Liver Transpl.* 2005 Nov;11(11):1425-30
- Rockstroh J, Mocroft A, Soriano V et al. Influence of Hepatitis C Coinfection on HIV Disease Progression within the EuroSIDA Cohort. 9th European AIDS Conference. October 25 - 29, 2003 Warsaw (Poland). Abstract F12/4.
- Rockstroh J, Bhagani S, Benhamo Y, et al. EACS Executive Committee European AIDS Clinical Society (EACS) guidelines for the clinical management and treatment of chronic hepatitis B and C coinfection in HIV-infected adults." *HIV MED* 008 Feb;9(2):82-8.
- Roland ME, Stock PG. Review of solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *Transplantation* 2003;75: 425-429.

399 | Transplantul hepatic în hepatitele B, C și în coinfectiile acestora cu HIV

- Roland M, Stock PG. Liver Transplantation in HIV-Infected Recipients. Seminar in Liver Disease. 2006; 26:273-284.
- Roland M, Carlson L, Ragni M et al. Solid organ transplantation in HIV-infected recipients: 47 cases in the HAART era (Abstract MoOrB1060). En: XIV International AIDS Conference. Barcelona, Spain 2002.
- Rosenthal E, Pialoux G, Bernard N et al. Liver-related mortality in human-immunodeficiency-virus-infected patients between 1995 and 2003 in the French GERMIVIC Joint Study Group Network (MORTAVIC 2003 Study). *J Viral Hepat*, 2007, 14:183-88
- Samuel D, Weber R, Stock P et al. Are HIV-infected patients candidates for liver transplantation? *J Hepatol*. 2008 May;48(5):697-707
- Schreibman I, Gaynor J, Jayaweera D et al. Outcomes after orthotopic liver transplantation in 15 HIV-infected patients. *Transplantation* 2007; 84: 697-705
- Shaw E, Castellote J, Santín M et al. Clinical features and outcome of spontaneous bacterial peritonitis in HIV-infected cirrhotic patients: a case-control study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2006; 25: 291–298
- Soriano V, Puoti M, Sulkowski M et al. Care of patients coinfecting with HIV and hepatitis C virus: 2007 updated recommendations from the HCV-HIV International Panel. *AIDS*. 2007; 21:1073-89.
- Stock PG, Roland M. Evolving clinical strategies for transplantation in the HIV-positive recipient. *Transplantation* 2007;84:563-571
- Subramanian A, Sulkowski M, Barin Bet al. MELD is the Best Predictor of Pre-Transplant Mortality in HIV-Infected Liver Transplant Candidates. 15th CROI Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections Boston, MA. Feb 3-6, 2008. Abstract 64
- Tedaldi EM, Baker RK, Moorman AC et al. Influence of coinfection with hepatitis C virus on morbidity and mortality due to human immunodeficiency virus infection in the era of highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 363–367.
- Terrault NA, Carter JT, Carlson L, et al. Outcome of Patients with Hepatitis B Virus and Human Immunodeficiency Virus Infections Referred for Liver Transplantation. *Liver Transpl*. 2006; 12:801-807.
- The Data Collection on Adverse Events of Anti-HIV Drugs Study group. Liver-related deaths in persons infected with the human immunodeficiency virus, The D:A:D Study. 2006. *Arch Intern Med*; 166:1632-41
- Tuset M, Miró JM, Codina C, Ribas J, Ed. Guía de interacciones en HIV. Available at: <http://www.interaccionesHIV.com>. June 2008
- Vennarecci G, Mutimer D, Ettore G, al. Liver Transplantation in HIV positive Patients. The 2006 Joint International Congress of ILTS, ELITA, LICAGE. Milan (Italy) May 3-6, 2006. Abstract number 457. Published at: *Liver Transplantation*, Vol 12, No. 5, Supplement 1 (May), 2006: pp C-115.
- Wyles DL, Gerber J. Antiretroviral drug pharmacokinetics in hepatitis with hepatic dysfunction. *Clin Infect Dis* 2005;40:174-181.

The members of the Hospital Clinic OLT in HIV Working Group are:

JM Miró, A. Rimola, A. Moreno, M. Laguno, M. Larrousse, JL Blanco, J Mallolas, C. Cervera, M. Tuset, M. Monras, N. Freixa, M. Brunet, J. Blanch, C. Lanaspá, E. de Lazzari, JC García-Valdecasas, JM Gatell (Hospital Clinic - IDIBAPS. University of Barcelona, Barcelona); C. Tural and D. Fuster (Hospital Germans Triás i Pujol, Badalona, Barcelona, Spain); and, J. Murrillas and M. Riera (Hospital Son Dureta, Palma de Mallorca, Spain).

400 | Transplantul hepatic in hepatitele B, C si in coinfectiile acestora cu HIV

Partea 8

Boli hepatice autoimune
si metabolice

Capitolul 24: Boli hepatice metabolice: Hemocromatoza

Claus Niederau

Definitia si clasificarea bolilor prin exces de fier

Hemocromatoza ereditara este clasificata in patru subtipuri (Tabelul 1) din care tipul 1 este cel mai important clinic in populatia caucasiana. Tipul 1 este o forma bine cunoscuta de supraincarcare cu fier datorat unei disfunctii metabolice transmisa genetic autozomal recesiv: mutatia homozigota C282Y a genei HFE de pe cromozomul 6 este raportata la mai mult de 90% din fenotipurile clinice intalnite la populatia de origine caucasiana (Feder 1996). Mutatia conduce la o absorbtie intestinala crescuta, inadecvata de fier care intr-o perioada de zeci de ani poate produce supraincarcare cu fier si distrugerii la nivelul diferitelor organe (Figura 1). Tipurile 2a si 2b ale hemocromatozei genetice sunt forme juvenile ale supraincarcarii cu fier care conduc la un prognostic sever inainte de 30 de ani, cu hipogonadism si cardiomiopatie. Mutatiile corespunzatoare sunt localizate pe genele pentru haemojuvelin si, respectiv, hepcidin (Roetto 1999). Tipul 3 a fost descris in principal in familiile italiene si se refera la o mutatie la nivelul genei receptorului 2 al transferinei (Girelli 2002). Consecintele clinice ale tipului 3 de hemocromatoza sunt similare cu tipul 1. Tipurile 2 si 3 au trasaturi autozomal recesive. Mutatiile tipului 4 de hemocromatoza, autozomal dominant, sunt localizate pe gene ce codifica transportorul bazolateral pentru fier, feroportina 1 (Njajou 2001). In contrast cu alte tipuri, la tipul 4 fierul este acumulat in principal in macrofage; valorile feritinei sunt marcat crescute desi saturatia transferinei este doar usor crescuta. Hemocromatoza secundara este de obicei cauzata de transfuziile de sange multiple din anemiile hemolitice precum talasemia, siclemia si sindromul mielodisplazic. Fierul se acumuleaza mai intai in RE al macrofagelor si mai apoi este transferat in parenchimul celulelor. In hemocromatoza prin transfuzii de sange frecvente fierul se acumuleaza mai rapid comparativ cu hemocromatoza genetica; supraincarcarea cu fier conduce deseori la cardiomiopatie severa si ciroza hepatica, inrautatind astfel prognosticul. Tratamentul consta in chelatori de fier pentru ca flebotomia nu poate fi utilizata datorita anemiei. Aceasta recenzie se concentreaza pe tipul 1 de hemocromatoza, forma genetica cu prevalenta cea mai mare in Germania. Majoritatea consecintelor supraincarcarii cu fier sunt similare indiferent de cauza. Astfel, fiziopatologia afectarii tesuturilor si organelor prin exces de fier este discutata in detaliu doar pentru hemocromatoza HFE.

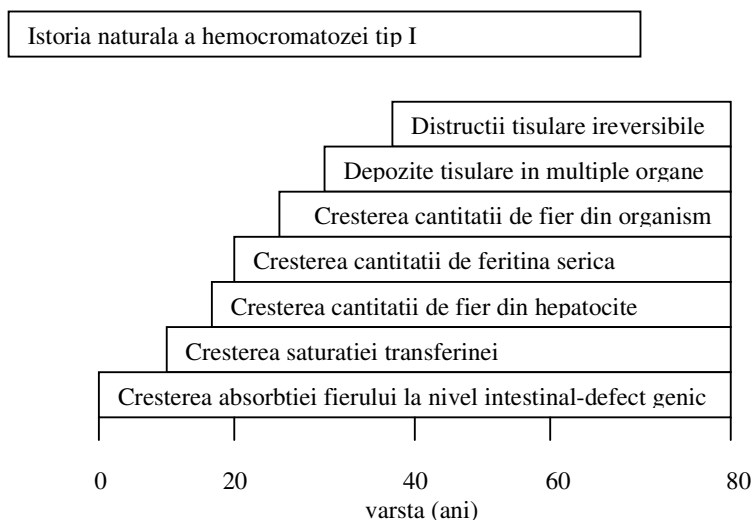


Figura 1. Schema evolutiei naturale a hemocromatozei genetice tip 1.

I) Hemocromatoze genetice

Tipuri	Gena defecta pe	Gena afectata	Transmiterea ereditara	Prevalenta crescuta
tip 2a	cromozomul 1	haemojuveline	autozomal-recesiva	forma juvenila
tip 2b	cromozomul 19	hepcidin	autozomal-recesiva	forma juvenila
tip 3	cromozomul 7	receptorul 2 pentru transferina	autozomal-recesiva	Italia
tip 4	cromozomul 2	feroportina 1	autozomal-dominanta	Italia
neonatala	necunoscut	necunoscuta	necunoscuta	foarte rara
altele	necunoscut	necunoscuta	necunoscuta	origine non-caucaziana

II) Hemocromatoze secundare

- a) anemii cronice (talasemia, siclemia, sindroame mielodisplazice, alte anemii hemolitice rare)
- b) transfuzii de sange multiple
- c) administrare de cantitati mari de fier pe perioade lungi de timp (asociata dietei sau IV)

III) Neclasificate, sindroame definite prin supraincarcare cu fier

- a) supraincarcare cu fier la africanii Bantu
- b) supraincarcare cu fier in aceruloplasminemie

Tabelul 1. Clasificarea hemocromatozelor.

Hemocromatoza tip 1 (HFE)

Istoric

Asocierea dintre ciroza hepatica, depozitele de pigment din ficat si diabetul zaharat a fost recunoscuta cu mai mult de o suta de ani in urma (Trousseau 1865; Troisier 1871; Hanot and Schachmann 1886). Termenul de hemocromatoza a fost introdus prima oara de Recklinghausen in 1889 (Recklinghausen 1889), dar nu a fost general acceptat pana cand nu a fost utilizat de Sheldon ca titlu in monografia sa clasica din 1935 (Sheldon 1935). Controversa daca hemocromatoza este numai o forma de ciroza hepatica alcoolica (MacDonald 1960) sau o eroare genetica in metabolismul fierului (Sheldon 1935, Crosby 1966) a durat aproape un secol pana cand Simon a descris asocierea dintre haplotipuri speciale HLA si hemocromatoza fapt ce a recunoscut natura genetica a bolii (Simon 1975). Modelul transmiterii ereditare a fost identificat ca o deficienta autozomal recesiva (Simon 1977). In final a fost identificata mutatia majora asociata cu manifestarile clinice pe gena HFE (Feder 1996).

Epidemiologie

Hemocromatoza tip 1 este probabil cea mai frecventa eroare metabolica genetica intalnita in populatia caucaziana (Adams 2005). Prevalenta homozigotilor C282Y este aproximativ 0,5% in Europa centrala si in populatia caucaziana din America de Nord; prevalenta heterozigotilor C282Y si H63D se apropie de 40% in aceste populatii (Adams 2005). Expresia fenotipica depinde de asemenea de cativa factori non-genetici precum cantitatea de fier din dieta si pierderile de sange (Figura 2). Spre exemplu, femeile dezvoltă consecinte clinice ale supraincarii cu fier de 5-8 ori mai rar si cu 10-20 de ani mai tarziu decat barbatii (datorita menstruatiei). Este acum general acceptat ca nu toti barbatii homozigoti C282Y dezvoltă manifestarile clinice complete ale hemocromatozei. Nu este bine precizat procentul pacientilor care vor prezenta simptome clinice pe durata vietii lor (intre 5% - 50%) sau ce alti factori determina evolutia acestora.

Cum am mentionat anterior, mutatia homozigota C282YA este raportata la peste 90% din fenotipul clinic in populatia de origine caucaziana (Feder 1996; Adams 2005) (Tabelul 2). Punctul de mutatie H63D este frecvent identificat in gena HFE,, dar si alte mutatii, mai putin frecvente. Nici una din aceste modificari genice sau polimorfismul, gasite pana la 40% din subiectii cu origini celtice, nu se coreleaza cu fenotipul. Un subiect cu varianta C282Y pe o alela si cu varianta H63D pe cealalta alela este denumit un "recombinant heterozigot" (Tabelul 2). Numai un mic procent din acesti recombinanti heterozigoti prezinta risc crescut de aparitie a consecintelor clinice ale supraincarii cu fier (Tabelul 2). In populatia non-caucaziana si alte gene pot fi implicate in producerea supraincarii cu fier.

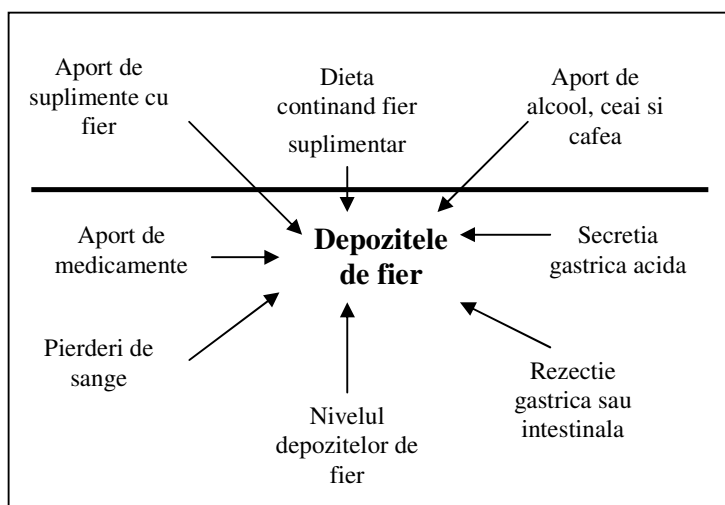


Figura 2. Factori non-genetici care pot influenta absorbtia fierului.

Mutatii/polimorfisme	Prevalenta in populatia caucaziana	Riscul fenotipului cu boala clinica grava
C282Y/C282Y	85-95 %	Scazut daca feritina este < 1000 ng/ml
H63D/C282Y	3-8 %	foarte scazut
C282Y/tipul salbatic	-	fara
H63D/tipul salbatic	-	fara
Altele	1%	necunoscut

Tabel 2. Corelatia genotip/fenotip in hemocromatoza.

Etiologie si patogenie

Absorbția intestinală de fier și pierderile de fier sunt în echilibru în condițiile fiziologice. La subiecții sănătoși aproximativ 10% din totalul ingestiei zilnice de fier (10-20 mg) este absorbit în intestinul subțire (1-2 mg). Totuși, pacienții cu mutație homozigotă C282Y pot absorbi până la 20% din ingestia de fier, deci aproximativ 2-4 mg/zi. Este deci posibil să treacă câteva decenii până când depozitele de fier să se apropie de 10 g valoare, peste care se considera că sunt induse alterări ale organelor. Mulți pacienți în stadiul final de hemocromatoză, ce include ciroza hepatică și diabetul zaharat, au depozite totale de fier de 20-30 g. Absorbția intestinală de fier este scăzută când depozitele de fier cresc, așa cum este la pacienții cu hemocromatoză genetică. Această reglare prin **feedback**, se află totuși la un nivel crescut comparativ cu subiecții fără mutația genei HFE. Corespunzător, absorbția intestinală de fier este mult crescută la pacienții cu

hemocromatoza cand depozitele de fier sunt diminuate prin flebotomie, de aceea flebotomiile trebuiesc continuate dupa scaderea fierului plasmatic, in vederea prevenirii reacumulării. Aceste procese de reglare nu explica felul in care mutatiile genei HFE produc cresterea absorbtiei intestinale de fier deoarece produsii genei HFE nu sunt nici transportori de fier, nici oxidaze sau reductaze de fier. Recent au fost identificati transportori si reglatori celulari ai asimilării si eliberării de fier (Pietrangelo 2002; Fleming 2002; Townsend 2002; Fletcher 2002). A devenit, de asemenea, evident faptul ca unele dintre acestea interactioneaza cu produsii ai genei HFE in reglarea absorbtiei intestinale de fier (Pietrangelo 2002; Fleming 2002; Townsend 2002; Fletcher 2002). Studii recente au aratat ca proteina Nramp2 este un transportor luminal de fier. La scurt timp dupa aceea, a fost identificata o reductaza luminala a fierului denumita proteina Dcytb (citocromul B duodenal) (Pietrangelo 2002; Fleming 2002; Townsend 2002; Fletcher 2002). In acelasi timp, feroportina 1 a fost identificata ca transportor bazolateral de fier (numit si Ireg1 sau MTP1) (Donovan 2000; Abboud 2000) ca si hephaestina, ca oxidaza bazolaterala de fier (Vulpe 1999). Mutatiile in unele din aceste proteine sunt responsabile pentru tipurile rare de hemocromatoza 2-4, desi nici una din aceste gene nu este afectata in hemocromatoza tip 1. Recent, au fost descoperite alte doua proteine, receptorul 2 pentru transferina si hepcidina, care par a avea si ele un rol important ca proteine reglatoare ale nivelului fierului (Pietrangelo 2002; Fletcher 2002; Fleming 2005). Mutatii ale genei receptorului 2 al transferinei pot conduce la hemocromatoza rara de tip 3, iar mutatii ale genei feroportinei 1 - la hemocromatoza tip 4. Studii foarte noi au aratat ca hepcidina ar putea fi cel mai important reglator al metabolismului fierului, implicat in deficitul si excesul de fier. Hepcidina pare sa inhibe feroportina, transportorul bazolateral de fier, iar hepcidina insasi pare a fi stimulata de HFE. Astfel, o mutatie a HFE poate reduce stimularea hepcidinei, care apoi nu poate inhiba feroportina; corespunzator, expresia crescuta a feroportinei cauzeaza in final cresterea absorbtiei intestinale de fier (DeDomenico 2007). In aceasta ordine de idei, pot exista si alte interactiuni intre HFE, receptorul 2 al transferinei, Nramp2, Dcytb, feroportina, hephaestina si hepcidina, toate acestea fiind studiate in prezent.

Diagnostic

Teste de laborator. La orice pacient care prezinta cresterea fierului seric trebuie exclus diagnosticul de hemaocromatoza, pentru a nu trece cu vederea un stadiu timpuriu al bolii. Nivelul normal al fierului seric nu exclude hemocromatoza si cresterea fierului seric este intalnita deseori in absenta hemocromatozei. Valorile fierului seric sunt variabile si nu trebuie utilizate singular pentru diagnosticul sau screeningul hemocromatozei. Determinare saturatiei transferinei este un indicator mai bun al supraincararii cu fier decat fierul seric. Cresterea saturatiei transferinei de obicei precede cresterea feritinei (Figura 1), saturatia transferinei fiind mult mai sensibila si specifica pentru depistarea hemocromatozei, comparativ cu feritina serica. Pentru screening, un prag de 50% in saturatia transferinei pare a fi optim in conditii a jeun. Feritina, pe de alta parte, este un bun indicator pentru cresterea masiva a depozitelor de fier si indica adecvat deficienta de fier, are insa o valoare mai mica pentru depistarea timpurie a hemocromatozei. In hemocromatoza, o crestere usoara a feritinei serice (300-500 ng/ml) este de obicei acompaniata de cresterea saturatiei feritinei de 80-90%. Din pacate, feritina serica este crescuta deseori in infectii si malignitati si astfel are o specificitate scazuta in evidentierea

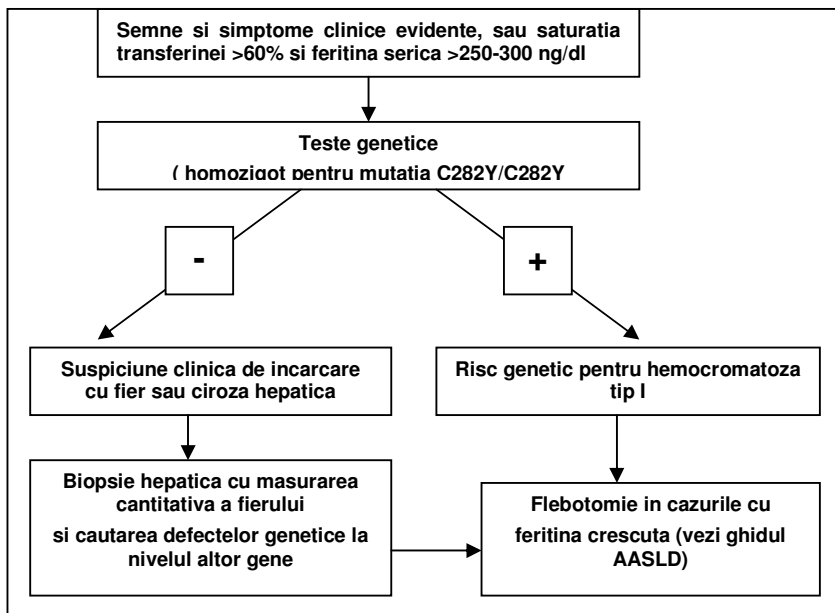
hemocromatozei (Niederau 1998). Creșterea feritinei nedatorată hemocromatozei genetice este de obicei asociată cu o saturatie normală sau ușor crescută a transferinei. Asadar, trebuie măsurată întotdeauna și saturatia transferinei, pentru o corectă interpretare a creșterii feritinei.

Biopsia hepatică și determinarea concentrației fierului din ficat. Deși creșterea simultană a feritinei serice și a saturatiei transferinei indică un risc mare de hemocromatoza diagnosticul trebuie confirmat prin teste genetice sau prin biopsie hepatică cu determinarea conținutului de fier de la nivel hepatic. Concentrația hepatică de fier crește, de asemenea, cu timpul la subiecții cu mutație a genei HFE, de aceea este recomandabilă clasificarea concentrației hepatice de fier după vârsta pacienților obținându-se un “indice-ficat-fier” (Summers 1990). Estimarea semicantitativă a depozitelor de fier din ficat prin colorație Berlin-Blue este mai puțin sensibilă și specifică decât cuantificarea chimică a concentrației hepatice de fier. În cazul testului genetic pozitiv pentru C282Y homozigot, biopsia hepatică nu este necesară pentru diagnosticul hemocromatozei (Tabelul 3).

Există și alte motive pentru efectuarea unei biopsii hepatice în supraincercarea cu fier : (1) subiecții cu evidență clinică sau biochimică de supraincercare cu fier în absența mutației homozigote C282Y necesită biopsie hepatică pentru a dovedi supraincercarea cu fier; (2) la homozigotii C282Y riscul fibrozei hepatice și al cirozei crește la valori ale feritinei > 1000 ng/ml (Loreal 1992); la acești pacienți biopsia hepatică este recomandată deoarece prezenta cirozei hepatice crește ulterior riscul de HCC și astfel este justificat screeningul pentru HCC.

Testarea deferoxaminei și măsurarea cineticii fierului. Determinarea excreției urinare a fierului după administrarea de deferoxamina reprezintă o estimare a depozitelor de fier din organism. Cu toate acestea, testul deferoxaminei deseori arată rezultate patologice doar când feritina serică și saturatia transferinei sunt crescute marcat și nu ajută diagnosticul în stadiul timpuriu al bolii. În prezent măsurarea cineticii fierului este făcută doar în cercetări științifice sau în situații de diagnostic incert.

Tomografia computerizată (TC), tomografia asociată cu rezonanță magnetică (MRT) și biomagnetometria. Măsurarea densității ficatului la TC reprezintă o estimare semicantitativă a concentrației de fier din ficat. Cu toate acestea, această metodă este asociată cu iradierea și asadar nu este aprobată în multe țări unde metode alternative sunt disponibile. MRT, pe de altă parte, arată o măsurare sigură a conținutului de fier din ficat, cu condiția de a folosi software-uri speciale și ca echipamentul să fie calibrat pentru asemenea măsurători, în practica clinică cele mai multe MRT nu îndeplinesc însă aceste criterii. Biomagnetometria este măsurătoarea neinvazivă cea mai exactă a concentrației hepatice de fier, dar echipamentul este scump și arată doar concentrația de fier. În consecință, biomagnetometria este utilizată doar în câteva centre și este în primul rând utilizată pentru studii științifice și nu în practica clinică. Având teste genetice solide și ieftine TC-ul, MRT-ul și biomagnetometria nu sunt necesare la majoritatea pacienților.



Tabel 3. Algoritmul de diagnostic si tratament pentru hemocromatoza tip 1.

Testele genetice. Ca rezumat al celor afirmate anterior, in populatia caucaziana mutatia homozigota C282Y este intalnita la mai mult de 90% din pacientii cu fenotip clinic manifest al hemocromatozei tip 1 (Adams 2005; Erhardt 1999). Aproximativ 5% din pacientii cu fenotip clinic sunt recombinati heterozigoti C282Y/H63D; prevalenta heterozigotilor C282Y sau H63D la pacientii cu fenotipul clinic al hemocromatozei este considerabil mai scazuta decat in populatia generala. Astfel, un subiect care este heterozigot pentru C282Y sau H63D nu are prin aceasta un risc de supraincarcare cu fier. La subiectii homozigoti pentru C282Y, ambele determinari, feritina serica si saturatia transferinei sunt frecvent crescute; cu toate acestea, intr-un studiu de screening recent doar barbatii au un risc crescut de a face boala hepatic, comparativ cu subiectiide sex masculine fara alterarea genei HFE. Este necunoscut procentul de homozigoti C282Y care va dezvolta mai tarziu semne si simptome datorita incarcarii cu fier dar este evident ca doar o proportie mica a acestora progreseaza catre stadiul final, cu ciroza hepatica si diabet zaharat. La subiectii care nu sunt homozigoti C282Y dar au evidenta supraincarcare cu fier detectata prin teste de laborator, clinic sau histologic, alte gene pot fi analizate pentru mutatii precum haemojuveline, receptorul 2 pentru transferina, feroportina 1 si hepcidina.

Diagnosticul timpuriu si screeningul

Prevalenta homozigotilor C282Y este 0.5 % in populatia caucaziana (Adams 2005; Erhardt 1999). Manifestarile clinice sunt variabile si depind de factori non-genetici precum ingestia de fier din dieta si pierderile de sange. Pana in 1980 majoritatea

pacientilor cu hemocromatoza erau depistati in stadii tardive, cu complicatii ireversibile, de tipul cirozei hepatice si a diabetului zaharat. Printr-o mai buna intelegere a bolii, utilizarea pe scara larga a masurarii feritinei si a saturatiei transferinei si disponibilitatea testelor genetice sigure, eforturile de diagnostic s-au concentrat pe depistarea timpurie a bolii in absenta cirozei hepatice si a diabetului zaharat. Cateva studii au aratat ca indepartarea fierului prin flebotomie este asociata cu o durata de viata normala la pacientii depistati timpuriu (Niederau 1985; Niederau 1996; Fargion 1992) (Figura 3). Alte studii s-au concentrat pe proceduri de screening in vederea diagnosticarii subiectilor cu boala timpurie (Edwards 1988). Aceste studii includ populatii cu risc special, membri de familie, dar si populatia generala (Tabelul 4) (pentru literatura suplimentara vezi [Niederau 2002]). A fost, de asemenea, evidentiat ca un numar de pacienti in crestere sunt acum diagnosticati in stadii timpurii si ca acesta abordare creste durata de supravietuire (Figura 4).

Un numar mare de studii au aratat ca screeningul este util in depistarea homozigotilor C282Y asimptomatici prin utilizarea saturatiei transferinei si a feritinei seric, ca si a testelor genetice pentru mutatia C282Y (Edwards 1988; Phatak 1998; Niederau 1998). Cu toate acestea, un screening larg in populatia generala nu este recomandat de WHO si CDC in principal din cauza ca este necunoscut cati din homozigotii C282Y asimptomatici vor dezvolta mai tarziu boala clinic manifesta (pentru literatura suplimentara vezi [US Preventive Services Task Force 2007]). Cel mai mare studiu a analizat mutatiile genei HFE la aproape 100.000 de subiecti din America de Nord. La subiectii caucazieni homozigotismul C282Y a fost gasit la 0.44%, o valoare similara cu cea din mai multe studii anterioare pe alte populatii de origine caucaziana. In contras, asiaticii sau negrii nu au aproape niciodata mutatii ale genei HFE (Adams 2005). Dintre homozigotii C282Y caucazieni numai barbatii au o crestere semnificativa a bolii hepatice in comparatie cu subiectii fara variatii ale genei HFE (Adams 2005). Doar studii prospective de urmarire vor determina cati homozigoti C282Y asimptomatici vor dezvolta supraincarcare cu fier cu consecinte clinice.

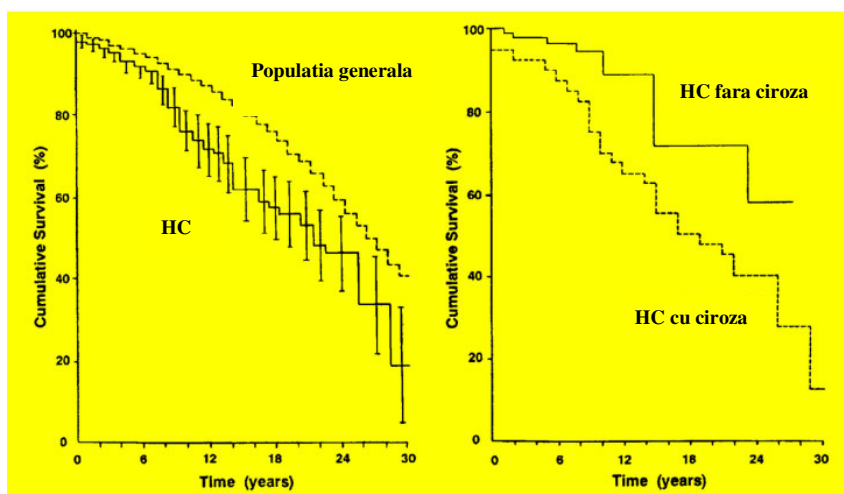


Figura 3. Supravietuirea a 251 pacienti cu hemocromatoza genetica (cu si fara ciroza) in comparatie cu populatia generala; HC - hemocromatoza. Modificat de Niederau 1996.

Este, de asemenea, necunoscut la ce valori ale feritinei trebuie initiate flebotomiile la pacientii homozigoti C282Y asimptomatici (Tabelul 5). Valorile recomandate de AASLD (American Association for the Study of Liver Diseases) se bazeaza mai mult pe judecata clinica decat pe date solide, numai acestea putand arata daca riscul pentru fibroza hepatica si ciroza creste peste limita de 1000 ng/ml pentru feritina serica (Loreal 1996). Valoarea screeningului pentru membrii familiei este evidenta cand o ruda de gradul unu are hemocromatoza clinica, screeningul familial fiind usor realizabil cu teste genetice. Membrii heterozigoti ai familiei nu au risc pentru hemocromatoza manifesta clinic afara de cazul cand au alti factori de risc.

1. **Screeningul in populatia generala nu este recomandat** – deoarece nu se cunoaste procentul de subiecti homozigoti C282Y care va dezvolta boala clinic manifesta. Screeningul poate fi util pentru populatia caucaziana.
2. **Screeningul familial** – testele genetice pot evidentia, intre rudele unui pacient cu hemocromatoza, indivizii hetero-, sau homozigoti pentru mutatia C282Y; heterozigotii nu necesita urmarire clinica; homozigotii C282Y/ C282Y trebuiesc evaluati si tratati daca feritina serica >300ng/ml - pentru barbati si >200ng/ml – pentru femei.
3. **Diagnosticul de hemocromatoza trebuie exclus la:**
 - Diabet zaharat nou diagnosticat
 - Boala cronica hepatica de etiologie neprecizata
 - Cresteri ale fierului, saturatiei transferinei sau feritinei serice
 - Cardiomiopatie de etiologie neprecizata
 - Artropatie de etiologie neprecizata
 - Scaderi ale potentiei/libidoului sau amenoree de etiologie neprecizata
4. **In cadrul tuturor biopsiilor hepatice trebuie determinate si depozitele de fier**

Tabelul 4. Metode pentru diagnosticul timpuriu al hemocromatozei.

Fenotipul clinic al hemocromatozei este depistat la 1-2% dintre pacienții cu diabet zaharat nou-descoperit și la 3-15% dintre pacienții cu ciroza hepatică (Niederau 1999). Acești ultimi pacienți trebuie investigați pentru supraîncărcare cu fier deși este evident că acest screening nu-și propune un diagnostic foarte timpuriu. Cu toate acestea pacienții cirofici și diabetici cu hemocromatoza pot avea beneficii semnificative în urma terapiei prin flebotomie. Sunt date puțin cunoscute despre prevalența hemocromatozei la pacienții cu artropatie sau cardiomiopatie de etiologie necunoscută. Câteva studii mici indică faptul că artropatia poate fi mai degrabă un semn clinic timpuriu al supraîncărcării cu fier, în timp ce cardiomiopatia de obicei este întâlnită în condiții de supraîncărcare severă cu fier.

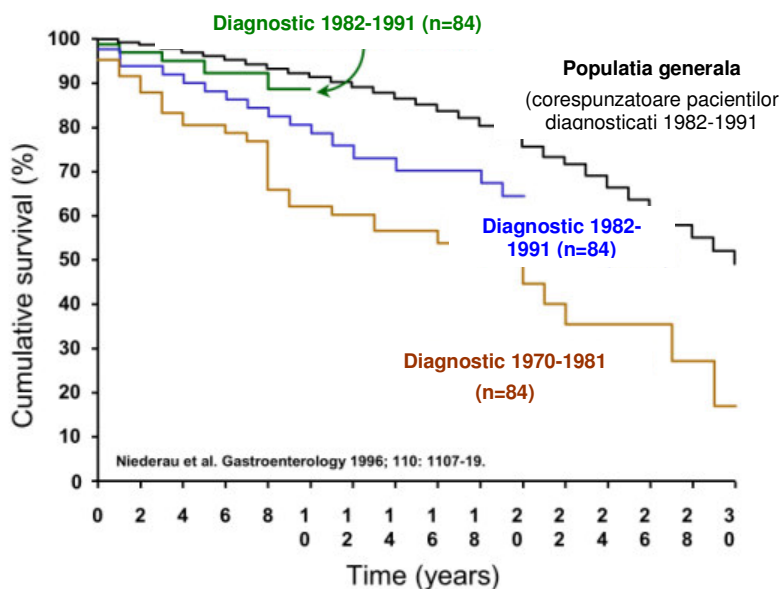


Figura 4. Supraviețuirea cumulată a 251 pacienți cu hemocromatoză genetică în corelație cu momentul diagnosticării. Modificat de Niederau 1996.

1. Flebotomia**a) In hemocromatoza genetica simptomatica**

- scopuri: depletia completa de fier in 12-24 luni;
- tratament: 1-2 flebotomii de 500 ml in fiecare saptamana pana cand feritina serica ajunge la nivelul de 20-50 ng/ml
Terapia pe termen lung cu 4-8 flebotomii pe an pentru mentinerea feritinei intre 20-50 ng/ml si astfel pentru prevenirea reaccumularii de fier

b)Tratamentul la homozigotii C828Y asimptomatici trebuie initiat la valori ale feritinei peste:

- subiecti < 18 years > 200 ng/ml
- barbati > 300 ng/ml
- femei (neinsarcinate) > 200 ng/ml
- femei (insarcinate) > 500 ng/ml

2. Tratamentul cu chelatori de fier in hemocromatoza secundara si anemie

- scopuri: indepartarea excesului de fier prin cresterea excretiei de fier din fecale si urina dupa transfuzii de sange frecvente, pentru stabilizarea balantei fierului si reducerea depunerii fierului
- tratament: pana recent, 25-50 mg deferoxamina/kg cu administrare SC ,10-12 ore zilnic; actual deferoxamina este inlocuita de chelatori orali de fier precum deferasirox - 20 mg/kg administrat in doza unica zilnica, pentru prevenirea acumularii fierului la pacienti care primesc mai mult de 800 ml de concentrat eritrocitar/luna
- necesitatea tratamentului de lunga durata
- normalizarea feritinei si a concentratiei hepatice de fier deseori nu sunt posibile

3. Dieta

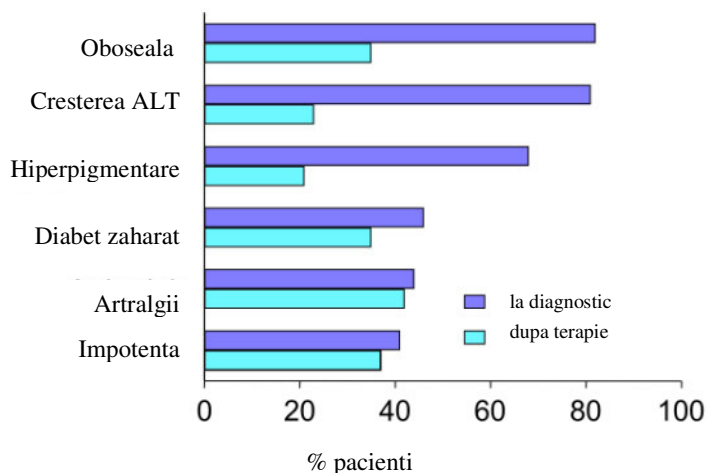
- recomandata: evitarea alimentelor cu continut crescut de fier (de ex. ficat) si a alimentelor cu supliment de fier;
o dieta stricta fara fier este dificil de efectuat si nu este recomandata
- o singura flebotomie de 500 ml sange este la fel de eficienta ca o dieta stricta cu restrictie de fier timp de un an

Tabelul 5. Tratamentul incarcarii cu fier**Complicatiile incarcarii cu fier**

Ciroza hepatica, diabetul zaharat si cresterea pigmentarii pielii sunt triada clasica a hemocromatozei genetice. Cardiomiopatia, aritmiile cardiace si impotentia sunt, de asemenea, complicatii tipice ale supraincarii avansate cu fier. Prin contrast, artropatia poate fi un semn timpuriu al hemocromatozei, care poate ajuta diagnosticul in stadiile preciroitice (Niederau 1996).

Boala hepatica. Ficatul este organul cel mai timpuriu si cel mai mult afectat de supraincarea genetica cu fier. In stadiile timpurii excesul de fier este depozitat in principal in celulele parenchimatoase periportale sub forma de feritina si hemosiderina. Cand excesul de fier creste se dezvolta fibroza perilobulara si depozitele de fier sunt gasite si in ductele biliare si in celulele Kupffer. Fibroza

septala poate progresa catre ciroza completa, stadiul fibrozei fiind strans corelat cu gradul excesului de fier. La multi pacienti hemocromatoza tip 1 cu afectare simptomatica are in momentul diagnosticului unele semne de boala hepatica (Niederau 1985; Niederau 1996). Multe simptome nespecifice precum discomfortul abdominal si oboseala sunt date de asemenea de afectarea hepatica. La pacientii asimptomatici diagnosticati prin proceduri screening semnele de boala hepatica sunt inconstante. Complicatiile datorate cirozei de tipul ascitei, icterului si hipertensiunii portale sunt observate rar si doar in caz de supraincarcare severa cu fier intr-un stadiu avansat (Niederau 1985; Niederau 1996). Riscul de ciroza hepatica creste la valori ale feritinei > 1000 ng/ml (Loreal 1996). Similar cu diabetul insulino-dependent ciroza hepatica nu este reversibila prin inlaturarea excesului de fier (Niederau 1996). Totusi, stadiile mai putin avansate precum fibroza hepatica si modificari ale functiei si ale enzimelor hepatice raspund bine la indepartarea excesului de fier (Niederau 1996) (Figura 5). Supravietuirea este semnificativ redusa in prezenta cirozei hepatice, in timp ce pacientii diagnosticati in stadiu precirotic au o durata de viata normala cand sunt tratati prin flebotomie (Niederau 1996) (Figura 3).



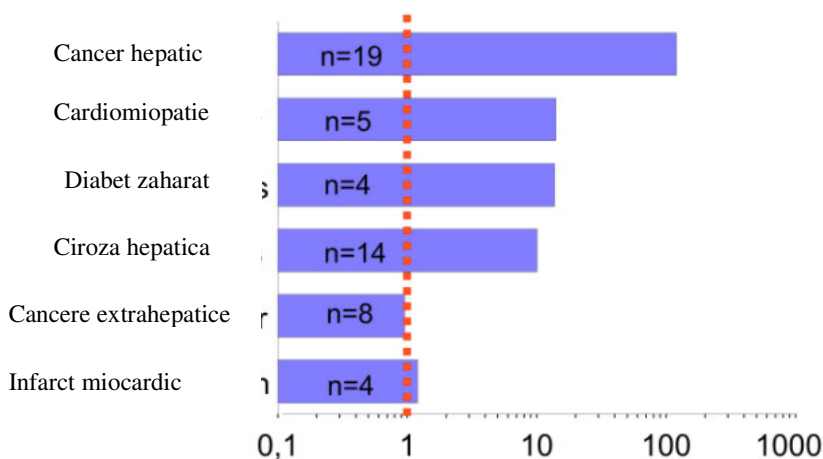
Niederau et al. *Gastroenterology* 1996;110:1107-1119.

Figura 5. Semne si simptome la 185 de pacienti cu hemocromatoza genetica inainte si dupa indepartarea excesului de fier.
Modificat de Niederau 1996.

Asocierea hemocromatozei cu alte boli hepatice. Unele studii indica faptul ca starea de heterozigot C282Y poate agrava progresia unei afectiuni hepatice concomitente precum porfiriea cutanata tardiva, hepatita cronica C, hepatita alcoolica si steatoza hepatica non-alcoolica (NASH), acesti pacienti putand avea o crestere usoara a concentratiei hepatice de fier si a nivelului feritinei serice (pentru recenzie vezi Erhardt 2003). Cu toate acestea, mai multe studii au aratat ca aceasta asociere are

doar o importanta minora in evolutia clinica a bolii. Flebotomia s-a dovedit a avea un rol semnificativ doar in porfiria cutanata tardiva pentru ca poate ameliora manifestarile cutanate.

Carcinomul hepatic. Carcinomul hepatic se instaleaza la aproximativ 30% dintre pacientii cu hemocromatoza si ciroza, indiferent de terapia de depletie de fier (Niederau 1996); in loturi mari de pacienti din Germania intervalul dintre depletia completa de fier si raportarea diagnosticului de cancer hepatic este de aproximativ 9 ani (Niederau 1985; Niederau 1996). Riscul de cancer hepatic la pacientii cu hemocromatoza este crescut de 100-200 de ori comparativ cu populatia generala (Figura 6), ca tipuri histologice putand aparea carcinomul hepatocelular (HCC) precum si carcinomul colangiocelular, iar majoritatea instalandu-se la pacientii cu ciroza preexistenta. Astfel, screeningul prin ecografie si AFP (de doua ori pe an) este recomandat doar la pacientii cirofici. Pacientii care dezvolta cancer hepatic au de obicei cea mai mare cantitate de fier circulant dintre diferite subgrupuri de pacienti (Niederau 1996; Niederau 1999).



Niederau et al. *Gastroenterology* 1996;110:1107-1119.

Figura 6. Riscul relativ de mortalitate a 251 de pacienti cu hemocromatoza genetica in comparatie cu populatia generala. Modificat de Niederau 1996.

Diabetul zaharat. In studiile recente prevalenta diabetului in hemocromatoza ereditara este intre 20% si 50% (Niederau 1996; Adams 1991). Prevalenta si stadiul diabetului sunt legate de nivelul depunerii de fier in pancreas. Pacientii cu diabet au concentratia de fier circulant de doua ori mai mare comparativ cu cei fara diabet (Yaouanq 1995). Investigatiile privind prevalenta hemocromatozei genetice nedepistata la pacientii cu diabet zaharat prezinta unele variatii in Europa spre deosebire de alte zone; e.g., screeningul arata o prevalenta de 5-8 la 1000 de cazuri necunoscute in Europa (Singh 1992) si 9.6 la 1000 in Australia (Phelps 1989).

Diabetul zaharat si toleranta scazuta la glucoza sunt caracteristici frecvente la o serie de boli cronice hepatice (Creutzfeldt 1970; Blei 1982). Un studiu (Niederau 1984) a evidentiat hiperinsulinemie si in consecinta rezistenta la insulina fara toleranta scazuta la glucoza la pacientii cu hemocromatoza non-cirotica. Cresterea concentratiei insulinei circulante pare sa fie datorata unei scaderi in extractia deficitara a insulinei. Odata cu progresia supraincarcaturii cu fier si a distrugerii celulelor beta este diminuata si secretia de insulina. (Dymock 1972; Bierens de Haan 1973). In stadiile finale ale hemocromatozei, deficitul de insulina este asociat cu reducerea marcata a masei de celule beta (Rahier 1987). Rezistenta la insulina observata in supraincarcatura timpurie cu fier poate fi partial reversibila dupa tratamentul prin flebotomie (Niederau 1985; Niederau 1996), in timp ce diabetul insulino-dependent este ireversibil (Niederau 1996). Supravietuirea este semnificativ redusa la pacientii cu diabet zaharat in momentul diagnosticului, comparativ cu pacientii fara diabet (Niederau 1996). Supravietuirea pacientilor non-diabetici este teoretic identica cu cea existenta in populatia normala.

Afectarea cardiaca. Cardiomiopatia si aritmiile cardiace sunt complicatii specifice hemocromatozei cauzate de depozitele de fier de la nivelul cordului (Buja and Roberts 1971; Short 1981). Semnele clinice sau electrocardiografice ale afectarii cardiace pot fi gasite la 20-35% din pacientii cu hemocromatoza HFE (Niederau 1985). Aritmiile raspund in general la indepartarea fierului (Short 1981; Niederau 1996). In hemocromatoza tip 1 cardiomiopatia este rara si de obicei asociata cu supraincarcatura avansata cu fier si varsta pacientilor. Totusi in particular la pacientii tineri cu afectare cardiaca datorata hemocromatozei cardiomiopatia este o cauza frecventa de deces (Finch 1966; Short 1981). Doar recent a devenit clar ca pacientii tineri cu cardiomiopatie severa pot fi afectati de hemocromatoza juvenila tip 2; acesti pacienti pot prezenta supraincarcatura severa cu fier, hipogonadism, cardiomiopatie, ciroza hepatica si amenoree pana la varsta de 15-24 de ani. Cardiomiopatia asociata tipului 2 este deseori ireversibila in ciuda initierii flebotomiilor si a terapiei chelatoare de fier si poate necesita transplant cardiac imediat si posibil transplant hepatic (von Herbay 1996; Jensen 1993).

Artropatia. Modificarile articulare din hemocromatoza genetica pot fi de doua tipuri (Schuhmacher 1964; Dymock 1970; Niederau 1985; Niederau 1996). Cele mai frecvente modificari au fost observate la articulatiile metacarpofalagiene II si III, cu modificari chistice si sclerotice, distructii ale cartilajelor si o ingustare a spatiilor interarticulare. Uneori pot fi afectate alte articulatii ale mainilor si picioarelor. Articulatiile mari, e.g., genunchi si sold, pot fi afectate prin forma de condrocalcinoza. Patogenia manifestarilor articulare in hemocromatoza ramane necunoscuta. Artropatia este una din cele cateva complicatii neasociate cu gradul incarcaturii cu fier. S-a speculat ca fierul poate inhiba pirofosfataza si poate astfel conduce la o cristalizare a calciului pirofosfat. Alternativ fierul poate avea efect toxic direct pe articulatii. Artropatia poate fi un semn timpuriu al hemocromatozei si poate ajuta diagnosticul in stadiile preciroitice (Niederau 1996). Asadar hemocromatoza trebuie sa fie luata in considerare la toti pacientii cu artropatie de etiologie necunoscuta.

Modificari endocrine. In contrast cu debutul timpuriu al modificarilor articulare, cele endocrine sunt o consecinta tarzie a supraincarcaturii cu fier. Impotenta sexuala si pierderea libidoului se pot regasi la pana la 40% din pacienti (Niederau 1985).

Modificarile endocrine in hemocromatoza sunt in principal, daca nu exclusiv, datorate insuficientei hipofizare. Aceasta este in contrast cu ciroza alcoolica unde insuficienta testiculara este predominanta (Kley 1985a; Kley 1985b). In contrast cu ciroza alcoolica, unde nivelul de estrogeni este de obicei crescut, in hemocromatoza acesta este scazut (Kley 1985a). Majoritatea modificarilor endocrine sunt complicatii tarzii si ireversibile ale hemocromatozei genetice si care nu raspund bine la tratamentul prin flebotomie (Niederau 1996). Excesul de fier afecteaza doar in unele ocazii si alte glande endocrine precum tiroida si glanda adrenală. Hipogonadismul sever cu amenoree la femeile tinere si impotenta la barbatii tineri este azi considerat a fi datorat hemocromatozei tip 2.

Pielea. Cresterea pigmentarii este observata in principal in arile expuse la soare. O mare parte a pigmentarii este datorata cresterii melaninei si nu excesului de fier propriu-zis. Cresterea pigmentarii pielii este reversibila la indepartarea fierului (e.g., flebotomia).

Alte posibile complicatii. S-a speculat ca supraincarcatura cu fier ar agrava ateroscleroza; totusi, dovezile sunt reduse (pentru recenzie vezi [Niederau 2000]). A fost de asemenea raportat ca malignitatile extrahepatice pot fi crescute in hemocromatoza HFE (Amman 1980; Fracanzani 2001), desi exista si studii care infirma aceste asocieri (Bain 1984; Niederau 1996; Elmberg 2003). Nu este clar daca mutatiile genei HFE sunt implicate in patogenia porfiriei cutanate tardive, prevalenta ambilor factori de risc variind mult in diferite regiuni ale lumii; asocierea dintre mutatii ale genei HFE si porfirie cutanata tardiva a fost deseori descrisa in sudul Europei, dar nu si in nord (pentru literatură vezi [Toll 2006]).

Tratamentul

Tratamentul prin flebotomie. Tratamentul prin flebotomie este standardul pentru indepartarea fierului in hemocromatoza genetica. O cura de flebotomie indeparteaza aproximativ 250 mg de fier din organism. Pacientii cu fenotip clinic clasic pot avea un exces de 10-30 g de fier si necesita 12-24 de luni pentru indepartarea surplusului de fier cand flebotomiile de 500 ml de sange sunt efectuate saptamanal (Tabelul 5). Tratamentul prin flebotomie este in general bine tolerat si hemoglobina nu scade de obicei sub 12g/dl. Cateva studii au aratat ca fierul hepatic este complet indepartat la valori scazute ale feritinei; de aceea efectul tratamentului poate fi verificat prin masurarea feritinei si o biopsie hepatica de control nu este necesara. Dupa indepartarea excesului de fier intervalul intre curele de flebotomie poate fi crescut la 2-3 luni; feritina serica trebuie pastrata la limita inferioara a normalului, intre 20-50 ng/ml. Flebotomia nu trebuie intrerupta pentru intervale mai lungi; exista riscul reacumulării de fier datorita disfuncției metabolice transmise autozomal recesiv.

Indepartarea fierului prin chelatori. Terapia cu deferoxamina pentru hemocromatoza genetica nu este recomandata deoarece flebotomia este mult mai eficaă, cu mai putine efecte adverse si mai ieftina. Recent, a inceput un studiu de faza II ce urmareste eficaăitatea si siguranta unui nou chelator de fier, deferasirox, in hemocromatoza genetica. Pana acum, deferasirox este aprobat doar in hemocromatoza secundara.

Dieta. O dieta scazuta in fier nu este recomandata pentru pacientii cu hemocromatoza genetica. O flebotomie de 500 ml indeparteaza aproximativ 250 mg

de fier. O dieta rigida si dificil de urmat, cu restrictie de fier pentru un an are acelasi efect cu o singura flebotomie. Este astfel recomandat ca acesti pacienti sa nu consume alimente bogate in fier (precum ficatul) sau alimente cu adaos de fier (Tabelul 5).

Transplantul hepatic. Ciroza hepatica avansata si carcinomul pot fi indicatii pentru transplant hepatic la pacientii cu hemocromatoza (Kowdley 1995; Brandhagen 2000); prognosticul pacientilor la care s-a efectuat transplant hepatic pentru hemocromatoza este mult mai sever decat la pacientii cu alte boli hepatice; un numar important de pacienti cu hemocromatoza mor dupa transplantul hepatic prin complicatii infectioase sau insuficienta cardiaca (Brandhagen 2000). Transplantul hepatic nu vindeca defectul genetic original.

Prognosticul

Hemocromatoza netratata are deseori un prognostic prost in prezenta cirozei hepatice si a diabetului zaharat. Prognosticul este mult mai sever la pacientii cu ciroza (Figura 3); ca si la cei cu diabet zaharat. Este general acceptat ca terapia prin flebotomie imbunatateste prognosticul. Pacientii diagnosticati si tratati in stadiul timpuriu fara ciroza au o speranta de viata normala (Figura 3) (Niederau 1985; Niederau 1996). Astfel, diagnosticul timpuriu imbunatateste semnificativ prognosticul (Figura 4). Indepartarea fierului prin flebotomie imbunatateste si prognosticul pacientilor cu ciroza hepatica. Prognosticul cirozei hepatice din hemocromatoza este semnificativ mai bun comparativ cu alte tipuri de ciroza (Powell 1971). Hepatomegalia si cresterea aminotransferazelor deseori regreseaza dupa indepartarea fierului (Niederau 1985; Niederau 1996) (Figura 5). Diabetul zaharat insulino-necesitant si hipogonadismul sunt complicatii ireversibile in ciuda indepartarii excesului de fier (Niederau 1996) (Figura 5). Totusi modificarile timpurii in metabolismul glucozei si al insulinei pot fi ameliorate dupa indepartarea fierului. Din motive necunoscute artropatia nu raspunde bine la flebotomie desi este un semn timpuriu al supraincarcaturii cu fier (Figura 5). Ghidul consens al AASLD recomanda startul tratamentului prin flebotomie la valori ale feritinei > 300 ng/ml la barbati si > 200 ng/ml la femei. Riscul de fibroza hepatica si ciroza este crescut numai la valori ale feritinei > 1000 ng/ml. Sunt necesare alte studii pentru a determina daca homozigotii C282Y asimptomatici cu valorile feritinei intre 300 si 1000 ng/ml au nevoie sa fie tratati sau daca se poate astepta si monitoriza feritina in acest stadiu.

Hemocromatoza juvenila ereditara

Doua gene sunt asociate cu hemocromatoza juvenila : 90% din cazuri sunt asociate cu mutatii pe hemojuveline (HJV) (numele locusului HFE2A), care codifica HJV, in timp ce 10% din cazuri sunt asociate cu HAMP (numele locusului HFE2B), care codifica hepcidina. In ciuda denumirilor din nomenclator de HFE2A si HFE2B, hemocromatoza juvenila nu este asociata cu mutatii HFE. Pentru a evita confuzii medicii utilizeaza termenul tip 2A (mutatii hemojuvenile) si tip 2B (mutatii HAMP). Mutatiile pe hemojuvenile sunt asociate cu nivele scazute de hepcidina in urina sugerand ca hemojuvenile regleaza hepcidina. Hepcidina este cheia reglarii absorbtiei intestinale de fier si a eliberarii fierului din macrofage. Hepcidina faciliteaza internalizarea si degradarea feroportinei. Mutatiile hepcidinei pot prin

aceasta sa conduca la o crestere a feroportinei si astfel la asimilarea fierului din intestin. Hemocromatoza juvenila este foarte rara. Un cluster de mutatii HJV a fost semnalat in Italia si Grecia desi doar in cateva familii s-a evidentiat acest fenomen. Mutatiile pe HJV sunt reprezentate in majoritatea cazurilor de hemocromatoza juvenila. Numai un numar mic de pacienti cu hemocromatoza juvenila a fost identificat ca fiind asociat cu HAMP. Hemocromatoza juvenila este caracterizata de un debut cu supraincarcature severa cu fier in primele 3 decenii de viata. Manifestarile clinice includ hipogonadism, cardiomiopatie si ciroza hepatica (Diamond 1989; Vaiopoulos 2003). Principala cauza de deces este cardiomiopatia (De Gobbi 2002; Filali 2004). In contrast cu hemocromatoza HFE tip 1 ambele sexe sunt afectate in mod egal. Mortalitatea poate fi reduca in hemocromatoza juvenila cand este diagnosticata din timp si este tratata corect. Flebotomia este tratamentul standard in hemocromatoza juvenila fiind similar tratamentului din hemocromatoza HFE (Tavill 2001). La pacientii cu hemocromatoza juvenila si anemie sau insuficienta cardiaca severa s-a incercat reducerea mortalitatii prin administrarea de chelatori precum deferoxamina, unele cazuri raportate sugerand ca aceasta poate imbunatati fractia de ejectie a ventriculului stang (Kelly 1998).

Hemocromatoza tip 3 asociata receptorului 2 al transferinei (TFR2)

Hemocromatoza asociata TFR2 este definita ca tip 3 si este de asemenea cunoscuta ca HFE3; totusi termenul de HFE3 nu trebuie sa fie utilizat deoarece gena HFE nu este afectata in hemocromatoza tip 3. Hemocromatoza asociata TFR2 este mostenita autozomal recesiv. TFR2 este o glicoproteina transmembranara cu 801 aminoacizi exprimata in hepatocite si intr-o cantitate scazuta in celulele Kupffer (Zhang 2004). Calea hepcidinei pare a fi afectata in urma unor interactiuni fin reglate intre TFR2, TFR1 si HFE ceea ce conduce la dereglari in homeostazia fierului (Fleming 2005). Pacientii cu mutatii TFR2 homozigote au o crestere a absorției intestinale de fier ceea ce conduce la supraincarcatura cu fier. Concentratia hepcidinei in urina este scazuta in hemocromatoza TFR2 (Nemeth 2005). Hemocromatoza asociata TFR2 este foarte rara cu numai 20 de pacienti cunoscuti in intreaga lume (Mattman 2002). Varsta la debut in hemocromatoza tip 3 asociata TFR2 este mai mica decat in tipul 1 asociat HFE (Piperno 2004; Girelli 2002; Hattori 2003). Progresia este cu toate acestea mai lenta decat tipul 2 juvenil (De Gobbi 2002; Roetto 2001; Girelli 2002). Fenotipul este similar cu tipul 1. Multi pacienti se prezinta cu oboseala, artralgii, dureri abdominale, scaderea libidoului sau cu semne biochimice de supraincarcatura cu fier (Roetto 2001; Girelli 2002; Hattori 2003). Complicatiile hemocromatozei tip 3 includ ciroza, hipogonadism si artropatie. Cardiomiopatia si diabetul zaharat par sa fie rare. Carcinomul hepatocelular nu a fost observat in acest numar mic de cazuri diagnosticate. Majoritatea indivizilor cu hemocromatoza tip 3 au origini genetice italiene sau japoneze. O parte din barbatii japonezi prezentau ciroza hepatica in momentul diagnosticului (Hattori 2003). Similar tipului 1 de hemocromatoza, penetranta hemocromatozei tip 3 este de asemenea mult mai mica de 100% (Roetto et al. 2001). Tratamentul standard este indepartarea de fier prin flebotomie saptamanala similar cu managementul tipului 1. Individual, cresterea feritinei trebuie tratata similar cu hemocromatoza HFE.

Hemocromatoza tip 4 – Boala ferroportinei

Supraincarcatura cu fier asociata ferroportinei (numita si boala ferroportinei) a fost prima oara relatata de Pietrangelo (1999) care a descris o familie italiana cu hemocromatoza transmisa autozomal dominant non-HFE. Mai multi membri ai familiei aveau supraincarcature cu fier si fibroza hepatica, diabet, impotenta si aritmii cardiace. In plus la transmiterea autozomal dominanta, trasaturile distinctive fata de hemocromatoza HFE includ acumulare timpurie de fier in celulele reticuloendoteliale si o marcata crestere a feritinei mai devreme decat s-a observat la saturatia transferinei (Pietrangelo 1999; Rivard 2003; Montosi 2001; Wallace 2004; Fleming 2001). Cativa pacienti au aratat o reducere a tolerantei la flebotomii si devin anemici in ciuda feritinei crescute (Pietrangelo 1999; Jouanolle 2003). In 2001 aceasta forma de hemocromatoza non-HFE a fost asociata cu mutatii ale ferroportinei (Montosi 2001), aceasta fiind identificata ca transportor bazolateral de fier (Abboud 2000; Donovan 2000). Din acest moment numeroase mutatii ale genelor au fost implicate la pacienti cu origini etnice diferite si hemocromatoza anterior neexplicata. Boala prin supraincarcature cu fier datorata mutatiilor ferroportinei a fost definita ca hemocromatoza tip 4 sau boala ferroportinei (pentru recenzie vezi [Pietrangelo 2004]). Exportul de fier este bine reglat deoarece ambele, deficienta si excesul de fier, sunt nocive. Principalul reglator al acestui mecanism este hepcidina care legata la ferroportina induce internalizarea si degradarea, in acest fel reducand efluxul de fier (Nemeth 2004). Cresterea absorției de fier poate fi cauzata fie de deficitul de hepcidina, fie de interactiunea ineficace cu ferroportina. Toate studiile recente au aratat ca deficitul hepcidinei pare sa fie trasatura comuna a celor mai multe tipuri genetice (mutatii in HFE, receptorul 2 al transferinei, hemojuveline, sau insusi hepcidina). Restul cazurilor de supraincarcature genetice cu fier sunt datorate mutatiilor heterozigote ale ferroportinei, tinta hepcidinei. Datorita manifestarilor clinice usoare ale defectelor genetice exista dubii referitor la ratiunea tratamentului prin indepartare de fier. Totusi un studiu recent arata ca aceasta poate fi relevanta clinic la pacientii cu supraincarcature de fier, afectare a organelor si cancer hepatic purtatori ai mutatiei A77D a ferroportinei (Corradini 2007). Schemele de tratament sunt similare cu cele descrise la alte tipuri de hemocromatoza genetica.

Hemocromatozele secundare

Fiziopatologia

Majoritatea formelor de hemocromatoza secundara sunt datorate anemiei hemolitice asociata cu politransfuzii precum talasemia, siclemia si MDS. Cei mai multi dintre acesti pacienti necesita regulat transfuzii de sange pentru a supravietui. Totusi multiplele transfuzii de sange conduc la supraincarcature cu fier daca acesti pacienti nu sunt tratati cu chelatori de fier. In general, supraincarcatura cu fier datorata transfuziilor de sange este similara cu hemocromatoza genetica; cu toate acestea incarcatura secundara cu fier se dezvoltă mult mai repede decat in formele genetice (McLaren 1983), uneori dupa 10-12 transfuzii de sange (Porter 2001). Apoi supraincarcatura secundara cu fier poate duce la afectarea mai rapida a organelor comparativ cu hemocromatoza genetica. Bineinteles supraincarcatura

secundara cu fier nu poate fi tratata prin flebotomie, deoarece anemia marcata este markerul clinic al bolii. Deseori suprainsarcatura secundara cu fier limiteaza prognosticul pacientilor cu talasemie; speranta de viata reducandu-se prin cresterea concentratiei de fier in ficat (Telfer 2000). Tratamentul cu chelatori de fier poate reduce cantitatea de fier posttransfuzional daca frecventa transfuziilor nu este foarte crescuta. Evolutia HFE comparativ cu hemocromatoza secundara difera nu numai in privinta vitezei de acumulare a fierului, dar si prin tipul de organ afectat; in hemocromatoza secundara cardiomiopatia este deseori complicatia care limiteaza prognosticul (Liu 1994). Este interesant ca boala cardiaca este de asemenea foarte frecventa in hemocromatoza juvenila unde exista o acumulare rapida a fierului. In general, valorile feritinei serice reflecta indeaproape concentratia de fier din ficat si poate fi utilizata ca indicator pentru sincronizarea tratamentului dar la fel de bine si pentru verificarea efectelor indepartarii fierului.

Pana de curind deferoxamina era singurul chelator de fier disponibil in cele mai multe tari; in unele tari medicamentul deferiprona este aprobat pentru pacientii care nu tolereaza deferoxamina (Hoffbrandt 2003). Utilizarea clinica a deferipronei a fost limitata datorita efectelor adverse severe precum agranulocitoza si neutropenia (Refaie 1995). Datele pe termen lung dovedesc ca deferoxamina poate reduce suprainsarcatura cu fier si complicatiile de la nivelul organelor (Olivieri 1994; Cohen 1981). Deferoxamina, totusi, trebuie administrata zilnic subcutanat sau prin perfuzie IV cu durata de cateva ore, ceea ce explica de ce pacientii cu talasemie considera ca tratamentul cu deferoxamina este mai rau decat talasemia insasi (Goldbeck 2000). Exista problema compliantei scazute care deseori limiteaza beneficiile administrarii acestui chelator de fier (Cohen 1989).

In lipsa administrarii chelatorilor de fier copiii cu talasemie deseori dezvoltă cardiomiopatie severa inainte de varsta de 15 ani (Cohen 1987). Dupa aceasta varsta ciroza hepatica este de asemenea o complicatie semnificativa in suprainsarcatura secundara cu fier datorata talasemiei (Zurlo 1992). Indepartarea fierului trebuie inceputa devreme pentru a preveni complicatiile suprainsarcaturii cu fier. De la varsta de 3-5 ani concentratia hepatica de fier poate avea valori crescute asociate cu un risc semnificativ pentru fibroza hepatica in talasemia severa (Angelucci 1995). Asadar copiii mai mici de 5 ani sunt tratati cu precautie cu chelatori daca au primit transfuzii mai mult de un an (Olivieri 1997). Deferoxamina poate reduce incidenta si ameliora evolutia cardiomiopatiei cauzata de fier (Olivieri 1994; Brittenham 1994; Miskin 2003).

Deferasirox este un nou chelator oral de fier cu selectivitate crescuta pentru fier III (Nick 2003). Deferasirox leaga fierul in proportie 2:1 cu mare afinitate si creste excretia biliara de fier (Nick 2003). Acest chelator este capabil sa reduca fierul din hepatocite si cardiomiocite (Nick 2003; Hershko 2001). Datorita timpului de injumatatire de 11-18 ore este necesara administrarea doar o data pe zi (Nisbet-Brown 2003). Deferasirox exercita o indepartare similara de fier comparativ cu deferoxamina la pacientii cu talasemie; efectul a 40 mg/kg deferoxamina a fost similar cu cel al 20 mg/kg deferasirox (Piga 2006). Si la adulti si la copii o cantitate de 20-30 mg/kg/day deferasirox reduce semnificativ concentratia hepatica de fier si feritina serica (Cappellini 2006). Rezonanta magnetica nucleara arata ca 10-30 mg/zi de deferasirox poate reduce si concentratia de fier de la nivelul inimii dupa un an de tratament. Deferasirox poate cauza crestere minore ale creatininei serice precum si discomfort gastrointestinal si exantem, amandoua autolimitante.

Considerand complianta ca fiind problema deferoxaminei, deferasirox arata un profil cost-eficacitate superior (Vichinsky 2005). Deferasirox este definit ca terapie standard in ambele ghiduri ale National Comprehensive Cancer Network (NCCN) (USA) si in ghidurile internationale ale MDS (Greenberg 2006; Gattermann 2005).

Referinte

- Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 2000;275:19906-19912
- Adams PC, Speechley M, Kertesz AE. Long-term survival analysis in hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1991;101:368-372
- Adams PC, Reboussin DM, Barton JC, et al. Hemochromatosis and iron-overload screening in a racially diverse population. *N Engl J Med* 2005; 352:1769-1778
- Angelucci E, Baronciani D, Lucarelli G, et al. Needle liver biopsy in thalassaemia: analyses of diagnostic accuracy and safety in 1184 consecutive biopsies. *Br J Haematol* 1995;89:757-761
- Bain C, Bradbear R, Siskind V, et al. Cohort study of the risk of malignancy in haemochromatosis and other nonalcoholic liver diseases. *Hepatology* 1984;4:A1020
- Biasiotto G, Belloli S, Ruggeri G, et al. Identification of new mutations of the HFE, hepcidin, and transferrin receptor 2 genes by denaturing HPLC analysis of individuals with biochemical indications of iron overload. *Clin Chem* 2003;49:1981-1988
- Bierens deHaan B, Scherrer JR, Stauffacher W, et al. Iron excess, early glucose intolerance, and impaired insulin secretion in idiopathic hemochromatosis. *Eur J Clin Invest* 1973;3:179-187
- Blei AT, Robbins DC, Drobny E, et al. Insulin resistance and insulin receptors in hepatic cirrhosis. *Gastroenterology* 1982;83:1313-1318
- Brandhagen DJ, Alvarez W, Therneau TM, et al. Iron overload in cirrhosis-HFE genotypes and outcome after liver transplantation. *Hepatology* 2000;31:456-460
- Brittenham GM, Griffith PM, Nienhuis AW, et al. Efficacy of deferoxamine in preventing complications of iron overload in patients with thalassemia major. *N Engl J Med* 1994;331:567-573
- Buja L, Roberts W. C Iron in the heart. *Am J Med* 1971;51:209-221
- Cappellini MD, Cohen A, Piga A, et al. A Phase III study of deferasirox (ICL670), a once-daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia. *Blood* 2006;107:3455-3462
- Cohen A, Martin M, Schwartz E. Response to long-term deferoxamine therapy in thalassemia. *J Pediatr* 1981;99:689-694
- Cohen AR, Mizanin J, Schwartz E. Rapid removal of excessive iron with daily, high-dose intravenous chelation therapy. *J Pediatr* 1989;115:151-155
- Cohen A. Management of iron overload in the pediatric patient. *Hematol Oncol Clin North Am* 1987;1:521-544
- Corradini E, Ferrara F, Pollicino T, et al. Disease progression and liver cancer in the ferroportin disease. *Gut* 2007;56:1030-1032
- Creutzfeldt W, Frerichs H, Sickinger K. Liver diseases and diabetes mellitus. *Prog Liver Dis* 1970;3:371-407
- Crosby WH. Hereditary hemochromatosis. In: Ingelfinger FJ (ed) *Controversy in internal medicine*. Saunders, Philadelphia, 1966:261-270
- De Domenico I, Diane M, Ward DM, et al. Hepcidin regulation: ironing out the details. *J Clin Invest* 2007;117:1755-1758

- De Gobbi M, Pasquero P, Brunello F, et al. Juvenile hemochromatosis associated with B-thalassemia treated by phlebotomy and recombinant human erythropoietin. *Haematologica* 2000;85:865-867
- Diamond T, Stiel D, Posen S. Osteoporosis in hemochromatosis: iron excess, gonadal deficiency, or other factors? *Ann Intern Med* 1989;110:430-436
- Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, et al. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000;403:778-781
- Dymock W, Hamilton EBD, Laws JW, et al. Arthropathy of hemochromatosis: clinical and radiological analysis of 73 patients with iron overload. *Ann Rheum Dis* 1970;29:469-476
- Dymock W, Cassar J, Pyke DA, et al. (1972) Observations on the pathogenesis, complications, and treatment of diabetes in 115 cases of hemochromatosis. *Am J Med* 52:203-210
- Edwards CQ, Griffen LM, Goldgar D, et al. Prevalence of hemochromatosis among 11,065 presumably healthy blood donors. *N Engl J Med* 1988;318:1355-1362
- Elmberg M, Hultcrantz R, Ekbom A, et al. Cancer risk in patients with hereditary hemochromatosis and in their first-degree relatives. *Gastroenterology* 2003;125:1733-2741
- Erhardt A, Niederau C, Osman Y, et al. Demonstration of HFE polymorphism in German patients with hereditary hemochromatosis. *Dtsch Med Wochenschr* 1999;124:1448-1452
- Erhardt A, Maschner-Olberg A, Mellenthin C, et al. HFE mutations and chronic hepatitis C: H63D and C282Y heterozygosity are independent risk factors for liver fibrosis and cirrhosis. *J Hepatol* 2003;38:335-342
- Fargion S, Mandelli C, Piperno A, et al. Survival and prognostic factors in 212 Italian patients with genetic hemochromatosis. *Hepatology* 1992;15:655-659
- Feder JN, Gnirke A, Thomas W, et al. A novel MCH class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nature Genetics* 1996;13:399-407
- Filali M, Le Jeune C, Durand E, et al. Juvenile hemochromatosis HJV-related revealed by cardiogenic shock. *Blood Cells Mol Dis* 2004;33:120-124
- Finch SC, Finch CA. Idiopathic hemochromatosis, an iron storage disease. *Medicine* 1966;34:381-430
- Fleming RE, Sly WS. Ferroportin mutation in autosomal dominant hemochromatosis: loss of function, gain in understanding. *J Clin Invest* 2001;108:521-522
- Fleming RE, Sly WS. Mechanisms of iron accumulation in hereditary hemochromatosis. *Ann Rev Physiol* 2002;4:663-680
- Fletcher LM, Halliday JW. Haemochromatosis: Understanding the mechanism of disease and implications for diagnosis and patient management following the recent cloning of novel genes involved in iron metabolism. *J Intern Med* 2002;251:181-192
- Gattermann N. Consensus statement on iron overload in myelodysplastic syndromes. *Hematol Oncol Clin N Am* 2005;19:S18-S25
- Girelli D, Bozzini C, Roetto A. Clinical and pathological finding in hemochromatosis type 3 due to a novel mutation in transferrin receptor 2 gene. *Gastroenterology* 2002;122:1295-1302
- Goldbeck L, Baving A, Kohne E. Psychosocial aspects of beta-thalassemia: distress, coping and adherence. *Klin Pädiatr* 2000;212:254-259
- Greenberg PL, Baer MR, Bennett JM, et al. Myelodysplastic syndromes clinical practice guidelines in oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2006;4:58-77
- Hanot V, Schachmann M. Sur la cirrhose pigmentaire dans le diabète sucré. *Arch Physiol Norm Pathol* 1886;7:50-72
- Hattori A, Wakusawa S, Hayashi H, et al. AVAQ 594-597 deletion of the TfR2 gene in a Japanese family with hemochromatosis. *Hepatol Res* 2003;26:154-156

- Herbay von A, Niederau C, Pelichowska M, et al. Kardiomyopathie als Todesursache bei genetischer Hämochromatose. *Z Gastroenterol* 1996;34:178-182
- Hershko C, Konijn AM, Nick HP, et al. ICL670A: a new synthetic oral chelator: evaluation in hypertransfused rats with selective radio iron probes of hepatocellular and reticuloendothelial iron stores and in ironloaded rat heart cells in culture. *Blood* 2001 ;97:1115-1122
- Jensen PD, Bagger JP, Jensen FT, et al. Heart transplantation in a case of juvenile hereditary haemochromatosis followed up by MRI and endomyocardial biopsies. *Eur J Haematol* 1993;51:199-205
- Jouanolle AM, Douabin-Gicquel V, Halimi C, et al. Novel mutation in ferroportin 1 gene is associated with autosomal dominant iron overload. *J Hepatol* 2003;39:286-289
- Kelly AL, Rhodes DA, Roland JM, et al. Hereditary juvenile haemochromatosis: a genetically heterogeneous life-threatening iron-storage disease. *QJM* 1998;91:607-618
- Kley HK, Stremmel W, Niederau C, et al. Androgen and estrogen response to adrenal and gonadal stimulation in idiopathic hemochromatosis: evidence for decreased estrogen formation *Hepatology* 1985a;251-256
- Kley HK, Niederau C, Stremmel W, et al. Conversion of androgens to estrogens in idiopathic hemochromatosis: comparison with alcoholic cirrhosis. *J Clin Endocrinol Metabol* 1985b;61:1-6
- Kowdley K, Hassanein T, Kaur S, et al. Primary liver cancer and survival in patients undergoing liver transplantation for hemochromatosis. *Liver Transpl Surg* 1995;1:237-241
- Liu P, Olivieri N. Iron overload cardiomyopathies: new insights into an old disease. *Cardiovasc Drugs Ther* 1994;8:101-110
- Loreal O, Deugnier Y, Moirand R. Liver fibrosis in genetic hemochromatosis. Respective roles of iron and non-iron related factors in 127 homozygous patients. *J Hepatol* 1992;16:122-127
- MacDonald RA, Mallory GK. Hemochromatosis and hemosiderosis. Study in 211 autopsied cases. *Arch Intern Med* 1960;105:686-700
- Mattman A, Huntsman D, Lockitch G, et al. Transferrin receptor 2 (TfR2) and HFE mutational analysis in non-C282Y iron overload: identification of a novel TFR2 mutation. *Blood* 2002;100:1075-1077
- McLaren GD, Muir WA, Kellermeyer RW. In overload disorders: natural history, pathogenesis, diagnosis, and therapy. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1983;19:205-266
- Miskin H, Yaniv I, Berant M, et al. Reversal of cardiac complications in thalassemia major by long-term intermittent daily intensive iron chelation. *Eur J Haematol* 2003;70:398-403
- Montosi G, Donovan A, Totaro A, et al. Autosomal-dominant hemochromatosis is associated with a mutation in the ferroportin (SLC11A3) gene. *J Clin Invest* 2001;108:619-623
- Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, et al. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004;306:2090-2093
- Nemeth E, Roetto A, Garozzo G, et al. Heparin is decreased in TFR2-Hemochromatosis. *Blood* 2005;105:1803-1806
- Nick H, Acklin P, Latmann R, et al. Development of tridentate iron chelators: from desferri-thiocin to ICL670. *Curr Med Chem* 2003;10:1065-1076
- Niederau C, Berger M, Stremmel W, et al. Hyperinsulinaemia in non-cirrhotic haemochromatosis: impaired hepatic insulin degradation? *Diabetologia* 1984; 26:441-444
- Niederau C, Fischer R, Sonnenberg A, et al. Survival and causes of death in cirrhotic and non-cirrhotic patients with primary haemochromatosis. *New Engl J Med* 1985;313:1256-1262
- Niederau C, Fischer R, Pürschel A, et al. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996;110:1107-1119

Niederau C, Niederau CM, Littauer A, et al. Screening for iron overload and iron deficiency. *Ann Int Med* 1998;128:337-345

Niederau C. Diabetes mellitus bei Hämochromatose. *Z Gastroenterol* 1999;37:22-32

Niederau C. Iron overload and atherosclerosis. *Hepatology* 2000;32:569-674

Nisbet-Brown E, Olivieri F, Giardina PJ, et al. Effectiveness and safety of ICL670 in iron-loaded patients with thalassaemia: a randomised, double-blind, placebo-controlled, dose-escalation trial. *Lancet* 2003;361:1597-1602

Njajou OT, Vaessen N, Joosse M, et al. A mutation in SLC11A3 is associated with autosomal dominant hemochromatosis. *Nat Genet* 2001;28:213-214

Olivieri NF, Brittenham GM. Iron-chelating therapy and the treatment of thalassemia. *Blood* 1997;89:739-761

Olivieri NF, Nathan DG, Macmillan JH, et al. Survival in medically treated patients with homozygous beta-thalassemia. *N Engl J Med* 1994;331:574-578

Phatak PD, Sham RL, Raubertas RF, et al. Prevalence of hereditary hemochromatosis in 16,031 primary care patients. *Ann Intern Med* 1998;129:954-961

Phelps G, Chapman I, Hall P, et al. Prevalence of genetic haemochromatosis among diabetic patients. *Lancet* 1989;2:233-234

Pietrangelo A, Montosi G, Totaro A. Hereditary hemochromatosis in adults without pathogenic mutations in the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999;341:725-732

Pietrangelo A. Physiology of iron transport and the hemochromatosis gene. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000;282:G403-G414

Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis - a new look at an old disease. *N Engl J Med* 2004;350:2383-2397

Pietrangelo A. The ferroportin disease. *Blood Cells Mol Dis* 2004;32:131-138

Piga A, Galanello R, Forni GL, et al. Randomized phase II trial of deferasirox (Exjade, ICL670), a once-daily, orally-administered iron chelator, in comparison to deferoxamine in thalassemia patients with transfusional iron overload. *Haematologica* 2006;91:873-880

Piperno A, Roetto A, Mariani R, et al. Homozygosity for transferrin receptor-2 Y250X mutation induces early iron overload. *Haematologica* 2004; 89:359-360

Porter JB. Practical management of iron overload. *Br J Haematol* 2001;115:239-252

Powell LW, Mortimer R, Harris OD. Cirrhosis of the liver: A comparative study of the four major aetiological groups. *Med J Aust* 1971;58:1941-1950

Rahier J, Loozen S, Goebbels RM, et al. The haemochromatosis human pancreas: a quantitative immunochemical and ultrastructural study. *Diabetologia* 1987;30:5-12

Recklinghausen von FD. Über Hämochromatose. *Berl Klin Wochenschr* 1898;26:925

Rivard SR, Lanzara C, Grimard D, et al. Autosomal dominant reticuloendothelial iron overload (HFE type 4) due to a new missense mutation in the FERROPORTIN 1 gene (SLC11A3) in a large French-Canadian family. *Haematologica* 2003;88:824-826

Roetto A, Totaro A, Cazzola M, et al. Juvenile hemochromatosis locus maps to chromosome 1q. *Am J Hum Genet* 1999;64:1388-1393

Roetto A, Totaro A, Piperno A, et al. New mutations inactivating transferrin receptor 2 in hemochromatosis type 3. *Blood* 2001;97:2555-2560

Schuhmacher HR. Hemochromatosis and arthritis. *Arthr Rheum* 1964;7:41-50

Sheldo JH. Hemochromatosis. Oxford University Press, 1935, London.

Short EM, Winkle RA, Billingham ME. Myocardial involvement in idiopathic hemochromatosis. *Am J Med* 1979;70:1275-1279

- Singh BM, Grunewald RA, Press M, et al. Prevalence of haemochromatosis amongst patients with diabetes mellitus. *Diabet Med* 1992 ;9:730-731
- Simon M, Pawlotsky Y, Bourel M, et al. Hemochromatose idiopathique. Maladie associee a l'antigen HLA-A3? *Nouv Press Med* 1075;4:1432
- Simon M, Bourel M, Genetet B. Idiopathic hemochromatosis: demonstration of recessive transmission and early detection by family HLA typing. *N Engl J Med* 1977;297:1017-1021
- Summers KM, Halliday JW, Powell LW. Identification of homozygous hemochromatosis subjects by measurement of hepatic iron index. *Hepatology* 1990;12:20-25
- Tavill AS. Diagnosis and management of hemochromatosis. *Hepatology* 2001;33:1321-1328
- Telfer PT, Prestcott E, Holden S, et al. Hepatic iron concentration combined with long-term monitoring of serum ferritin to predict complications of iron overload in thalassaemia major. *Br J Haematol* 2000;110:971-977
- Toll A, Celis R, Ozalla MD, et al. The prevalence of HFE C282Y gene mutation is increased in Spanish patients with porphyria cutanea tarda without hepatitis C virus infection. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2006;20:1201-1206
- Troisier M. Diabete sucre. *Bull Soc Anatom (Paris)* 1871;16:231-235
- Trosseau A. Glucosurie: Diabete sucre. *Bull Soc Anatom (Paris)* 1865;2:663
- U.S. Preventive Services Task Force. Screening for Hemochromatosis: Recommendation Statement. *Am Fam Phys* 2007;75:11-21
- Vaiopoulos G, Papanikolaou G, Politou M, et al. Arthropathy in juvenile hemochromatosis. *Arthritis Rheum* 2003;48:227-230
- Vichinsky E, Fischer R, Pakbaz Z, et al. Satisfaction and convenience of chelation therapy in patients with sickle cell disease (SCD): comparison between deferasirox (Exjade®, ICL670) and deferoxamine (DFO). *Blood* 2005;106:A2334
- Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL, et al. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet* 1999;21:195-199
- Wallace DF, Clark RM, Harley HA, et al. Autosomal dominant iron overload due to a novel mutation of ferroportin1 associated with parenchymal iron loading and cirrhosis. *J Hepatol* 2004;40:710-713
- Yaouanq JM. Diabetes and hemochromatosis: current concepts, management and prevention. *Diabete et Metabolisme (Paris)* 1995;21:219-329
- Zhang AS, Xiong S, Tsukamoto H, et al. Localization of iron metabolism-related mRNAs in rat liver indicate that HFE is expressed predominantly in hepatocytes. *Blood* 2004;103:1509-1514
- Zurlo MG, De Stefano P, Borgna-Pignatti C, et al. Survival and causes of death in thalassaemia major. *Lancet* 1989;2:27-30

Capitolul 25:NAFLD si NASH

Claus Niederau

Introducere

Ambele entitati clinice, incarcarea grasa non-alcoolica a ficatului (non-alcoholic fatty liver disease - NAFLD) si steato-hepatita non-alcoolica (non-alcoholic steato-hepatitis - NASH) sunt deseori asociate cu obezitate, diabet zaharat si cresteri asimptomatice ale ALT serice si ale gamma-GT. Monitorizarea ecografica poate sugera prezenta incarcarii grase a ficatului; cu toate acestea diferentierea dintre NAFLD si NASH necesita biopsie hepatica. Aceasta diferentiere poate fi importanta pentru ca NASH este asociata cu un risc mult mai mare de fibroza si ciroza hepatica decat NAFLD. Scaderea moderata in greutate prin modificari ale dietei si a stilului de viata este singura terapie dovedita a fi eficace in NASH. Abstinenta totala la alcool si un bun control al diabetului zaharat probabil sunt de asemenea importante in reducerea riscului de boala severa in NASH.

Prevalenta

NAFLD este prezenta in populatia generala a tarilor industrializate intre 20% si 40% si este cea mai frecventa boala cronica hepatica (Browning 2004; Chitturi 2004; McCullough 2005), fiind mult mai frecventa la persoanele diabetice si obeze (Bellentani 1994; Wanless 1990; Clark 2002; Chitturi 2004). Dintre toti subiectii cu NAFLD, pot fi intalnite caracteristici ale steato-hepatitei non-alcoolice (NASH) la 10-20%. Prevalenta NASH in tarile vestice este de aproximativ 2-6%, iar in SUA, NASH a fost estimata a afecta 5-6% din populatia generala (McCullough 2005). S-a sugerat ca NASH este asociata cu mai mult de 50% din cirozele criptogenetice (Ratziu 2002). NAFLD poate progresa spre NASH cu fibroza, ciroza si carcinom hepatocelular (Marchesini 2003; Caldwell 2004). Termenul de NASH a fost introdus de Ludwig (Ludwig 1980) care a descris 20 de pacienti ai clinicii Mayo cu o boala nedenumita pana atunci asociata cu hepatomegalie, ALT modificate, ficat incarcat gras histologic, hepatita lobulara, si fibroza ce mimeaza hepatita alcoolica in absenta consumului de alcool; cei mai multi pacienti aveau obezitate si diabet zaharat.

Factori de risc si demografie

In SUA, NAFLD este de 3-5 ori mai frecvent la barbati decat la femei; aceasta diferentiere pe sexe poate fi partial explicata de faptul ca barbatii au BMI mai mare si ca unii din pacientii barbati cu NAFLD consuma mai mult alcool decat afirma (Schwimmer 2005; Bahcecioğlu 2006; Loguercio 2001). Prevalenta NAFLD in SUA este crescuta in special la populatia de origine hispanica (28%) sau asiatica (20-30%) (Schwimmer 2005; Weston 2005). Datorita cresterii dramatice a obezitatii in SUA si multe alte tari industrializate, a crescut de asemenea dramatic si prevalenta NAFLD si NASH. In SUA aproape 50% din baietii obezi au NAFLD (Schwimmer 2005). In multe tari peste 80% din pacientii cu NAFLD prezinta

cresterea BMI si 30-40% sunt obezi; aproximativ 50% prezinta semne de rezistenta la insulina, 20-30% au diabet tip 2, 80% prezinta hiperlipidemie, si 30-60% au hipertensiune arteriala. Corespunzator exista o asociere puternica intre NAFLD si NASH si sindromul metabolic peste tot in lume (Marchesini 1999; Bedogni 2005). In comparatie cu pacientii cu NAFLD, pacientii cu NASH sunt mai in varsta, mai obezi si prezinta mai des valori crescute ale enzimelor hepatice in ser, diabet zaharat si sindrom metabolic (Ratziu 2002; Adams 2005; Hamaguchi 2005; Fassio 2004).

Patogenia

Gradul incarcarii grase in NAFLD este raportat la procentul de hepatocite cu depozite de grasime: NAFLD usoara implica mai putin de 30% din hepatocite, NAFLD moderata pana la 60%, si NAFLD severa la mai mult de 60% (Ploeg 1993). NAFLD poate regresa daca este eliminata cauza. NASH este asociata cu rezistenta la insulina, cresterea nivelului circulant de leptina, adiponectina, factorul necrozei tumorale si unele interleukine (Friedman 1998; Marra 2004). Se crede ca exista o crestere a fluxului de acizi grasi liberi de la grasimea viscerală la ficat contribuind la anomalii in metabolismul celular lipidic (Hashimoto 1999; Vendemiale 2001). Rezistenta la insulina si cresterea acizilor grasi liberi pot ambele afecta oxidarea mitocondrială a acizilor grasi cauzand generarea de radicali liberi in hepatocite (Grattagliano 2003). Astfel, NASH este cauzata prin doua mecanisme sau "lovituri" toxice; primul mecanism consta in acumularea de trigliceride (NAFLD) datorita rezistentei la insulina, iar al doilea este generarea de radicali liberi cu eliberare ulterioara de mediatorii si citokine (McCullough 2006). Rezistenta la insulina a fost strans legata de incarcarea grasa non-alcoolica a ficatului in ambele trialuri clinice si studiile de laborator (McCullough 2006; Marchesini 2001; Sanyal 2001). Cu toate acestea, procesul real prin care NAFLD evolueaza la NASH ramane insuficient definit in ciuda acestei teorii a dublei "lovituri". Probabil, factorii genetici (similar cu cei responsabili pentru sindromul metabolic) la fel ca factorii exogeni (medicamente, consum moderat de alcool si alte toxine) pot contribui la evolutia NAFLD catre NASH. Rolul fierului hepatic in progresia NASH ramane controversat, dar la anumiti pacienti, fierul poate avea rol in patogenia NASH prin stimularea stresului oxidativ. Supraincercarea cu fier s-a aratat ca produce peroxidarea lipidelor si activarea celulelor hepatice stelate (Lee 1995). In unele raportari s-a relatat o crestere a prevalentei mutatiei Cys282Tyr in gena HFE la pacientii cu NASH (George 1998). Prezenta mutatiei Cys282Tyr a fost asociata cu cresterea concentratiei hepatice de fier, care pare asociata cu severitatea fibrozei. Alte studii au aratat ca si alte mutatii heterozigote ale genei HFE sunt mult mai frecvente la pacientii cu NASH comparativ cu lotul control (Bonkowsky 1999), iar la alte cohorte clinice nu s-a observat o asociere intre fierul hepatic si prognosticul clinic sau histologic (Younoussi 1999).

Evolutia naturala

Evolutia naturala a NAFLD in populatia generala nu este bine definita, cele mai multe date fiind obtinute de la pacienti selectionati si centre terțiare (Dam-Larsen 1996; Lee 1989; Teli 1995). Corespunzator, mortalitatea si morbiditatea raportate la pacientii internati cu NAFLD este de aproximativ 5 ori mai mare decat s-a observat in populatia generala (Matteoni 1999). In populatia generala riscul de deces asociat afectarii hepatice in NAFLD pare sa fie asociat in principal cu varsta, rezistenta la insulina, si prezent pe preparatele histologice a inflamatiei si fibrozei hepatice (Adams 2005). Probabil aproape 10% din pacientii cu NAFLD vor progresa catre NASH dupa o perioada de 10 ani (Figura 1). Ciroza se dezvoltă tarziu la 5-25% din prepacientii cu NASH si 30-50% din acesti pacienti mor de cauze asociate afectarii hepatice dupa o perioada de 10 ani (McCollough 2005; Matteoni 1999). Ciroza la pacientii cu NASH se poate, de asemenea, decompensa in insuficienta hepatica subacuta, sau progresa catre cancer hepatocelular (HCC), si poate reapare dupa transplantul hepatic (McCollough 2005). Steatoza singura este raportata a avea o evolutie clinica mai blanda, cu dezvoltarea cirozei in doar 1-3% din pacienti (Day 2004; Day 2005; McCollough 2005; Matteoni 1999). Pacientii cu NASH si fibroza au, de asemenea, risc semnificativ de a dezvoltă carcinom hepatocelular (El-Serag 2004) (Figura 1).

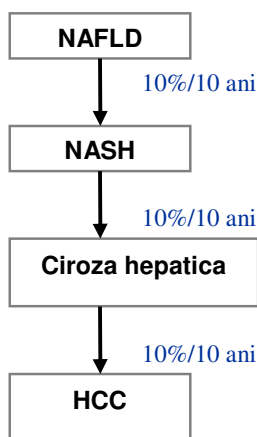


Figura 1. Evolutia naturala a NASH.

Indicele HAIR (hipertensiune; ALT > 40 UI /l; rezistenta la insulina)

- ≥ 2 are sensibilitate 80%, specificitate 89% pentru NASH (Dixon 2001)

Indicele BAAT (BMI>28; varsta > 50 ani; ALT > 2 x Valoare Maxima normal admisa; cresterea trigliceridelor)

- ≤ 1 are valoare predictiva 100% pentru NASH

Tabelul 1. Predictorii neinvazivi ai NASH.

Diagnostic

NAFLD si NASH necesita o raportare corecta a consumului de alcool. Din moment ce numai aproximativ 10% din populatia vestica este complet abstinenta de la consumul de alcool, trebuie sa se stabileasca un prag peste care se presupune ca alcoolul contribuie (cel putin) la procesele patogenice din NAFLD si NASH. Cei mai multi autori utilizeaza ca prag ingestia zilnica a 20g de alcool (Figura 2); altii utilizeaza valori mai scazute de 10 g/zi sau mai mari de 40 g/zi pentru barbati. Diagnosticul de NAFLD si NASH mai include verificarea abuzului de medicamente, a infectiei HBV si HCV, a hemocromatozei, a bolilor hepatice autoimune si la pacientii tineri, a bolii Wilson. La anumiti pacienti, NASH poate fi asociata cu boli hepatice induse de alcool si medicamente si cu infectie HCV si HBV. Asocierea NAFLD/NASH cu infectia HCV joaca un rol clinic important pentru ca in aceasta situatie rata fibrozei hepatice este crescuta si succesul tratamentului antiviral este diminuat (Ramesh 2004). NASH poate fi indusa de un numar variat de medicamente si toxine incluzand corticosteroizii, amiodarona, metotrexatul, tetraciclina, tamoxifen, si valproatul (Pessayre 2002) (Tabelul 4). Astfel este necesara o anamneza atenta a intregii istorii clinice a pacientilor. In practica, NAFLD este mai des diagnosticata prin combinarea nivelului crescut al ALT si al gamma-GT cu aspectul sonografic de crestere a ecodensitatii hepatice. Cu toate acestea un numar considerabil de pacienti cu NAFLD si chiar cu NASH si fibroza au valori normale ale enzimelor serice hepatice (Abrams 2004). De obicei ALT este mai mare decat AST exceptand cazul cand exista fibroza severa sau ciroza deja instalata. Glicemia *a jeun* trebuie verificata la toti pacientii cu NAFLD si NASH; de asemenea se vor gasi frecvent valori crescute ale insulinei serice, rezistenta la insulina si/sau diabet (Tabelul 2).

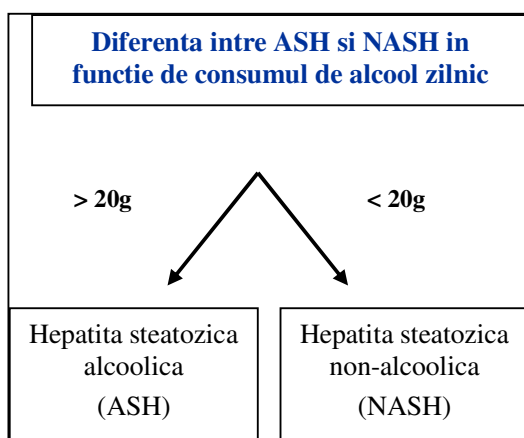


Figura 2. Diferentierea bolii hepatice alcoolice (ASH) de NASH.

Scadere moderata in greutate

- Medicamente pentru tratarea obezitatii (e.g., orlistat sau sibutramina)
- Abstinenta totala de la consumul de alcool
- Un bun control al diabetului zaharat
- Antidiabetice orale de tipul glitazonelor
- Chirurgie pentru obezitatea masiva (e.g., bypass gastric chirurgical)
- Transplant hepatic (LTX)

Tabelul 2: Optiuni de tratament pentru NASH.

Multi autori recomanda, de asemenea, controlul de rutina pentru sindrom metabolic, care este diagnosticat atunci cand trei din urmatoarele caracteristici sunt prezente (Greenland 2003):

- circumferinta taliei ≥ 102 cm pentru barbati si ≥ 88 cm pentru femei,
- nivelul glicemiei *a jeun* ≥ 6.1 mmol/L,
- trigliceridemia ≥ 1.7 mmol/L,
- cresterea high-density lipoprotein (HDL) si a colesterolului (>1.3 mmol/L la femei; >1.03 mmol/L la barbati)
- hipertensiune $\geq 135/80$ mm Hg.

Ecografia abdominala are sensibilitate si specificitate inalte (ambele aproape 90%) pentru depistarea incarcarii grase, dar nu evalueaza prezenta sau gradul de inflamatie si fibroza (Davies 1991). Prin urmare, diagnosticul de ficat gras este usor de facut prin intermediul ecografiei, dar diagnosticul de NAFLD sau NASH nu poate fi pus fara histologia hepatica. In plus biopsia hepatica este inca singurul mod fiabil de a diferentia NASH de NAFLD (Harrison 2003). Astazi majoritatea anatomo-patologilor utilizeaza scorul Brunt pentru a evalua gradul histologic al NASH (Brunt 1999) (Figura 3). NAFLD este o boala foarte frecventa dar relativ benigna si scopul diagnosticului este de a identifica anumiti factori de risc pentru NASH in vederea evitarii realizarii biopsiei hepatice la toti pacientii cu NAFLD. Factorii de risc pentru NASH includ varsta inaintata, obezitatea excesiva, diabetul zaharat, hepatotoxice, si semne clinice, de laborator sau ecografice sugestive de boala hepatica severa; doua scoruri neinvazive au fost utilizate pentru precizarea NASH si pot fi utilizate pentru identificarea pacientilor la care trebuie efectuata biopsia hepatica (Tabelul 3) (Dixon 2001; Ratziu 2000). Combinarea a diversi markeri serici de fibroza hepatica si a rezultatelor privind fibroza hepatica masurate prin fibroscan sunt sugestive in predictia prezentei NASH si a fibrozei (Rosenberg 2004; Suzuki 2005), dar aceste teste nu au inlocuit inca biopsia hepatica.

A.Gradul	Steatoza	Balonizarea hepatocitelor	Gradul de inflamatie
1	<33%	minima	usor
2	34-66%	prezenta	moderata
3	>66%	marcata	Moderata portal, moderata lobular

B.Stadiul	Fibroza
1.	Perisinusoidal
2.	Perisinusoidal si portal/periportal
3.	Punti septale
4.	Punti de fibroza extinsa, ciroza

Figura 3. Scorul histologic Brunt (Brunt 1999).

Dieta si recomandari pentru stilul de viata

Pana in prezent, singurul tratament eficace pentru NAFLD si NASH este scaderea usoara sau moderata in greutate, de obicei asociata cu alte modificari ale stilului de viata. Cateva studii au aratatca scaderea rapida in greutate (dieta foarte scazuta in calorii sau infometarea) creste insa riscul de progresie a bolii hepatice si chiar poate duce la insuficienta hepatica (Grattagliano 2000; James 1998; Neuschwander-Tetri 2003), ceea ce indica o scadere in greutate, dar sa aiba ca scop o scadere in greutate de 10% din greutatea corporala in 6-12 luni (Okita 2001). Este neclar daca dietele speciale sunt de ajutor; probabil este mai important ca pacientii sa consume mancare simpla sanatoasa tip vegetale si fructe, bogata in fibre si carbohidrati cu un indice glicemic scazut; ei trebuie sa evite carnea, grasimile saturate si produsele sarace in carbohidrati. Modificarile stilului de viata trebuie sa includa cresterea activitatii fizice si sporturi, precum si abstinenta de la alcool. Rezultatele studiilor recente arata ca nu este necesara limitarea consumului de cafea.

Tratamentul farmacologic

Nu exista un medicament dovedit a aduce beneficii in tratamentul NAFLD si NASH; asadar nici un medicament nu a fost aprobat de FDA sau EMEA. In general, antidiabeticile orale care pot ameliora rezistenta la insulina precum metforminul si tiazolidindionele (rosiglitazona, pioglitazona) sunt cele mai promitatoare (Angelico 2007); in studii mici aceste medicamente au aratat o oarecare imbunatatire histologica a NASH (Bugianesi 2004; Belfort 2006).

In general, toate medicamentele care induc scadere in greutate pot fi utile in NAFLD si NASH, in special cand dieta si modificarea stilului de viata nu au efect (Tabelul 5). Sibutramina si orlistatul au aratat o imbunatatire a unor caracteristici

ale NAFLD si NASH precum gradul echografic al steatozei hepatice ca si gradul histologic al steatozei si al fibrozei (Sabuncu 2003; Derosa 2004, Hussein 2007; Harrison 2007).

Antioxidantii si substantele citoprotectoare au fost de asemenea propuse in tratamentul NAFLD si NASH incluzand vitamina E, vitamina C, glutatiunul, betaina, acetilcisteina, S-adenozil-L-metionina si acidul ursodezoxicolic. Dupa o recenta analiza Cochrane niciuna din aceste substante nu a aratat insa un beneficiu semnificativ in studii validate, randomizate (Lirussi 2007).

Chirurgia pentru obezitate

Unele studii arata ca recent bypassul gastric imbunatateste evolutia NASH (Liu 2007; de Almeida 2006; Furuya 2007); cu toate acestea chirurgia este de obicei rezervata pacientilor cu obezitate masiva.

Transplantul hepatic (LTX) pentru NASH

Transplantul hepatic este optiunea finala pentru pacientii cu NASH in stadiul final dupa instalarea cirozei si complicatiilor hipertensiunii portale. Datorita cresterii prevalentei NASH, este raportata de asemenea si o crestere a numarului LTX realizat pentru boala hepatica in stadiul final cauzata de NASH (Burke 2004). Cu toate acestea, NASH poate recidiva dupa LTX, in special daca pacientii au avut anterior operatie de bypass jejunoileal (Kim 1996; Requart 1995; Weston 1998; Contos 2001; Burke 2004), deoarece LTX nu vindeca defectele metabolice care produc NASH.

Referinte

- Abrams GA, Kunde SS, Lazenby AJ, Clements RH. Portal fibrosis and hepatic steatosis in morbidly obese subjects: a spectrum of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2004;40:475–83.
- Adams LA, Lymp JF, Sauver SJ, et al. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005;129:113–21.
- Adams LA, Sanderson S, Lindor KD, Angulo P. The histological course of nonalcoholic fatty liver disease: a longitudinal study of 103 patients with sequential liver biopsies. *J Hepatol* 2005;42:132–8.
- Angelico F, Burattin M, Alessandri C, Del Ben M, Lirussi F. Drugs improving insulin resistance for non-alcoholic fatty liver disease and/or non-alcoholic steatohepatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;24:CD005166.
- Bahcecioglu IH, Koruk M, Yilmaz O, et al. Demographic and clinicopathological characteristics of nonalcoholic fatty liver disease in the east-southeastern Anatolia regions in Turkey. *Med Princ Pract* 2006;15:62–8.
- Bedogni G, Miglioli L, Masutti F, Tiribelli C, Marchesini G, Bellentani S. Prevalence of and risk factors for nonalcoholic fatty liver disease: the Dionysos nutrition and liver study. *Hepatology* 2005;42:44–52.
- Belfort R, Harrison SA, Brown K, et al. A placebo-controlled trial of pioglitazone in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *N Engl J Med* 2006;355:2297–2307.
- Bellentani S, Tiribelli C, Saccoccio G, et al. Prevalence of chronic liver disease in the general population of northern Italy: the Dionysos Study. *Hepatology* 1994;20:1442–9.

- Bonkovsky HL, Jawaid Q, Tortorelli K, et al. Non-alcoholic steatohepatitis and iron: increased prevalence of mutations of the HFE gene in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol*. 1999;31:421-429.
- Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, et al. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004;40:1387-1395.
- Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. *Am J Gastroenterol* 1999;94:2467-74.
- Burke A, Lucey MR. Non-alcoholic fatty liver disease, non-alcoholic steatohepatitis and orthotopic liver transplantation. *Am J Transplant* 2004;4:686-93.
- Caldwell SH, Crespo DM. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2004;40:578-84.
- Chitturi S, Farrell GC, George J. Non-alcoholic steatohepatitis in the Asia-Pacific region: future shock. *J Gastroenterol Hepatol* 2004;19:368-374.
- Clark JM, Brancati FL, Diehl AM. Nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology* 2002;122:1649-57
- Contos MJ, Cales W, Sterling RK et al. Development of nonalcoholic fatty liver disease after orthotopic liver transplantation for cryptogenic cirrhosis. *Liver Transpl* 2001;7:363-73.
- Davies RJ, Saverymuttu SH, Fallowfield M, Joseph AE. Paradoxical lack of ultrasound attenuation with gross fatty change in the liver. *Clin Radiol* 1991;43:393-6.
- Day CP. The potential role of genes in nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Liver Dis* 2004;8:673-91.
- Day CP. Natural history of NAFLD: remarkably benign in the absence of cirrhosis. *Gastroenterology* 2005;129:375-8.
- Dam-Larsen S, Franzmann M, Andersen IB, et al. Long term prognosis of fatty liver: risk of chronic liver disease and death. *Gut* 2004;53:750-5
- de Almeida SR, Rocha PR, Sanches MD, et al. Roux-en-Y gastric bypass improves the nonalcoholic steatohepatitis (NASH) of morbid obesity. *Obes Surg* 2006;16:270-8.
- Derosa G, Cicero AF, Murdolo G, Ciccarelli L, Fogari R. Comparison of metabolic effects of orlistat and sibutramine treatment in Type 2 diabetic obese patients. *Diabetes Nutr Metab* 2004;17:222-9.
- Dixon JB, Bhathal PS, O'Brien PE. Nonalcoholic fatty liver disease: predictors of nonalcoholic steatohepatitis and liver fibrosis in the severely obese. *Gastroenterology* 2001; 21:91-100.
- El-Serag HB, Tran T, Everhart JE. Diabetes increases the risk of chronic liver disease and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004;126:460-8
- Fassio E, Alvarez E, Dominguez N, Landeira G, Longo C. Natural history of nonalcoholic steatohepatitis: a longitudinal study of repeat liver biopsies. *Hepatology* 2004;40:820-6.
- Friedman JM, Halaas JL. Leptin and the regulation of body weight in mammals. *Nature* 1998;395:763-70.
- George DK, Goldwurm S, MacDonald GA, et al. Increased hepatic iron concentration in nonalcoholic steatohepatitis is associated with increased fibrosis. *Gastroenterology*. 1998;114:311-318.
- Grattagliano I, Caraceni P, Portincasa P, et al. Adaptation of subcellular glutathione detoxification system to stress conditions in choline-deficient diet induced rat fatty liver. *Cell Biol Toxicol* 2003;19:355-66.
- Grattagliano I, Portincasa P, Palmieri VO, Palasciano G. Managing nonalcoholic fatty liver disease. Recommendations for family physicians. *Can Fam Physician* 2007;53:857-63.

- Furuya CK Jr, de Oliveira CP, de Mello ES, et al. Effects of bariatric surgery on nonalcoholic fatty liver disease: preliminary findings after 2 years. *J Gastroenterol Hepatol* 2007;22:510-4.
- Harrison SA, Torgerson S, Hayashi PH. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a clinical histopathological study. *Am J Gastroenterol* 2003;98:2042-7
- Harrison SA, Fincke C, Helinski D, Torgerson S, Hayashi P.A pilot study of orlistat treatment in obese, non-alcoholic steatohepatitis patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2004;20:623-8.
- Hashimoto T, Fujita T, Usuda N, et al. Peroxisomal and mitochondrial fatty acid beta-oxidation in mice nullizygous for both peroxisome proliferator-activated receptor alpha and peroxisomal fatty acyl-CoA oxidase. Genotype correlation with fatty liver phenotype. *J Biol Chem* 1999;274:19, 228-36.
- Hussein O, Grosovski M, Schlesinger S, Szvalb S, Assy N. Orlistat reverse fatty infiltration and improves hepatic fibrosis in obese patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Dig Dis Sci* 2007;52:2512-9.
- Grattagliano I, Vendemiale G, Caraceni P, et al. Starvation impairs antioxidant defense in fatty livers of rats fed a choline-deficient diet. *J Nutr* 2000;130:2131-6.
- Greenland P, Knoll MD, Stamler J, et al. Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. *JAMA* 2003;290:891-7.
- Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, et al. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005;143:722-8.
- Hussein O, Grosovski M, Schlesinger S, Szvalb S, Assy N. Orlistat reverse fatty infiltration and improves hepatic fibrosis in obese patients with nonalcoholic steatohepatitis (NASH). *Dig Dis Sci* 2007;52:2512-9.
- James OF, Day CP. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH): a disease of emerging identity and importance. *J Hepatol* 1998;29:495-501.
- Kim WR, Poterucha JJ, Porayko MK, Dickson ER, Steers JL, Wiesner RH. Recurrence of nonalcoholic steatohepatitis following liver transplantation. *Transplantation* 1996;62:1802-1805.
- Lee RG. Nonalcoholic steatohepatitis: a study of 49 patients. *Hum Pathol* 1989;20:594-8.
- Lee KS, Buck M, Hougum K, Chojkier M. Activation of hepatic stellate cells by TGF α and collagen type I is mediated by oxidative stress through c-myc expression. *J Clin Invest* 1995;96:2461-2468.
- Lirussi F, Azzalini L, Orlando S, Orlando R, Angelico F. Antioxidant supplements for non-alcoholic fatty liver disease and/or steatohepatitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;24:CD004996.
- Liu X, Lazenby AJ, Clements RH, Jhala N, Abrams GA. Resolution of nonalcoholic steatohepatitis after gastric bypass surgery. *Obes Surg* 2007;17:486-92.
- Loguercio C, De Girolamo V, de Sio I, et al. Non-alcoholic fatty liver disease in an area of southern Italy: main clinical, histological, and pathophysiological aspects. *J Hepatol* 2001;35:568-74.
- Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980;55:434-8.
- Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of the metabolic syndrome. *Diabetes* 2001;50:1844-1850.
- Marchesini G, Brizi M, Morselli-Labate AM, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999;107:450-5.
- Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, et al. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003;37:917-23.

- Matteoni CA, Younossi ZM, Gramlich T, Boparai N, Liu YC, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. *Gastroenterology* 1999;116:1413-1419.
- Marra F. NASH: are genes blowing the hits? *J Hepatol* 2004;40:853-6
- McCullough AJ. Pathophysiology of nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2006;40:1:S17-S29.
- McCullough AJ. The epidemiology and risk factors of NASH. In: Farrell GC, George J, Hall P, McCullough AJ eds. *Fatty liver disease: NASH and related disorders*. Malden, MA: Blackwell, 2005:23-37.
- Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003;37:1202-19.
- Okita M, Hayashi M, Sasagawa T, et al. Effect of a moderately energy-restricted diet on obese patients with fatty liver. *Nutrition* 2001;17:542-7
- Pessayre D, Berson A, Fromenty B, Mansouri A. Mitochondria in steatohepatitis. *Semin Liver Dis* 2001;21:57-69.
- Ploeg RJ, D'Alessandro AM, Knechtle SJ, Stegall MD, Pirsch JD, Hoffmann RM, et al. Risk factors for primary dysfunction after liver transplantation—a multivariate analysis. *Transplantation* 1993;55:807-13
- Ramesh S, Sanyal AJ. Hepatitis C and nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis* 2004;24:399-413
- Ratziu et al. Liver Fibrosis in Overweight Patients. *Gastroenterology* 2000;118:1117-1123.
- Ratziu V, Bonyhay L, Di Martino V, et al. Survival, liver failure, and hepatocellular carcinoma in obesity-related cryptogenic cirrhosis. *Hepatology* 2002;35:1485-93.
- Requarth JA, Burchard KW, Colacchio TA, et al. Long-term morbidity following jejunoileal bypass: the continuing potential need for surgical reversal. *Arch Surg* 1995;130:318-325.
- Rosenberg WM, Voelker M, Thiel R, et al. Serum markers detect the presence of liver fibrosis: a cohort study. *Gastroenterology* 2004;127:1704-13.
- Sabuncu T, Nazligul Y, Karaoglanoglu M, Ucar E, Kilic FB. The effects of sibutramine and orlistat on the ultrasonographic findings, insulin resistance and liver enzyme levels in obese patients with non-alcoholic steatohepatitis. *Rom J Gastroenterol* 2003;12:189-92.
- Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001;120:1183-1192.
- Schwimmer JB, McGreal N, Deutsch R, Finegold MJ, Lavine JE. Influence of gender, race, and ethnicity on suspected fatty liver in obese adolescents. *Pediatrics* 2005 115:561-5.
- Suzuki A, Angulo P, Lymp J, Li D, Satomura S, Lindor K. Hyaluronic acid, an accurate serum marker for severe hepatic fibrosis in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2005;25:779-86
- Teli MR, James OF, Burt AD, Bennett MK, Day CP. The natural history of nonalcoholic fatty liver: a follow-up study. *Hepatology* 1995;22:1714-9
- Vendemiale G, Grattagliano I, Caraceni P, et al. Mitochondrial oxidative injury and energy metabolism alteration in rat fatty liver: effect of the nutritional status. *Hepatology* 2001;33:808-15
- Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990;12:1106-10.
- Weston S, Charlton MR, Lindor KD. Liver transplantation for nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 1998;114:A1364.

Weston SR, Leyden W, Murphy R, et al. Racial and ethnic distribution of nonalcoholic fatty liver in persons with newly diagnosed chronic liver disease. *Hepatology* 2005;41:372–9.

Younossi ZM, Gramlich T, Bacon BR, et al. Hepatic iron and nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 1999;30:847-850.

Capitolul 26:Boala Wilson

Claus Niederau

Introducere

În anul 1912, Kinneer Wilson a fost primul care a descris o boală ereditară letală asociată cu degenerescența lenticulară progresivă, hepatită cronică și ciroză (Wilson 1912). În același an, Kayser și Fleischer observă că pacienții cu boala Wilson adevărată au depuneri de fier corneene, de culoare brună, numite inelele Kayser-Fleischer (Fleischer 1912).

Boala Wilson este o boală ereditară autozomal recesivă a metabolismului, de aceea gena sa ATP7B codifică un transportor ATP-azic de cupru (Bull 1993; Tanzi 1993; Petrukhin 1993; Yamaguchi 1993). Defectul genetic la nivelul ATP7B determină scăderea excreției biliare a cuprului ducând la acumularea acestuia la nivelul corneei și în diferite organe: ficat, creier, rinichi. De asemenea, alterarea proteinei ATP7B scade incorporarea cuprului în ceruloplasmina, aparând apoceruloplasmina (ceruloplasmina fără cupru incorporat) determină o reducere în circulație a ceruloplasminei prin scăderea timpului de viață a apoproteinei. Din cauza acumulării cuprului în organe, nivelul acestuia și a ceruloplasminei circulante este scăzut la majoritatea pacienților cu boala Wilson.

Prevalența bolii Wilson este rară, estimată la aproximativ 3 din 100 000 de oameni (Fryzman 1990). Tabloul clinic poate varia: anumiți pacienți cu boala Wilson sunt diagnosticați cu probleme hepatice, alții se prezintă cu semne neurologice sau psihiatrice, alții au ambele forme asociate (Figura 1). Pot fi prezente episoade de hemoliză și tulburări renale. Boala Wilson tipică afectează copii și adulții tineri și rar este întâlnită peste vârsta de 40 de ani, fiind letală fără un tratament corespunzător. Medicamentele recomandate în boala Wilson sunt chelatoare de cupru, de exemplu penicilinamina și trientina (Walshe 1956). Recent s-a folosit zincul cu scopul reducerii absorbției intestinale a cuprului și pentru detoxifierea cuprului liber circulant. Pacienții cu hepatită fulminantă sau cu ciroză decompensată pot necesita transplant hepatic concomitent cu tratamentul adecvat pentru boala Wilson.

Prezentarea clinică

Screeningul bolii Wilson este necesar doar în familiile în care există un membru afectat. În alte circumstanțe metodele de diagnosticare se folosesc doar dacă simptomatologia clinică sugerează boala Wilson. Aceasta include: boala hepatică, semne neurologice, afectare renală și episoade de hemoliză. Boala Wilson este diagnosticată frecvent în grupa de vârstă 5-35 de ani, existând puțini pacienți diagnosticați în limita de vârstă 3-5 ani (Kalach 1993; Wilson 2000) sau peste 60 de ani (Gow 2000). Debutul tardiv al bolii Wilson este în general supraestimat (Ferenci 2007). Schema de diagnostic nu se bazează pe un singur test, ci include: identificarea inelelor corneene Kayser-Fleischer, scăderea ceruloplasminei serice, a cuprului seric și determinarea cantitativă a cuprului hepatic (Scheinberg 1952; Walshe 1956; Saito 1987; Stremmel 1991; Roberts 2003) (Figura 2).

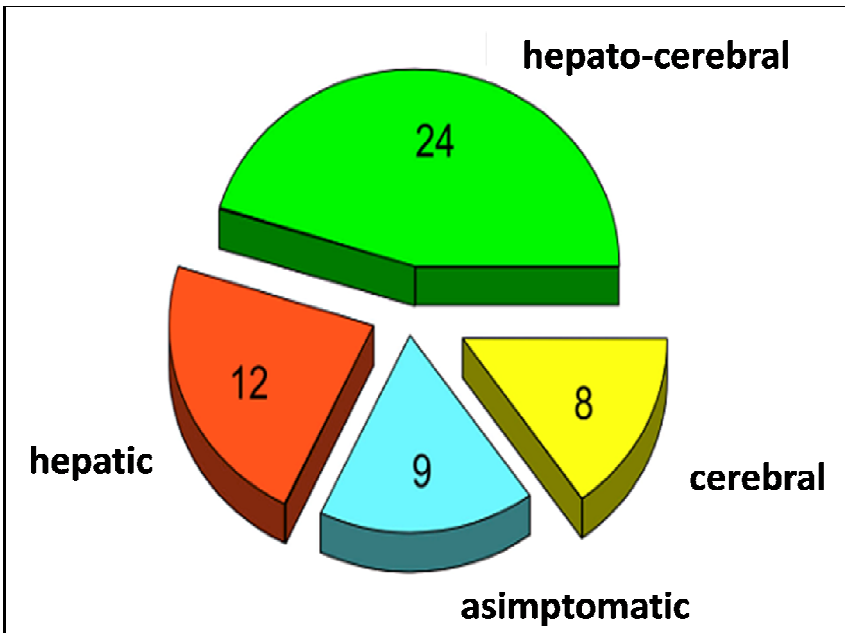


Figura 1. Evolutia clinica la 53 de pacienti cu boala Wilson (modificata de Stremmel 1991).

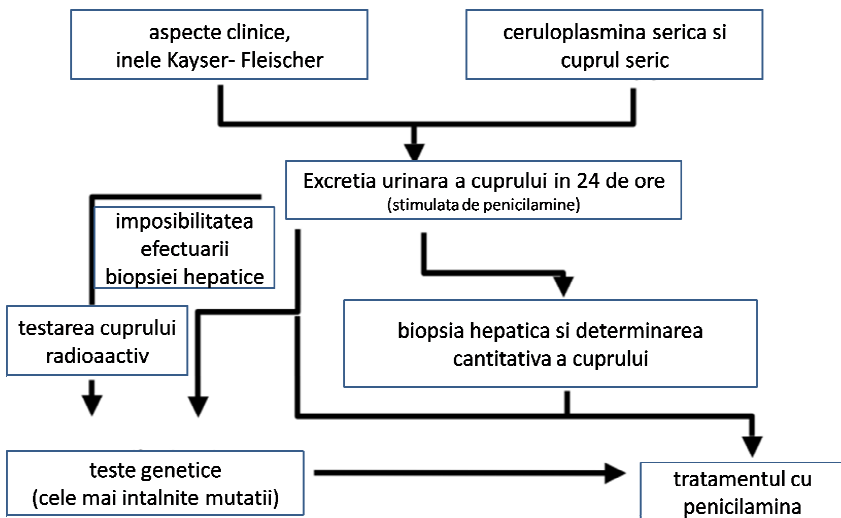


Figura 2. Schema de diagnostic in cazul bolii Wilson.

Testele genetice se folosesc doar in cazul rudelor pacientului cu boala Wilson. Este facila diagnosticarea bolii Wilson la persoanele care prezinta urmatoarele simptome: ciroza hepatica, manifestari neurologice tipice, inele Kayser-Fleischer, varsta intre 5-35 de ani, valori scazute ale ceruloplasminei si ale cuprului seric (Sternlieb 1990). Totusi un numar insemnat de pacienti cu boala Wilson prezinta doar afectare hepatica si multi nu au inele Kayser-Fleischer sau valori scazute ale ceruloplasminei serice (Steindl 1997). In aceste conditii diagnosticul poate fi dificil, determinarea excretiei cuprului in urina din 24 de ore ajuta adesea la sustinerea diagnosticului prezumtiv de boala Wilson, fiind importante pentru sustinerea diagnosticului biopsia hepatica si determinarea cantitativa a cuprului (Stremmel 1991; Roberts 2003).

In general, pacientii cu boala Wilson diagnosticati initial cu boala hepatica sunt copii si adolescenti si sunt mai tineri comparativ cu cei cu afectare primara neurologica (Merle 2007), multi pacienti doar cu simptome neurologice avand varsta cuprinsa intre 20-40 de ani. Pacientii cu boala Wilson au un spectru larg de manifestari hepatice, variind de la formele asimptomatice cu transaminazele crescute, pana la hepatita fulminanta. Transaminazele sunt crescute la majoritatea pacientilor cu boala Wilson, independent de varsta pacientului (Schilsky 1991). Alti pacienti cu boala Wilson pot prezenta semne si simptome specifice hepatitei autoimune, inclusiv anticorpi autoimuni si valori crescute ale IgG (Scott 1978; Milkiewicz 2000). Tabloul clinic poate fi asemanator cu cel din hepatitele virale acute sau cronice, in absenta markerilor virali. Histologia hepatica nu este predictiva sau specifica bolii Wilson, in absenta determinarii concentratiei de cupru. Tabloul histologic poate varia de la modificari hepatice steatozice la afectari severe necro-inflamatorii si fibrotice si in stadiul final la ciroza. Trebuie evaluati pentru diagnosticul bolii Wilson copiii si adolescentii cu hepatita cronica activa de etiologie neprecizata sau cu hepatita autoimuna si adultii cu suspiciune de hepatita autoimuna sau cei care nu raspund la tratamentul imunosupresor (Roberts 2003).

Boala Wilson trebuie evaluata si la pacientii cu hepatita fulminanta de etiologie necunoscuta, in special sub 35 de ani; pacientii care au asemenea tablou clinic prezinta in general o afectiune hepatica asociata cu anemie hemolitica cu test Coombs negativ si cu cresterea severa a timpului de protrombina, fara raspuns la administrarea de vitamina K si cu boala renala progresiva (Rector 1984; Ferlan-Maroult 1999; Roberts 2003) (Sallie 1992). Anumiti pacienti prezinta o valoare a bilirubinei mai mare de 40 mg/dl, in timp ce fosfataza alcalina este normala sau doar putin crescuta (Berman 1991). Spre deosebire de alte tipuri de insuficienta hepatica toxica, cea din boala Wilson nu debuteaza cu valori foarte crescute ale transaminazelor. La multi pacienti cu boala Wilson valoarea AST este mai mare decat cea a ALT (Emre 2001; Berman 1991). In majoritatea studiilor, din motive neelucidate, raportul femeii/barbati este de 2/1 (Roberts 2003). Ceruloplasmina serica poate fi scazuta, in timp ce cuprul seric si excretia urinara a cuprului in 24 de ore au valori crescute. Sunt extrem de importante pentru diagnosticare identificarea de catre oftalmolog a inelelor Kayser-Fleischer. Daca se ridica suspiciunea bolii Wilson, pacientii cu insuficienta hepatica acuta necesita o diagnosticare rapida, necesitand transferul in aceeasi zi la un centru de transplant. Simptomele neurologice din boala Wilson sunt adesea asemanatoare celor din boala Parkinson, inclusiv semnele de tremor si rigor. In momentul debutului multi pacienti

semnaleaza aceste simptome initial corelate problemelor de scris sau dizartriei. Simptomele neurologice pot fi insotite de usoare afectari psihiatrice, incluzand: depresie, anxietate si psihoze. Odata cu progresia afectarii SNC, pacientii cu boala Wilson pot dezvolta crize convulsive si sindrom pseudobulbar cu disfagie severa, sindrom de aspiratie si pneumonie. In cazul pacientilor mai in varsta cu boala Wilson cu simptomatologie neurologica, algoritmul de diagnostic adesea arata o implicare hepatica importanta sau chiar ciroza hepatica.

Afectarea renala in boala Wilson se prezinta clinic cu aminoacidurie si nefrolitiază (Azizi 1989; Nakada 1994; Cu 1996), putand exista si alte complicatii non-neurologice si non-hepatice ale bolii Wilson, de exemplu osteoporoza, artrita, cardiomiopatia, pancreatita, hipoparatiroidism si avort spontan (ca si bibliografie vezi [Roberts 2003]).

Inelele Kayser-Fleischer sunt cauzate de depunerile corneene de cupru (Figura 3). Cateodata se pot vedea ca o banda pigmentata brun, in apropiere de marginea corneei, in timp ce la unii pacienti inelul poate fi identificat doar cu ajutorul oftalmoscopului. Foarte rar inele asemanatoare pot fi observate la pacientii fara boala Wilson, de exemplu la cei cu colestaza neonatala sau cronica (Tauber 1993). In general, inelele Kayser-Fleischer sunt identificate la 50-60% dintre pacientii cu boala Wilson (Tauber 1993; Roberts 200). Multi pacienti tineri cu boala Wilson cu afectare hepatica nu prezinta aceste inele (Giacchino 1997), in timp ce la majoritatea celor cu simptomatologie neurologica inelele se identifica (Steindl 1997). Pacientii cu boala Wilson pot asocia modificari oculare mai putin specifice, inclusiv cataracta "tip floarea soarelui" (Cairns 1963). Inelele Kayser-Fleischer regreseaza frecvent dupa terapia chelatoare sau dupa transplantul hepatic (Stremmel 1991; Schilsky 1994).

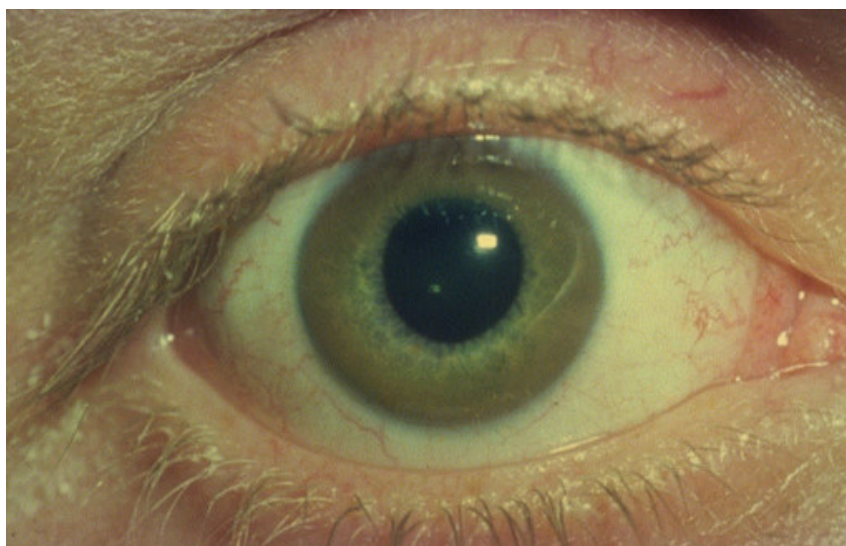


Figura 3. Inelul Kayser-Fleischer la pacient cu boala Wilson.

Diagnostic

Ceruloplasmina serica

Ceruloplasmina, cel mai important transportor de cupru, este sintetizata in principal de catre hepatocite, proteina avand 132 kd si fiind formata din sase atomi de cupru per molecula (holoceruloplasmina), in timp ce partea de proteina necuplata nu transporta cupru (apoceruloplasmina). Ceruloplasmina actioneaza ca reactant de faza acuta si valoarea ei poate creste sub actiunea oricarui proces inflamator, poate, de asemenea, sa creasca in timpul sarcinii sau dupa tratamente cu estrogeni sau contraceptive orale. Trebuie amintit ca valoarea normala a ceruloplasminei serice variaza in functie de varsta: este in mod normal scazuta la copiii pana la varsta de 6 luni, iar la copiii mai mari valoarea poate fi mai mare decat cea determinata la adulti. Asa cum s-a explicat mai inainte, valoarea ceruloplasminei serice scade in cazul bolii Wilson, dar in mod singular aceasta constatare nu este suficienta pentru diagnostic deoarece valori scazute ale ceruloplasminei serice pot fi intalnite si in alte afectiuni decat boala Wilson sau valori crescute pot fi determinate in boala Wilson severa si in insuficienta hepatica. Scaderile nespecifice ale ceruloplasminei sunt frecvent asociate cu deficit de proteine sau boala hepatica in stadiul final. Nutritia parenterala indelungata poate determina scaderea nivelului de ceruloplasmina. Valorile scazute ale ceruloplasminei serice pot fi si o marca a bolii Menkes, o afectiune ereditara, X-linkata, foarte rara, care determina un deficit in transportul cuprului datorita mutatiilor la nivelul ATP7A (Menkes 1999). Foarte rar valoarea ceruloplasminei nu poate fi determinata. Aceruloplasminemia este o afectiune genetica foarte rara determinata de mutatii la nivelul genei ATP7A, pacientii dezvoltand supraincarcare fetica, si nu cuprica (Harris 1998).

Majoritatea pacientilor cu boala Wilson au ceruloplasmina serica mai mica de 20 µg/dl, aceasta avand valoare diagnostica pentru boala Wilson doar cand exista si alte semne ale bolii, ca de exemplu inelul cornean Kayser-Fleischer. Intr-un studiu prospectiv de screening, ceruloplasmina a fost determinata la 2867 de pacienti cu boli hepatice: doar 17 dintre ei au avut valori scazute ale ceruloplasminei si doar unul a fost diagnosticat cu boala Wilson (Cauza 1997), ceruloplasmina scazuta avand valoare predictiva pozitiva la doar 6% dintre cei 2867 de pacienti testati. In doua studii, aproximativ 20% dintre pacientii cu boala Wilson au asociat ceruloplasmina cu valori normale si lipsa inelelor Kayser-Fleischer (Steindl 1997; Gow 2000), totusi majoritatea rapoartelor arata ca mai mult de 90% dintre pacientii cu boala Wilson au o valoare scazuta a ceruloplasminei (Walshe 1989; Lau 1990; Stremmel 1991). Utilizarea ceruloplasminei, ca marker singular al acestei patologii, nu poate diferentia formele homozigote de cele heterozigote.

Cuprul seric

In paralel cu scaderea ceruloplasminei serice, cantitatea totala de cupru seric este scazuta in boala Wilson. La pacientii cu boala Wilson cu insuficienta hepatica fulminanta, cuprul seric poate avea valori normale, chiar daca ceruloplasmina este scazuta. In cazul insuficientei hepatice acute, cuprul circulant poate avea valori

ridicate din cauza eliberării sale masive din hepatocitele distruse. Dacă ceruloplasmina are valori scăzute, o valoare normală sau ridicată a cuprului seric de obicei sugerează existența unei creșteri a cuprului seric liber (nelegat de ceruloplasmina). Concentrația cuprului liber, calculată din valoarea cuprului total sau a ceruloplasminei, a fost propusă ca test în diagnosticarea și monitorizarea pacienților cu boala Wilson și s-a observat că depășește valoarea de 25 μg/dL la majoritatea pacienților tratați (valorile normale sunt 10-15 μg/dL). Cantitatea de cupru asociată cu ceruloplasmina este de 3.15 μg de cupru per mg de ceruloplasmina, deci valoarea cuprului liber este diferența între valoarea cuprului seric total exprimată în μg/dL și concentrația de ceruloplasmina luată de 3 ori, exprimată în mg/dl (Roberts 1998).

Creșteri ale cuprului liber seric, nu sunt specifice bolii Wilson și pot fi întâlnite în toate tipurile de insuficiență hepatică acută și în colestată severă (Gross 1985; Martins 1992). Calcularea concentrației critice de cupru liber este dependentă de metodele de determinare a ceruloplasminei serice și a cuprului total seric și uneori laboratoarele stabilesc ca unul dintre teste este sub o anumită limită, ceea ce face imposibil de calculat cantitatea cuprului liber.

Excreția urinară a cuprului

Majoritatea pacienților cu boala Wilson prezintă o excreție crescută a cuprului peste 100 μg/24 de ore, ceea ce se presupune că reprezintă urmarea creșterii cuprului liber circulant (nelegat de ceruloplasmina). Anumite studii sugerează că aproximativ 20% dintre pacienții cu boala Wilson pot prezenta o excreție a cuprului urinar în 24 de ore între 40-100 μg (Steindl 1997; Giacchino 1997; Gow 2000; Roberts 2003). Totuși, anumite creșteri ale excreției cuprului urinar pot fi întâlnite în boli colestatice severe, hepatite cronice active și autoimune (Frommer 1981). S-a sugerat că excreția urinară a cuprului, stimulată de penicilamina poate fi mai utilă în diagnostic comparativ cu testele fără stimulare. La copii se administrează 500 mg de penicilamina inițială și apoi la 12 ore, în același timp se colectează urina pe 24 ore. Toți copiii cu boala Wilson examinați au avut valori ale cuprului mai mari de 1600 μg/24 ore, și la toți pacienții diagnosticați cu alte boli hepatice, inclusiv hepatită autoimună și colestatică s-au determinat valori mai mici. Nu este sigur dacă acest test are o putere discriminativă la fel de importantă și la adulții cu diferite afecțiuni (Tu 1967; Frommer 1981).

Concentrația cuprului hepatic

Cantitatea de cupru hepatic este mai mare de 250 μg/g de țesut hepatic și reprezintă standardul de aur în diagnosticarea bolii Wilson, nefiind întâlnită la heterozigoti și la pacienți cu alte afectări hepatice, cu excepția copiilor indieni cu ciroză (Martins 1992). Biopsiile (mai mari decât 1 cm) în vederea determinării cuprului hepatic trebuie realizate cu ajutorul unei seringi Tru-Cut, dispusă într-un recipient pe gheață fără cupru (Song 2000; Roberts 2003).

Cuprul radioactiv

La pacienții cu boala Wilson, incorporarea cuprului radioactiv în ceruloplasmina este foarte scăzută. Acest test este folosit foarte rar din cauza dificultății în obținerea izotopului și din cauza restricțiilor legale.

Aspecte ale biopsiei hepatice

Semnele histologice variază de la steatoza și necroza hepatocelulară, la aspecte hepatice caracteristice hepatitei autoimune cu fibroză și ciroză. Pacienții diagnosticați la vârste tinere au boala hepatică extinsă; pacienții mai în vârstă care se prezintă cu simptome neurologice, frecvent prezintă și afecțiuni hepatice, descoperite pe baza biopsiei (Stremmel 1991; Steindl 1997; Merle 2007). Determinarea cuprului în hepatocite prin folosirea metodelor histochemice de rutină, de exemplu cu ajutorul colorației cu rodamina, nu permit diagnosticarea bolii Wilson (Geller 2000) (Figura 4).

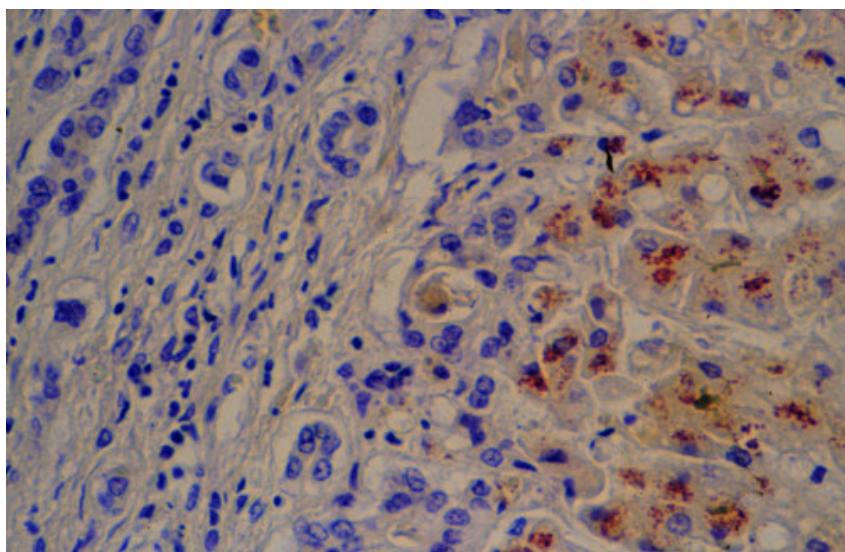


Figura 4. Histologia hepatică (colorația cu rodamina) la un pacient cu boala Wilson.

Aspecte neurologice și RMN, în cazul sindroamelor cerebrale

Simptomele neurologice la pacienții cu boala Wilson sunt asemănătoare celor din Parkinson, de exemplu rigiditatea, tremorul și dizartria. Majoritatea pacienților pot prezenta spasme musculare, contractura, disfonie și disfagie. La pacienții cu semne neurologice importante, rezonanța magnetică adesea identifică modificări la nivelul ganglionilor bazali, de exemplu hiperdensitate în T2 (Aisen 1995; van

Wassanaer1996). RMN-ul este superior CT-ului in investigarea SNC si in diagnosticarea bolii Wilson.

Studiile genetice

Analiza mutatiilor genetice la pacientii cu boala Wilson este limitata datorita faptului ca mai mult de 200 mutatii ATP7B au fost descrise pana in prezent (vezi www.medgen.med.ualberta.ca/database.html). In momentul cunoasterii mutatiei la un anumit pacient, analiza genetica poate fi utila screeningului familial sau pentru analize prenatale (Thomas 1995; Shab 1997; Loudianos 1994). La anumite populatii din estul Europei, se observa predominanta mutatiei H1069QS (ca bibliografie Roberts 2003).

Tratament

Inainte de anul 1948, toti pacientii cu boala Wilson au murit la scurt timp dupa diagnosticare. In anul 1948, administrarea intramusculara a chelatorului de cupru, BAL (dimercaprol) a fost recomandata ca prima linie terapeutică in cazul pacientilor cu boala Wilson (Cumming 1951; Denny-Brown 1951), urmata de administrarea de chelatori cu administrare orala, penicilamina (1955), trientina (1969) si tetratiomolibdat (1984). Alte modalitati de tratament sunt: administrarea orala de saruri de zinc (1961) si transplantul hepatic (1982). In prezent, majoritatea pacientilor cu boala Wilson urmeaza un tratament pe viata, compus dintr-un chelator de cupru si/sau o sare de zinc (Figura 5). Transplantul hepatic este indicat in cazul insuficientei hepatice fulminante si a decompensarii ireversibile a cirozei hepatice. Pacientii cu transplant hepatic reusit nu mai necesita tratament pentru boala Wilson deoarece acesta elimina dezechilibrele biochimice. In prezent, in cazul pacientilor simptomatici majoritatea medicilor recomanda chelatori orali la initierea terapiei, multi incep cu penicilamina, in timp ce altii prefera trientina. Amandoua medicamentele sunt probabil la fel de eficiente, dar la trientina se observa mai putine efecte secundare. La pacientii cu afectiuni neurologice severe anumiti autori recomanda tetratiomolibdatul ca terapie de initiere. Terapia combinata cu chelatori si saruri de zinc poate avea efecte aditionale, actionand amandoua asupra excretiei urinare a cuprului si asupra absorbtiei intestinale. Dupa indepartarea majoritatii cuprului acumulat si a regresiei semnelor clinice severe, doza de chelatori poate fi redusa si treptat inlocuita cu administrarea de zinc. Pacientii asimptomatici pot fi tratati de la inceput cu doze scazute de chelatori sau o sare de zinc. La pacientii necomplianti, s-a aratat ca in mod frecvent apar recurente ale simptomelor bolii si, de asemenea, poate sa se instaleze insuficienta hepatica fulminanta cu necesitatea transplantului hepatic sau moartea.

<p>Penicilamina(600-800mg/zi) In cazul intolerantei la penicilamina</p> <p>Trientine(900-2400mg/zi) In cazul terapiei combinate sau de intretinere</p> <p>Acetat/sulfat de zinc In cazul afectarii neurologice-neaprobat inca</p> <p>Tetratiomolibdat In insuficienta hepatica acuta/ciroza decompensata</p> <p>Transplantul hepatic Restrictie in administrarea mancarii cu concentratie crescuta de cupru</p> <p>(nu substituie terapia cu chelatori sau zinc!)</p>

Figura 5. Optiunile terapeutice in cazul bolii Wilson.

Penicilamina. Penicilamina a fost primul chelator oral care s-a dovedit a fi eficient in boala Wilson (Walshe 1955). Biodisponibilitatea orala a penicilaminei este intre 40-70% (Bergstrom 1981). Multe studii au aratat ca penicilamina scade acumularea de cupru si determina beneficii clinice la pacientii cu boala Wilson (Walshe 1973; Grand 1975; Sternlieb 1980). Semnele bolii hepatice adesea regreseaza in timpul primelor 6 luni de tratament. Necomplianta la tratament determina progresia bolii hepatice, insuficienta hepatica, moarte si transplant hepatic (Scheinberg 1987). Semnele si simptomele neurologice pot sa se accentueze la inceputul tratamentului cu penicilamina. Este controversata frecventa de aparitie a acestor determinari neurologice si reversibilitatea lor, stiut fiind faptul ca procentul de agravare a simptomatologiei neurologice variaza intre 10-50% in diferite cohorte de pacienti (Brewer1987; Walshe 1993), unii autori nerecomandand terapia cu penicilamina la pacientii cu boala Wilson cu simptomatologie neurologica (Brewer 2006). Penicilamina se asociaza cu multe efecte secundare ceea ce va determina intreruperea tratamentului la mai mult de 30% dintre pacienti (Roberts 2003). O reactie de sensibilizare apare in primele 3 saptamani si include febra, exantem cutanat, limfadenopatia, neutropenia, trombocitopenie si proteinurie. In aceasta etapa, penicilamina ar trebui inlocuita cu trientina. Nefrotoxicitatea este un efect secundar des intalnit in urma administrarii penicilaminei, care apare mai tarziu si include proteinurie si afectare tubulara. In aceasta situatie administrarea penicilaminei trebuie intrerupta imediat. Penicilamina poate determina un sindrom lupus like care include hematurie, proteinurie, anticorpi antinucleari pozitivi si sindromul Goodpasture. Mai putin frecvente sunt efectele secundare ale

medicamentului asupra maduvei osoase rezultand trombocitopenie si aplazie totala si efectele secundare dermatologice: colagenoza perforanta, leziuni pemfigoide, lichen plan si stomatita aftoasa. Alte reactii adverse sunt: miastenia gravis, polimiozita, pierderea gustului, scaderea IgA, retinita seroasa.

Administrarea penicilaminei, in vederea scaderii efectelor sale secundare, trebuie initiata cu doze mici de 250 mg pe zi, se poate creste cu 250 mg in fiecare saptamana pana la doza maxima de 1000-1500 mg repartizata in 2-4 prize pe zi (Roberts 2003). Doza de intretinere variaza intre 750-1000mg/zi administrata de doua ori pe zi. La copii doza este de 20mg/kg/zi divizata in 2-3 prize. Penicilamina trebuie administrata cu 1 ora sau 2 ore dupa masa deoarece mancarea poate sa-i inhibe adsorbtia. Dupa initierea terapiei cu penicilamina, la inceput ceruloplasmina serica poate sa scada. Eficienta terapeutica se determina prin masurarea cuprului urinar in 24 de ore, care ar trebui sa se incadreze intre 200-500 μ g/zi. In cadrul terapiei cu penicilamine, pe termen lung, ceruloplasmina ar trebui sa creasca si cuprul liber sa scada pana la atingerea valorii normale (Roberts 2003).

Trientina (triena). Structura chimica a chelatorului de cupru, trientina (trietil tetraaminodihidroclorid, denumirea scurta triena) difera de penicilamina. Trientina a fost recomandata in general ca alternativa sau substituent al penicilaminei, mai ales cand reactiile adverse ale penicilaminei nu au fost tolerate (Walshe 1982). Trienele rar determina efecte secundare. Tratamentul pe termen lung cu trientine poate determina acumulare hepatica de fier la persoanele cu boala Wilson. Trientina are adsorbtie scazuta din tractul gastro-intestinal si doar 1% se excreta prin urina (Walshe 1982). Dozele variaza intre 750-1500mg/zi, divizate in 2-3 prize, terapia de mentinere se realizeaza cu 750 sau 1000 mg (Roberts 2003). La copii se recomanda doza de 20 mg/kg/zi. Asemnator cu penicilamina, trientina ar trebui administrata cu 1-2 ore dupa masa. Eficienta acestui medicament se masoara la fel ca la penicilamina. Trientina actioneaza asupra unor metale cum ar fi cuprul, zincul si fierul, determinand eliminarea lor urinara si indepartarea eficienta a cuprului stocat la nivelul numeroaselor organe la persoanele cu boala Wilson si la cei cu afectare hepatica grava (Walshe 1979; Scheinberg 1987; Santos 1996; Saito 1991). Este inca neclar daca penicilamina este un chelator de cupru mai eficient comparativ cu triena, probabil diferenta in ceea ce priveste eficienta fiind mica (Walshe 1973; Sarkar 1977). Regresia bolii neurologice poate fi observata dupa initierea terapiei cu trientine, dar este mai putin grava decat in cazul penicilaminei.

Zincul. Majoritatea doctorilor substituie penicilamina sau triena cu zinc in cazul terapiei de intretinere, in momentul in care majoritatea cuprului acumulat a fost indepartat. Zincul poate fi administrat ca terapie de initiere la pacientii asimptomatici, diagnosticati in urma screeningului familial, dar o comunicare recenta arata ca simptomele clinice ale bolii Wilson pot apare in ciuda terapiei profilactice cu zinc (Mishra 2008). Intr-un studiu recent in India, 45 de pacienti cu boala Wilson au fost tratati cu penicilamina si sulfat de zinc. Majoritatea pacientilor (84%) au avut manifestari neuropsihice. Durata medie de tratament cu penicilamina si zinc a fost de 107 luni, dupa care s-a intrerupt tratamentul cu penicilamina. Pacientii au primit doar sulfat de zinc pe o perioada de 27 de luni, si 44 din cei 45 de pacienti (98%) au ramas stabili din punct de vedere clinic. Doar un singur pacient a

raportat accentuarea disartriei (Sinha 2008). Zincul nu actioneaza ca si chelator de fier dar inhiba absorbtia cuprului la nivel intestinal si s-a sugerat ca leaga cuprul liber toxic (Brewer 1983; Schilksky 1989; Hill 1987). Zincul are rar efecte secundare. Este inca neclar daca zincul reprezinta un agent care sa scada cuprul eficient in cazul pacientilor simptomatici. Se sugereaza faptul ca acumularea hepatica a cuprului apare chiar daca s-a administrat tratamentul cu zinc, existand rapoarte despre deteriorarea hepatica cu evolutie letala (Lang 1993; Walshe 1995), de aceea anumiti autori folosesc zincul in combinatie cu un chelator. Regresia neurologica este mai degraba rara in cazul tratamentului cu zinc (Brewer 1987; Czlonkowska 1996). Dozele recomandate de zinc difera in literatura: dupa ghidul AASLD dozajul se face in miligrame de zinc (Roberts 2003). Pentru copii mai mari si pentru adulti se recomanda 150mg/zi, divizat in 3 prize. Complianta fata de aceasta administrare poate ridica probleme; zincul trebuie administrat cel putin de doua ori pe zi pentru a fi eficient (Brewer 1998). Alti autori recomanda folosirea sulfatului de zinc cu doza de incarcare de 150 mg/zi, de trei ori pe zi, ulterior doza de intretinere fiind de 100 mg divizat in trei prize, apoi s-a sugerat administrarea de 50 mg de acetat de zinc de trei ori pe zi la adulti. Tipul de sare de zinc folosita, se crede ca influenteaza eficienta (Roberts 2003), iar acetatul de zinc determina cel putin disconfort gastrointestinal. Cand zincul se combina cu un chelator, medicamentele trebuiesc administrate la intervale largi de timp, aparand astfel probleme de complianta. Eficienta tratamentului cu zinc este asemanatoare celei descrisa la penicilamina si zinc (Roberts 2003).

Tetratiomolibdat. Este un chelator de cupru experimental neaprobat de FDA sau EMEA. S-a sugerat a fi folosit ca tratament de initiere la pacientii cu boala Wilson cu implicare neurologica. Rapoartele preliminare arata ca tetratiomolibdatul stabilizeaza boala neurologica si scade cuprul liber circulant in cateva saptamani (Brewer 1994; Brewer 1996). Recent un studiu randomizat sustine cele mentionate mai sus si, de asemenea, sugereaza ca monoterapia cu zinc este insuficienta in tratarea simptomelor neurologice din cadrul bolii Wilson (Brewer 2006).

Vitamina E, alti antioxidanti si dieta. Datorita concentratiei serice si hepatice reduse a vitaminei E la pacientii cu boala Wilson (von Herbay 1994; Sokol 1994) s-a sugerat suplimentarea ei prin aport extern. Anumiti autori recomanda administrarea si de alti antioxidanti, studiile nu au demonstrat inca eficienta lor.

Pacientii cu boala Wilson ar trebui sa evite mancarurile bogate in cupru (nucile, ciocolata, crustaceele, ciuperci, organe). Pacientii care locuiesc in imobile vechi trebuie sa verifice daca apa curge prin tevi de cupru. Regimul alimentar si restrictiile in modul de viata nu inlocuiesc terapia cu zinc si chelatori (Roberts 2003).

Insuficienta hepatica fulminanta si transplantul hepatic. Majoritatea pacientilor cu boala Wilson cu insuficienta hepatica fulminanta necesita pentru supravietuire transplant hepatic de urgenta (Sokol 1985; Roberts 2003). Intr-un studiu de lunga durata doar doi pacienti au decedat inainte ca transplantul hepatic sa fie posibil de efectuat (Stremmel 1991). Realizarea unui scor prognostic ajuta in luarea deciziei

terapeutice, acesta incluzand urmatoarele determinari: bilirubina, AST si INR (Nazer 1986).

Pacientii cu boala Wilson, cu ciroza cronica decompensata urmeaza aceleasi reguli cu privire la transplantul hepatic. Dezechilibrele metabolice si ale cuprului revin la normal dupa transplantul hepatic (Groth 1973). Prognosticul pacientilor transplantati hepatic cu boala Wilson este foarte bun, mai ales dupa primul an de supravietuire (Eghtesad 1999). Nu este pe deplin elucidat rolul transplantului hepatic la pacientii cu boala Wilson, cu complicatii neurologice care nu raspund la tratament. La anumiti pacienti simptomele neurologice regreseaza dupa transplantul hepatic, iar la altii acest lucru nu se intampla (pentru detalii vezi bibliografia [Brewer 2000]).

Pacientii asimptomatici. Toti pacientii asimptomatici cu boala Wilson- de obicei identificati in urma screeningului familial- necesita tratament cu chelatori sau zinc pentru a preveni complicatiile care le pun in pericol viata (Walshe 1988; Brewer 1989; Roberts 2003). Nu este inca bine stabilit daca tratamentul ar trebui initiat si la copiii sub varsta de 3 ani.

Terapia de intretinere. Dupa ce s-a eliminat excesul de cupru, anumite centre inlocuiesc terapia cu chelatori cu un tratament de intretinere, bazat pe zinc. Nu este sigur cand este momentul optim pentru aceasta schimbare terapeutica si daca mai eficienta este reducerea dozei de chelatori sau inlocuirea lor cu zinc. Se accepta in unanimitate ca aceasta schimbare sa se realizeze dupa ce pacientul este stabil vreme de cativa ani, dupa ce are valori normale ale transaminazelor si ale functiei hepatice, o concentratie normala a cuprului liber si clearance urinar al cuprului in 24 de ore de 200-500 µg in timpul tratamentului cu chelatori (Roberts 2003). Tratamentul pe termen lung cu zinc poate sa se asocieze cu febra. Multi pacienti tratati cu trientina nu au efecte secundare semnificative, iar acesti autori cred ca nu este necesara inlocuirea trientinei cu zinc. In orice caz terapia, fie cu chelatori, fie cu zinc trebuie mentinuta, orice intrerupere putand determina insuficienta hepatica letala (Walshe 1986; Scheinberg 1987).

Sarcina. Tratamentul trebuie mentinut si in timpul sarcinii deoarece o intrerupere determina riscul aparitiei unei insuficiente hepatice fulminante (Shimono 1991). Terapia de intretinere cu chelatori (penicilamina, trientina) sau cea cu zinc determina de obicei rezultate bune atat pentru mama, cat si pentru copil, desi afectiunile congenitale au fost (rar) documentate [pentru detalii vezi bibliografia [Sternlieb 2000]]. Se recomanda ca doza ambilor chelatori sa fie redusa, daca este posibil cu aproximativ 50%, in special in ultimul trimestru pentru a evita posibilele problemele de vindecare a ranilor (Roberts 2003). Zincul nu necesita reducerea dozelor.

Monitorizarea tratamentului

In timpul tratamentului de initiere, monitorizarea trebuie facuta cu atentie la toti pacientii cu boala Wilson pentru ai determina eficienta si efectele secundare (Figura

6). In timpul tratamentului de intretinere pacientii trebuie controlati cel putin de doua ori pe an.

- **Afectarea clinica (determinari neurologice, boala hepatica, determinari hematologice)**
- **Regresia inelului Kayser-Fleischer**
- **Cuprul liber circulant <10 µg/dl**
- **Excretia urinara a cuprului in 24 de ore (200-500 ug/zi, in timpul tratamentului cu chelatori)**
- **Scaderea cantitatii hepatice de cupru**

Figura 6. Monitorizarea eficientei tratamentului la pacientii cu boala Wilson.

Examinarile clinice includ pe cele de neurologie, oftalmologie si psihiatrie (Figura 7). Pacientii cu afectare hepatica au nevoie de o examinare atenta pentru depistarea semnelor de insuficienta hepatica.

Testele de laborator determina cuprul seric, ceruloplasmina, calcularea cuprului liber (nelegat de ceruloplasmina) (vezi mai sus), excretia urinara de cupru in 24 de ore (Roberts 2003), care in timpul terapiei chelatoare, trebuie sa varieze intre 200-500µg de cupru; asemenea valoare poate sugera ca pacientul este aderent la terapie. Dupa eliminarea cuprului acumulat, excretia urinara a acestuia poate fi mai scazuta. Prognosticul bolii Wilson este direct proportional cu severitatea bolii initiale si apoi cu aderenta pe termen lung la tratament. Pacientii tratati inaintea instalarii complicatilor potential ireversibile neurologice sau hepatice, au un prognostic bun si o speranta de viata normala (Figura 8). Boala hepatica adesea ireversibila poate fi tratata cu succes cu ajutorul transplantului hepatic, in timp ce anumiti pacienti cu boala severa neurologica nu evolueaza mai bine in ciuda tratamentului.

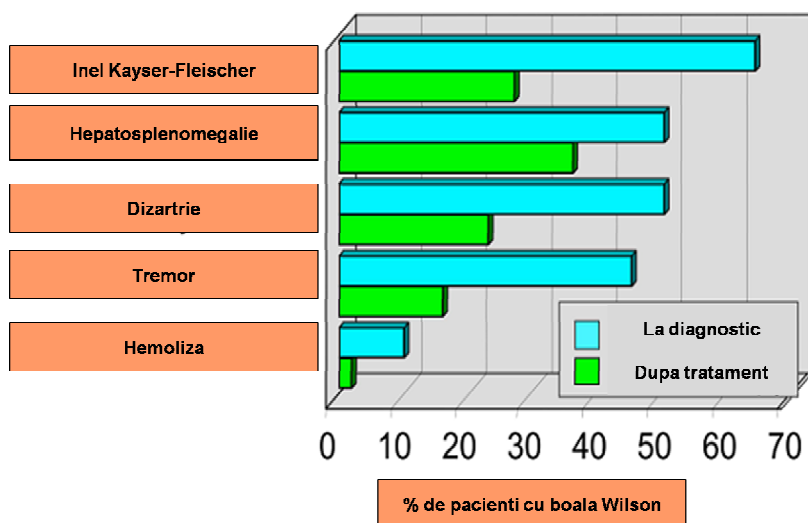


Figura 7. Determinari inainte si dupa initierea terapiei chelatoare in cazul a 53 de pacienti cu boala Wilson (modificat de Stremmel 1991).

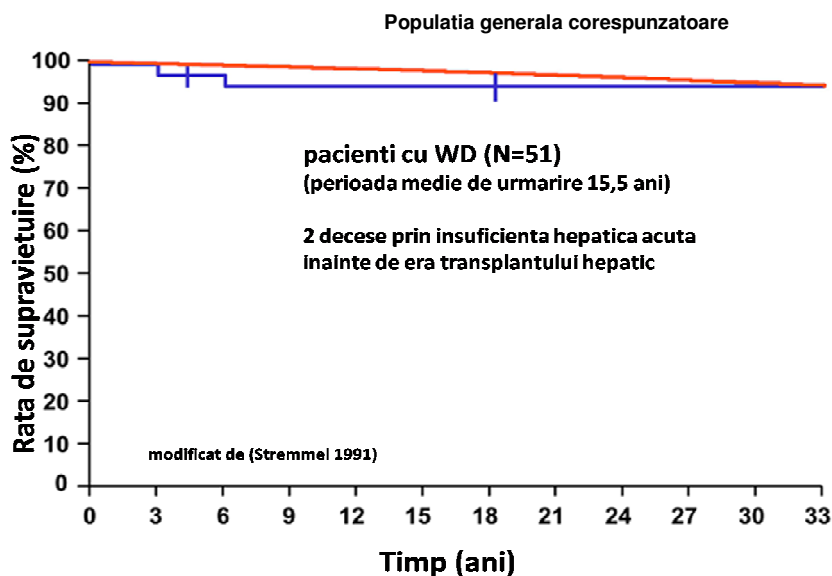


Figura 8. Rata de supravietuire cumulata in cazul a 51 de pacienti cu boala Wilson versus rata de supravietuire a populatiei generale (modificat de Stremmel 1991).

Referinte

- Aisen AM, Martel W, Gabrielsen TO, et al. Wilson disease of the brain: MR imaging. *Radiology* 1985;157:137-141.
- Azizi E, Eshel G, Aladjem M. Hypercalciuria and nephrolithiasis as a presenting sign in Wilson disease. *Eur J Pediatr* 1989;148:548-549.
- Bergstrom RF, Kay DR, Harkcom TM, Wagner JG. Penicillamine kinetics in normal subjects. *Clin Pharmacol Ther* 1981;30:404-413.
- Berman DH, Leventhal RI, Gavaler JS, Cadoff EM, Van Thiel DH. Clinical differentiation of fulminant Wilsonian hepatitis from other causes of hepatic failure. *Gastroenterology* 1991;100:1129-1134.
- Brewer GJ, Hill GM, Prasad AS, Cossack ZT, Rabbani P. Oral zinc therapy for Wilson's disease. *Ann Intern Med* 1983;99:314-319.
- Brewer GJ, Terry CA, Aisen AM, Hill GM. Worsening of neurologic syndrome in patients with Wilson's disease with initial penicillamine therapy. *Arch Neurol* 1987;44:490-493.
- Brewer GJ, Yuzbasiyan-Gurkan V, Young AB. Treatment of Wilson's disease. *Semin Neurol* 1987;7:209-220.
- Brewer GJ, Yuzbasiyan-Gurkan V, Lee DY, Appelman H. Treatment of Wilson's disease with zinc. VI. Initial treatment studies. *J Lab Clin Med* 1989;114:633-638.
- Brewer GJ, Dick RD, Johnson V, et al. Treatment of Wilson's disease with ammonium tetrathiomolybdate. I. Initial therapy in 17 neurologically affected patients. *Arch Neurol* 1994;51:545-554.
- Brewer GJ, Johnson V, Dick RD, Kluin KJ, Fink JK, Brunberg JA. Treatment of Wilson disease with ammonium tetrathiomolybdate. II. Initial therapy in 33 neurologically affected patients and follow-up with zinc therapy. *Arch Neurol* 1996;53:1017-1025.
- Brewer GJ, Dick RD, Johnson VD, Brunberg JA, Kluin KJ, Fink JK. Treatment of Wilson's disease with zinc: XV long-term follow-up studies. *J Lab Clin Med* 1998;132:264-278.
- Brewer GJ, Askari F. Transplant livers in Wilson's disease for hepatic, not neurologic, indications. *Liver Transpl* 2000;6:662-664.
- Brewer GJ, Askari F, Lorincz MT, et al. Treatment of Wilson disease with ammonium tetrathiomolybdate. IV. Comparison of tetrathiomolybdate and trientine in a double-blind study of treatment of the neurologic presentation of Wilson disease. *Arch Neurol* 2006;63:521-527.
- Bull PC, Thomas GR, Rommens JM, Forbes JR, Cox DW. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATPase similar to the Menkes gene. *Nat Genet* 1993;5:327-337.
- Cairns JE, Williams HP, Walshe JM. "Sunflower cataract" in Wilson's disease. *Br Med J* 1969;3:95-96.
- Cauza E, Maier-Dobersberger T, Polli C, Kaserer K, Kramer L, Ferenci P. Screening for Wilson's disease in patients with liver diseases by serum ceruloplasmin. *J Hepatol* 1997;27:358-362.
- Chu CC, Huang CC, Chu NS. Recurrent hypokalemic muscle weakness as an initial manifestation of Wilson's disease. *Nephron* 1996;73:477-479.
- Cummings JN. The effect of BAL in hepatolenticular degeneration. *Brain* 1951;74:10-22.
- Czlonkowska A, Gajda J, Rodo M. Effects of long-term treatment in Wilson's disease with D-penicillamine and zinc sulphate. *J Neurol* 1996; 243:269-273.
- Denny-Brown D, Porter H. The effect of BAL (2,3 dimercaptopropanol) on hepatolenticular degeneration (Wilson's disease). *N Engl J Med* 1951;245:917-925.

- Eghtesad B, Nezakatgoo N, Geraci LC, et al. Liver transplantation for Wilson's disease: a single-center experience. *Liver Transpl Surg* 1999;5:467-474.
- Emre S, Atillasoy EO, Ozdemir S, et al. Orthotopic liver transplantation for Wilson's disease: a single-center experience. *Transplantation* 2001;72:1232-1236.
- Ferenci P, Czlonkowska A, Merle U, et al. Late-onset Wilson's disease. *Gastroenterology* 2007;132:1294-1298.
- Ferlan-Marolt V, Stepec S. Fulminant Wilsonian hepatitis unmasked by disease progression: report of a case and review of the literature. *Dig Dis Sci* 1999;44:1054-1058.
- Fleischer B. Ueber einer der "Pseudosklerose" nahestehende bisher unbekannte Krankheit (gekennzeichnet durch Tremor, psychische Störungen, braeunliche Pigmentierung bestimmter Gewebe, insbesondere der Hornhautperipherie, Lebercirrhose). *Deutsch Z Nerven Heilk* 1912;44:179-201.
- Frommer DJ. Urinary copper excretion and hepatic copper concentrations in liver disease. *Digestion* 1981;21:169-178.
- Frydman M. Genetic aspects of Wilson's disease. *J Gastroenterol Hepatol* 1990;5:483-490.
- Geller SA, Petrovic LM, Batts KB, et al. Histopathology of end-stage Wilson disease. *Mod Pathol* 2000; 13:184A.
- Giacchino R, Marazzi MG, Barabino A, et al. Syndromic variability of Wilson's disease in children. Clinical study of 44 cases. *Ital J Gastroenterol Hepatol* 1997;29:155-161.
- Grand RJ, Vawter GF. Juvenile Wilson disease: histologic and functional studies during penicillamine therapy. *J Pediatr* 1975;87:1161-1170.
- Gross JB, Jr., Ludwig J, Wiesner RH, McCall JT, LaRusso NF. Abnormalities in tests of copper metabolism in primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 1985;89:272-278.
- Groth CG, Dubois RS, Corman J, et al. Metabolic effects of hepatic replacement in Wilson's disease. *Transplant Proc* 1973;5:829-833.
- Gow PJ, Smallwood RA, Angus PW, Smith AL, Wall AJ, Sewell RB. Diagnosis of Wilson's disease: an experience over three decades. *Gut* 2000;46:415-419.
- Harris ZL, Klomp LW, Gitlin JD. Aceruloplasminemia: an inherited neurodegenerative disease with impairment of iron homeostasis. *Am J Clin Nutr* 1998;67:972S-977S.
- Hill GM, Brewer GJ, Prasad AS, Hydrick CR, Hartmann DE. Treatment of Wilson's disease with zinc. I. Oral zinc therapy regimens. *Hepatology* 1987;7:522-528.
- Kalach N, Seidman EG, Morin C, et al. Acute liver failure from Wilson's disease in a five year-old child. *Can J Gastroenterol* 1993;7:610-612.
- Lang CJ, Rabas-Kolominsky P, Engelhardt A, Kobras G, Konig HJ. Fatal deterioration of Wilson's disease after institution of oral zinc therapy. *Arch Neurol* 1993;50:1007-1008.
- Lau JY, Lai CL, Wu PC, Pan HY, Lin HJ, Todd D. Wilson's disease: 35 years' experience. *Q J Med* 1990;75:597-605.
- Loudianos G, Figus AL, Loi A, et al. Improvement of prenatal diagnosis of Wilson disease using microsatellite markers. *Prenat Diagn* 1994;14:999-1002.
- Martins da Costa C, Baldwin D, Portmann B, Lolin Y, Mowat AP, Mieli-Vergani G. Value of urinary copper excretion after penicillamine challenge in the diagnosis of Wilson's disease. *Hepatology* 1992;15: 609-615.
- Menkes JH. Menkes disease and Wilson disease: two sides of the same copper coin. Part I: Menkes disease. *Europ J Paediatr Neurol* 1999;3: 147-158.
- Merle U, Schaefer M, Ferenci P, Stremmel W. Clinical presentation, diagnosis and long-term outcome of Wilson's disease: a cohort study. *Gut* 2007;56:115-120.

- Milkiewicz P, Saksena S, Hubscher SG, Elias E. Wilson's disease with superimposed autoimmune features: report of two cases and review. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15:570-574.
- Mishra D, Kalra V, Seth R. Failure of prophylactic zinc in Wilson disease. *Indian Pediatr* 2008;45:151-153
- Nakada SY, Brown MR, Rabinowitz R. Wilson's disease presenting as symptomatic urolithiasis: a case report and review of the literature. *J Urol* 1994;152:978-979.
- Nazer H, Ede RJ, Mowat AP, Williams R. Wilson's disease: clinical presentation and use of prognostic index. *Gut* 1986;27:1377-1381.
- Petrukhin K, Fischer SG, Pirastu M, et al. Mapping, cloning and genetic characterization of the region containing the Wilson disease gene. *Nat Genet* 1993;5:338-343.
- Rector WG, Uchida T, Kanel GC, Redeker AG, Reynolds TB. Fulminant hepatic and renal failure complicating Wilson's disease. *Liver* 1984;4:341-347.
- Roberts EA, Cox DW. Wilson disease. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1998;12:237-256.
- Roberts EA, Schilsky ML. A Practice Guideline on Wilson Disease. *Hepatology* 2003;37:1475-92.
- Saito T. Presenting symptoms and natural history of Wilson disease. *Eur J Pediatr* 1987;146:261-265.
- Saito H, Watanabe K, Sahara M, Mochizuki R, Edo K, Ohyama Y. Triethylene-tetramine (trien) therapy for Wilson's disease. *Tohoku J Exp Med* 1991;164:29-35.
- Sallie R, Katsiyiannakis L, Baldwin D, et al. Failure of simple biochemical indexes to reliably differentiate fulminant Wilson's disease from other causes of fulminant liver failure. *Hepatology* 1992;16:1206-1211.
- Santos Silva EE, Sarles J, Buts JP, Sokal EM. Successful medical treatment of severely decompensated Wilson disease. *J Pediatr* 1996;128:285-287.
- Sarkar B, Sass-Kortsak A, Clarke R, Laurie SH, Wei P. A comparative study of in vitro and in vivo interaction of D-penicillamine and triethylene-tetramine with copper. *Proc R Soc Med* 1977;70:13-18.
- Scheinberg IH, Gitlin D. Deficiency of ceruloplasmin in patients with hepatolenticular degeneration (Wilson's disease). *Science* 1952;116:484-485.
- Scheinberg IH, Jaffe ME, Sternlieb I. The use of trientine in preventing the effects of interrupting penicillamine therapy in Wilson's disease. *N Engl J Med* 1987;317:209-213.
- Schilsky M, Blank RR, Czaja MJ, Scheinberg IH, Stockert RJ, Sternlieb I. Hepatocellular copper toxicity and its attenuation by zinc. *J Clin Invest* 1989;84:1562-1568.
- Schilsky ML, Scheinberg IH, Sternlieb I. Prognosis of Wilsonian chronic active hepatitis. *Gastroenterology* 1991;100:762-767.
- Schilsky ML, Scheinberg IH, Sternlieb I. Liver transplantation for Wilson's disease: indications and outcome. *Hepatology* 1994;19:583-587.
- Scott J, Gollan JL, Samourian S, Sherlock S. Wilson's disease, presenting as chronic active hepatitis. *Gastroenterology* 1978;74:645-651.
- Shah AB, Chernov I, Zhang HT, et al. Identification and analysis of mutations in the Wilson disease gene (ATP7B): population frequencies, genotype-phenotype correlation, and functional analyses. *Am J Hum Genet* 1997;61:317-328.
- Shimono N, Ishibashi H, Ikematsu H, et al. Fulminant hepatic failure during perinatal period in a pregnant woman with Wilson's disease. *Gastroenterol Jpn* 1991;26:69-73.
- Sinha S, Taly AB. Withdrawal of penicillamine from zinc sulphate-penicillamine maintenance therapy in Wilson's disease: promising, safe and cheap. *J Neurol Sci* 2008;264:129-132

- Sokol RJ, Francis PD, Gold SH, Ford DM, Lum GM, Ambruso DR. Orthotopic liver transplantation for acute fulminant Wilson disease. *J Pediatr* 1985;107:549-552.
- Sokol RJ, Twedt D, McKim JM, et al. Oxidant injury to hepatic mitochondria in patients with Wilson's disease and Bedlington terriers with copper toxicosis. *Gastroenterology* 1994;107:1788-1798.
- Song YM, Chen MD. A single determination of liver copper concentration may misdiagnose Wilson's disease. *Clin Biochem* 2000;33:589-590.
- Steindl P, Ferenci P, Dienes HP, Grimm G, Pabinger I, Madl C, et al. Wilson's disease in patients presenting with liver disease: a diagnostic challenge. *Gastroenterology* 1997;113:212-218.
- Sternlieb I. Copper and the liver. *Gastroenterology* 1980;78:1615-1628.
- Sternlieb I. Perspectives on Wilson's disease. *Hepatology* 1990;12:1234-1239.
- Sternlieb I. Wilson's disease and pregnancy. *Hepatology* 2000;31:531-532.
- Stremmel W, Meyerrose KW, Niederau C, Hefter H, Kreuzpaintner G, Strohmeyer G. Wilson disease: clinical presentation, treatment, and survival. *Ann Intern Med* 1991;115:720-726.
- Tanzi RE, Petrukhin K, Chernov I, et al. The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. *Nat Genet* 1993;5:344-350.
- Tauber J, Steinert RF. Pseudo-Kayser-Fleischer ring of the cornea associated with non-Wilsonian liver disease. A case report and literature review. *Cornea* 1993;12:74-77.
- Thomas GR, Roberts EA, Walshe JM, Cox DW. Haplotypes and mutations in Wilson disease. *Am J Hum Genet* 1995;56:1315-1319.
- Tu JB, Blackwell RQ. Studies on levels of penicillamine-induced cupriuresis in heterozygotes of Wilson's disease. *Metabolism* 1967;16:507-513.
- van Wassenaeer-van Hall HN, van den Heuvel AG, Algra A, Hoogenraad TU, Mali WP. Wilson disease: findings at MR imaging and CT of the brain with clinical correlation. *Radiology* 1996;198:531-536.
- von Herbay A, de Groot H, Hegi U, Stremmel W, Strohmeyer G, Sies H. Low vitamin E content in plasma of patients with alcoholic liver disease, hemochromatosis and Wilson's disease. *J Hepatol* 1994;20:41-46.
- Walshe JM. Wilson's disease. New oral therapy. *Lancet* 1956;i:25-26.
- Walshe JM. Copper chelation in patients with Wilson's disease. A comparison of penicillamine and triethylene tetramine dihydrochloride. *Q J Med* 1973;42:441-452.
- Walshe JM. The management of Wilson's disease with triethylene tetramine 2HC1 (Trien 2HC1). *Prog Clin Biol Res* 1979;34:271-280.
- Walshe JM. Treatment of Wilson's disease with trientine (triethylenetetramine) dihydrochloride. *Lancet* 1982;1:643-647.
- Walshe JM, Dixon AK. Dangers of non-compliance in Wilson's disease. *Lancet* 1986;1:845-847.
- Walshe JM. Diagnosis and treatment of presymptomatic Wilson's disease. *Lancet* 1988;2:435-437.
- Walshe JM. Wilson's disease presenting with features of hepatic dysfunction: a clinical analysis of eighty-seven patients. *Q J Med* 1989;70:253-263.
- Walshe JM, Yealland M. Chelation treatment of neurological Wilson's disease. *Q J Med* 1993;86:197-204.
- Walshe JM, Munro NA. Zinc-induced deterioration in Wilson's disease aborted by treatment with penicillamine, dimercaprol, and a novel zero copper diet. *Arch Neurol* 1995;52:10-11.

Wilson SAK. Progressive lenticular degeneration: a familial nervous disease associated with cirrhosis of the liver. *Brain* 1912;34:295-507.

Wilson DC, Phillips MJ, Cox DW, Roberts EA. Severe hepatic Wilson's disease in preschool-aged children. *J Pediatr* 2000;137:719-722.

Yamaguchi Y, Heiny ME, Gitlin JD. Isolation and characterization of a human liver cDNA as a candidate gene for Wilson disease. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;197:271-277.

Capitolul 27: Boli hepatice autoimune: AIH, PBC si PSC

Christian P. Strassburg

Hepatita autoimuna (AIH)

Introducere

Hepatita autoimuna (autoimmune hepatitis - AIH) este o boala inflamatorie cronica ce presupune pierderea tolerantei organismului fata de tesutul hepatic. AIH a fost pentru prima data definita in 1950 cand a fost descrisa o forma de hepatita cronica la o femeie tanara care prezenta icter, valori crescute ale gamaglobulinelor, amenoree si evolutie in final spre ciroza hepatica (Waldenström 1950). Mai tarziu boala a fost observata in combinatie cu alte sindroame autoimune extrahepatice, si mai ales asociata cu prezenta anticorpilor antinucleari (ANA) ducand la termenul de hepatita lupica (Mackay 1956). Evaluările sistematice ale imunopatologiei moleculare si celulare a simptomelor clinice si a datelor de laborator au dus apoi la stabilirea hepatitelor autoimune ca o entitate clinica separata, heterogena serologic, tratabila prin strategii terapeutice specifice (Strassburg 2000). Pentru o abordare reproductibila si standardizata a diagnosticului AIH, in context stiintific, recent a fost stabilit si aprobat un sistem de scorificare revizuit (Alvarez 1999). Utilizarea si interpretarea testelor sero-imunologice si a celor de biologie moleculara permite o delimitare precisa a hepatitelor autoimune de alte etiologii ale hepatitelor cronice, in particular de cele virale (cea mai comuna cauza de hepatite cronice din lume) (Strassburg 2002).

Definitia si diagnosticul hepatitelor autoimune

La momentul diagnosticului, AIH este in mod normal mai veche de 6 luni. In 1992, un consiliu international s-a intalnit la Brighton, UK, pentru a stabili criteriile de diagnostic pentru AIH, deoarece era recunoscut ca mai multe manifestari ale acesteia inclusiv modificarile histologice si tabloul clinic se intalnesc si in alte afectiuni hepatice cronice (Johnson 1993). In acest raport si in altul ulterior acestuia grupul a notat ca nu exista un singur test specific pentru diagnosticul AIH; A fost propus un set de criterii pentru diagnostic sub forma unui scor diagnostic realizat pentru definirea pacientilor cu AIH probabila sau confirmata (Tabelul 1).

Tabelul 1. Criterii internationale pentru diagnosticul hepatitelor autoimune (Alvarez 1999).

Parametrii	Scor
Sex	
Femeie	+ 2
Barbat	0
Biochimie serica	
Raportul seric fosfataza alcalina vs transaminaze	
> 3.0	- 2
1.5-3	0

< 1.5	+ 2
Globuline serice totale, γ -globulina sau IgG	
De cate ori peste limita superioara a normalului	
> 2.0	+ 3
1.5-2.0	+ 2
1.0-1.5	+ 1
< 1.0	0
Autoanticorpi (titrati prin imunfluorescenta pe tesut de soarece)	
Adulti	
ANA, SMA or LKM-1	
> 1:80	+ 3
1:80	+ 2
1:40	+ 1
< 1:40	0
Anticorpi antimitocondriali	
Pozitivi	- 4
Negativi	0
Markeri hepatite virale	
negativi	+ 3
pozitivi	- 3
Alti factori etiologici	
Istoric de consum de droguri	
Da	- 4
Nu	+ 1
Alcool (media consumului)	
<25 gm/zi	+ 2
>60 gm/zi	- 2
Factori genetici: HLA DR3 sau DR4	+ 1
Alte boli autoimune	+ 2
Raspunsul la tratament	
complet	+ 2
recadere	+ 3
Histologia ficatului	
Hepatita de interfata	+ 3
Infiltrat predominant limfocitar	+ 1
Celule hepatice rozetate	+ 1
niciuna de mai sus	- 5
modificari biliare	- 3
alte modificari	-3
Seropozitivitate pentru alti autoanticorpi	+ 2

Interpretarea scorului obtinut: diagnostic sigur de H AI – mai mare de 15 inaintea tratamentului si mai mare de 17dupa tratament; diagnostic probabil de AIH – intre 10 si 15 inaintea tratamentului si intre 12 si 17 dupa tratament.

In acord cu aceasta abordare diagnosticul se bazeaza pe o combinatie a caracteristicilor indicatoare de AIH si prin excluderea altor cauze de boli cronice hepatice (Tabelul 2).

Table 2. Diagnosticul diferential al hepatitelor autoimune si teste diagnostice.

Diagnostic diferential suspectat: hepatita C (HCV)	Teste efectuate pentru excludere: anti HCV (ARN HCV)
---	--

hepatita B si D (HBV, HDV)	-AgHBs, anti Hbc (ADN VHB) -anti-HDV, ARN HDV numai cand AgHBs este pozitiv
hepatita virala A (VHA)	anticorpi, serologie: IgG, IgM
hepatita virala E (VHE)	numai daca se suspicioneaza
virusul Epstein-Barr (EBV)	numai daca se suspicioneaza
virusul herpes simplex (HSV)	numai daca se suspicioneaza
virusul citomegalic (CMV)	numai daca se suspicioneaza
virusul varicelo-zosterian (VZV)	numai daca se suspicioneaza
Hepatita postmedicamentoasa	-anamneza, daca se poate intreruperea medicamentului
Ciroza biliara primitiva (PBC)	-autoanticorpi in cazuri selectionate LKM-2, LM -anticorpi anti-mitocondriali (AMA) Reactivitate specifica: PDH-E2, BCKD-E2 -histologia hepatica: depozite de cupru in ductele biliare
Colangita sclerozanta primara (PSC)	colangiografie
Boala Wilson	Ceruloplasmina, cupru urinar, examen oftalmologic, cupru cantitativ pe biopsia hepatica
hemocromatoza	Feritina serica, fierul seric, saturatia transferinei, Histologia hepatica: coloratia pe fier, fier cantitativ la biopsie teste genetice: C282Y, H63D mutatii ale genei HFE la caucazieni
Deficit de alfa-1-antitripsina	Testarea fenotipului: PiZZ/PiSS/PiMZ/PiSZ

AIH afecteaza in special femeile, de orice varsta, si este caracterizata de o crestere marcata a globulinelor serice, in special gamaglobulinele si autoanticorpii circulanti. Manifestarile clinice pot varia de la absenta simptomatologiei la forme fulminante, care raspund in cele mai multe cazuri la tratamentul imunosupresiv. S-a raportat si o asociere cu boli autoimune extrahepatice (Tabelul 3) precum artrita reumatoida, tiroidita autoimuna, colita ulcerativa, diabetul zaharat si istoric familial de afectiuni autoimune sau alergice (Strassburg 1995).

Frecvent:

- Boala tiroidiana autoimuna
- Colita ulceroasa
- Sinovita

Rare sau raportari individuale:

- Artrita reumatoida
- Lichen plan
- Diabet zaharat
- Sindrom CREST
- Purpura trombocitopenica autoimuna
- Vitiligo
- Distrofia unghiala
- Alopecia

Tabelul 3. Asocierile extrahepatice ale hepatitei autoimune sunt prezente la 10-50% din pacienti.

Autoanticorpii sunt unele dintre trasaturile distinctive ale AIH, descoperirea acestora directionati impotriva diferitelor tinte celulare (Tabelul 4), incluzand proteinele membranare ale reticulului endoplasmatic, antigene nucleare si citosolice au condus la o clasificare a AIH bazata pe prezenta a trei profiluri specifice de autoanticorpi. Pornind de la aceasta abordare, AIH tip 1 este caracterizata de prezenta anticorpilor antinucleari (ANA) si/sau anticorpi antifibra musculara neteda (SMA) directionati predominant impotriva actinei fibrei musculare netede. AIH tip 2 este caracterizata de autoanticorpi impotriva antigenelor microzomale hepatice si renale (LKM-1) directionate impotriva citocromului P450 (CYP) 2D6 (Manns 1991; Manns 1989) si cu frecventa mai mica impotriva glucuronozil-transferazei UDP (UGT) (Strassburg 1996). AIH tip 3 (Manns 1987; Stechemesser 1993) este caracterizata de autoanticorpi impotriva antigenului hepatic solubil (SLA/LP) directionati impotriva complexului serinic ARNt – proteina supresor UGA (Gelpi 1992; Volkmann 2001; Wies 2000).

Desi aspectul histologic al AIH este caracteristic, nu exista nici o trasatura histologica specifica ce poate fi utilizata pentru confirmarea diagnosticului (Dienes 1989). Biopsia hepatica percutanata trebuie efectuata pentru clasificare, stadializare si monitorizarea tratamentului. Trasaturile histologice de obicei includ hepatita periportala cu infiltrate limfocitare, plasmocite, si necroza piecemeal. Odata cu instalarea unor stadii avansate ale bolii pot fi intalnite bridging necrosis, necroza panlobulara si multilobulara conducand in final spre ciroza. Hepatita lobulara poate fi prezenta, dar este indiciatoare de AIH doar in absenta depozitelor de cupru sau a inflamatiei biliare. In plus granuloamele si depozitele de fier pledeaza impotriva AIH.

Hepatitele virale trebuie excluse prin utilizarea testelor comerciale existente sigure. Excluderea unor hepatite A,B si C in evolutie este suficienta in majoritatea cazurilor. Excluderea altor virusuri hepatotrope precum virusul citomegalic, virusul Epstein-Barr, si virusurile herpetice este necesara doar in cazurile in care aceste

infectii sunt suspectate, sau daca diagnosticul AIH bazat pe criteriile mai sus mentionate ramane neconcludent.

Tabelul 4. Heterogenitatea hepatitelor autoimune pe baza datelor serologice: definire autoantigenelor importante in diagnosticul serologic.

Anticorpi	kDa	Antigenul tinta	Boala
Autoantigenele reticulului endoplasmic (autoantigene microzomale)			
LKM-1	50	Citocromul P450 2D6	Hepatita autoimuna Tip 2 Hepatita C
LKM-2	50	Citocromul P450 2C9	Hepatita indusa de ticinafen
LKM-3	55	UGT1A	-Hepatita D asociata autoimunitatii -hepatita autoimuna tipe 2
LKM	50	Citocromul P450 2A6	-sindrom poliendocrin autoimun tip 1 (APS-1) -Hepatita C
LM	52	Citocromul P450 1A2	-Hepatita indusa de Dihidralazina -Hepatita cu sindrom poliendocrin autoimun tip 1 (APS-1)
	57	Disulfidisomeraza	Hepatita indusa de halotan
	59	Carboxilesteraza	Hepatita indusa de halotan
	35	?	Hepatita autoimuna
	59	?	Hepatita cronica C
	64	?	Hepatita autoimuna
	70	?	Hepatita cronica C
Autoantigenele citosolului (proteine hepatice solubile)			
LC1	58-62	Formiminotransferaza cyclodeaminaza	Hepatita autoimuna tip 2 Hepatita autoimuna hepatita C?
SLA/LP	50	complexul serinic ARNt – proteina supresor UGA	Hepatita autoimuna (tip 3)

Probabilitatea diagnosticarii AIH scade atunci cand sunt prezente semne ale afectarii ductelor biliare, precum cresterea fosfatazei alcaline, semne histologice de colangiopatie si depistarea AMA. Daca unul sau mai multe componente ale sistemului de scorificare nu sunt evaluate, poate fi efectuat un scor direct pentru un diagnostic probabil (Tabelul 1). Un sistem simplificat este realizat in acest moment si va fi publicat in curand.

Epidemiologia AIH

AIH este o afectiune rara. Bazata pe datele epidemiologice limitate prevalenta in populatia caucasiana este estimata intre 50 si 200 de cazuri la 1 milion in Europa de

Vest si America de Nord. Prevalenta AIH este similara cu cea a lupusului eritematos sistemic, a cirozei biliare primitive si a miasteniei gravis, ce au ai ele etiologie autoimuna (Nishioka 1997; Nishioka 1998). In populatia caucaziana din America de Nord si Europa de Vest AIH reprezinta pana la 20% din precazurile cu hepatita cronica (Cancado 2000). Cu toate acestea, hepatitele cronice virale raman cauza majora de hepatite cronice in tarile vestice. In tarile in care hepatitele virale B si C sunt endemice, precum cele din Asia si Africa, incidenta AIH pare sa fie semnificativ mai scazuta. Sunt necesare in plus analize epidemiologice mai largi pentru a elucidata prevalenta si distributia geografica a AIH.

Autoanticorpii si etiologia AIH

Nu exista nici un dubiu ca pierderea tolerantei fata de tesuturile proprii este procesul fiziopatologic ce conduce la AIH, ce duce la sechelele observate. Un numar de teorii au urmarit sa elucideze agentii cauzali sau mecanismele ce conduc la AIH. Anticorpii impotriva reticulului endoplasmatic, in special impotriva membrilor superfamiliei de proteine a citocromului P450 (CYP) se intalnesc ca markeri serologici autoimuni si in infectiile cu virus hepatitic C si D (Strassburg 1996), la fel de frecvent ca markeri trecatori in bolile hepatice induse de alergeni medicamentoși (Beaune 1996), si chiar in boli autoimune determinate genetic precum sindromul poliglandular autoimun (APS) tip 1 (Obermayer-Straub 2001). Bazele imunologice exacte ale AIH raman inca neelucidate in ciuda descoperirii caracteristicilor serologice si a eforturilor considerabile pentru identificarea autoantigenelor tinta. Cand AIH este diagnosticata de obicei nu este in stadii incipiente si evenimentele declansatoare nu sunt astfel disponibile pentru o analiza detaliata. Paralela intre caracteristicile serologice autoimune asociate virusurilor si cele pur autoimune a condus la ipoteza existentei unui trigger extern (infectios sau chimic), sugerand ca susceptibilitatea inerenta a gazdei este un cofactor necesar. Din pacate epidemiologia hepatitelor autoimune ofera foarte putine informatii cu privire la susceptibilitatea genetica mai ales deoarece riscul familial este putin studiat. Separat de cazurile individuale si in absenta unor studii pereche, AIH nu apare cu distributie familiala, dar prevalenta altor boli autoimune incluzind boala tiroidiana autoimuna, boala celiaca, colita ulcerativa etc, este crescuta la rude. Aceasta trasatura sta la baza includerii rudelor de gradul unu cu boli autoimune in sistemul de scorificare international revizuit pentru hepatitele autoimune, un scor care descrie – in scop stiintific – probabilitatea prezentei AIH. Ipozeza triggerului si a susceptibilitatii genetice este confirmata de evidente semnificative ce leaga genele complexului major de histocompatibilitate (MHC) cu AIH (Donaldson 2002). Antigenele MHC clasa I si II sunt piese cheie in imunitatea celulelor T prin abilitatea lor de a prezenta pentru recunoastere peptide mici antigenice catre celulele T antigen specifice. Variantele de proteine codificate de MHC influenteaza asadar interfata receptorilor celulelor T si a moleculelor HLA inclusiv posibilitatea determinarii susceptibilitatii imunologice si a rezistentei imune. Studiarea autoanticorpilor si a autoantigenelor pe de o parte ofera o oportunitate de a identifica determinantii antigenici implicati in pierderea tolerantei, in timp ce, pe de alta parte, studiarea asociierilor genetice (Strassburg 2000) conduce la definirea profilului genetic permisiv, si combinarea acestora reprezinta stadiul de la care se evidentiaza fiziopatologia AIH.

Autoanticorprii in AIH

Autoanticorprii circulanti sunt markeri ai AIH. Autoanticorprii sunt singura si cea mai importanta descoperire ce determina diagnosticul, tratamentul si diferentierea bolilor autoimune de infectiile cronice virale. Identificarea, clonarea moleculara si expresia recombinanta a autoantigenelor hepatocelulare au fost capabile sa implementeze un sistem de testare precis si o evaluare stiintifica a autoimunitatii umorale asociata cu AIH (Strassburg 2002; Strassburg 2000). Autoanticorprii cu semnificatie pentru AIH sunt: anticorprii antinucleari (ANA), anticorprii antifibra musculara neteda (SMA), anticorprii antimicrozomi hepatici si renali (LKM), anticorprii antiantigen solubil hepatic/ ficat pancreas (SLA/LP), autoanticorpri anticitosol hepatic (LC-1), si anticorprii antireceptorului asialoglicoproteinei (ASGPR).

Anticorprii antinucleari (ANA) sunt directionati impotriva componentelor structurale si functionale ale nucleului celular, impotriva membranei nucleare sau ADN. Antigenele tinta sunt heterogene si incomplete definite la nivel de grup de proteine celulare (Tan 1988). Pina in prezent variatele subtipate de antigene ale ANA nu ofera avantaje diagnostice sau prognostice. ANA au fost, de asemenea, depistate in PBC, PSC, hepatite virale, hepatite postmedicamentoase, si boli hepatice alcoolice, si astfel investigatiile efectuate au avut ca scop identificarea antigenelor tinta care sa fie specifice pentru AIH. ANA au fost determinati prin imunofluorescenta indirecta pe sectiune criostatica de ficat de sobolan si in monostrat de culturi celulare Hep.2. Cel mai frecvent se intalneste tipul de imunofluorescenta omogena (Figura 1) sau punctata. ANA sunt reactivi la centromere, ribonucleoproteine si ciclina A (Figura 1) (Strassburg 1996). Ei reprezinta cei mai frecventi autoanticorpri in AIH si au titruri inalte de obicei depasind 1:160.

Anticorprii antifibra musculara neteda (SMA) sunt directionati impotriva componentelor citoscheletului precum actina, troponina sau tropomiozina (Dighiero 1990; Kurki 1980; Lidman 1976). Au frecvent titruri ridicate, in asociere cu ANA. Totusi, anticorprii SMA se intalnesc, de asemenea, in boli hepatice avansate de alte etiologii, in boli infectioase si in afectiuni reumatice. In aceste cazuri titrul este deseori mai mic de 1:80. Autoanticorprii SMA sunt de asemenea determinati prin imunofluorescenta indirecta pe sectiuni criostatice de stomac de sobolan (Figura 2). SMA sunt asociati cu haplotipul HLA A1-B8-DR3 si, probabil mai mult ca reflectie a acestui status, pacientii afectati sunt mai tineri la debutul bolii si au prognostic mai prost.

Anticorprii antimicrozomi hepatici si renali (LKM) sunt directionati impotriva proteinelor reticulului endoplasmic (proteinele microzomale). In 1973, Rizzetto a descoperit autoanticorpri reactivi la tubii proximali renali si la citoplasma hepatocelulara prin imunofluorescenta indirecta (Figurile 3 A si B) (Rizzetto 1973). Acesti autoanticorpri denumiti LKM-1 au fost asociati cu un al doilea tip de AIH ANA-negativa. Intre 1988 si 1991 antigenul de 50 kDa corespunzator autoanticorpriilor LKM-1 a fost identificat ca fiind citocromul p450 2D6 (CYP 2D6).

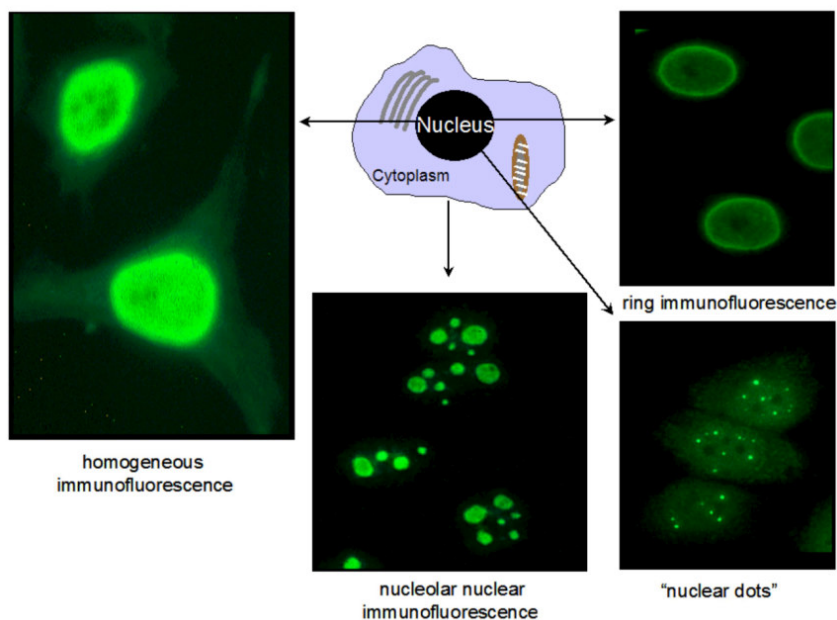


Figura 1. Microfotografiile de imunofluorescenta indirecta a unei varietati de ANA depistate in hepatita autoimuna si alte boli autoimune, detectate pe celule Hep. 2 imobilizate. Aspectul la imunofluorescenta al membranei nucleare (ring) (dreapta sus) depistata la un pacient cu hepatita autoimuna tip 1 cu titru mai mare de 1:160. In acest tip autoanticorpilor sunt directionati impotriva filamentelor (filamente B, dar si filamente A si C). Imunofluorescenta membranara nu este intalnita frecvent si poate indica existenta unor sindroame autoimune mixte incluzand vasculita si alte trasaturi ale SLE bine diferite de un aspect omogen (stanga sus). Cadranul din mijloc demonstreaza aspectul de fluorescenta nucleolara a ANA. Acest aspect este rareori observat in hepatitele autoimune dar este obisnuit in boli reumatologice, precum sclerodermia si polimiozita. Daca este prezent intr-o hepatita autoimuna tip 1, poate fi indicatorul unui sindrom suprapus cu afectiuni reumatologice. Cadranul din dreapta jos arata multiple puncte nucleare. Acest aspect nu este tipic pentru hepatitele autoimune si poate fi intalnit la aproximativ 20% din pacientii cu PBC. De obicei AMA sunt prezenti in acelasi timp dar pot lipsi in caz de PBC ANA-pozitiv, AMA-negativ. Acesti autoanticorpi sunt directionati impotriva antigenului nuclear SP100 (100 kDa).

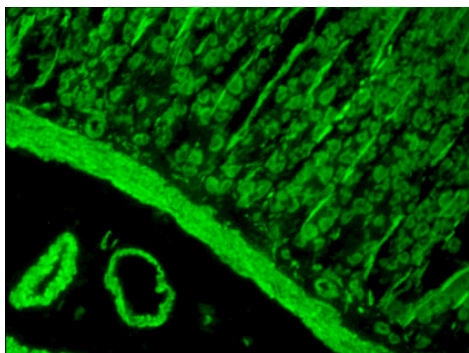


Figura 2. Dispunerea tipica a imunofluorescentei pentru autoanticorpii anti-fibra musculara neteda (SMA) detectata pe sectiuni de stomac de soarece obtinute cu ajutorul criostatului.

Se observa specificitatea anticorpilor pentru muscularis mucosae si lamina propria din stomacul de soarece, dar nu fata de structurile mucoasei, anticorpii SMA aparand frecvent in asociere cu anticorpii antinucleari (ANA) in hepatita autoimuna tip 1.

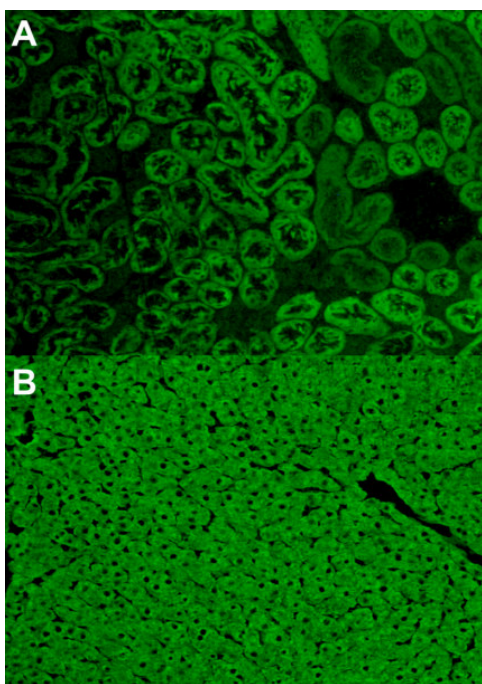


Figura 3. Imunofluorescenta indirecta pentru autoanticorpi anti-microsomali hepatici/renali (LKM-1) pe sectiuni de ficat si rinichi de soarece obtinute cu ajutorul criostatului.

Ser de pacient cu hepatita autoimuna tip 2. A. Dispunerea tipica a imunofluorescentei pentru autoanticorpi LKM-1 detectabila in tubii renali proximali (corticali), dar nu si in tubii renali distali, situati in medulara renala, corespunzator distributiei tisulare a autoantigenului CYP 2D6.

B. Utilizand sectiuni de ficat de soarece obtinute cu ajutorul criostatului se poate observa distributia omogena a imunofluorescentei in celule, exceptand nucleii hepatocitelor (LKM-1).

Autoanticorpul anti-microsomal hepatic/renal (LKM-1) recunoaste un epitop liniar major cuprins intre aminoacizii 263 si 270 din proteina CYP 2D6 (Guenguen 1991; Guenguen 1988; Manns 1984; Manns 1991; Zanger 1988), a carei activitate o inhiba *in vitro*, determinand in paralel si stimularea limfocitelor T care infiltreaza ficatul, ceea ce sugereaza un mecanism combinat umoral si celular de actiune a autoanticorpilor LKM. Se pare ca in afara epitopului linear, autoanticorpul LKM-1 pot recunoaste si alti epitopi aflati in anumite conformatii sterice (Sugimura 2002). Totusi, recunoasterea unor epitopi localizati intre aminoacizii 257 si 269 pare a fi o reactie asociata hepatitei autoimune si caracteristica pentru autoanticorpul LKM-1 aparuti in infectia cronica VHC. Proteina asociata reticulului endoplasmic CYP 2D6 a fost detectata si pe suprafata hepatocitelor, iar expresia ei este reglata de activitatea citokinelor. Anticorpul indreptat impotriva proteinelor microsomale formeaza un grup heterogen asociat unei largi varietati de boli cu mecanism autoimun, ca: hepatita autoimuna (AIH), hepatita indusa de medicamente, sindromul poliendocrin autoimun tip 1 (APECED/APS) si hepatitele virale cronice C (VHC) si D (VHD) (Tabel 4; Figura 4). Autoanticorpul LKM indreptat impotriva CYP 1A2 sau 2A6 apar la pacientii cu APECED si afectare hepatica, iar anticorpul anti-CYP 2A6 apar, de asemenea, in infectia VHC. Autoanticorpul LKM-1 caracterizat de un pattern de imunofluorescenta aparuta selectiv in citoplasma hepatocitara, dar nu si a celulelor renale, sunt de obicei indreptati impotriva proteinei CYP 1A2, acesti anticorpi putand aparea in APECED cu afectare hepatica si in hepatita medicamentoasa indusa de hidralazina. Al doilea tip de autoanticorpi LKM, LKM-2, sunt indreptati impotriva structurilor CYP 2C9 si apar in hepatita indusa de ticinafen. A treia categorie de autoanticorpi LKM, LKM-3, au fost identificati la un procent de 6-10% dintre pacientii cu infectie cronica cu virus hepatitic D (VHD) (Crivelli 1983), avand specificitate pentru proteine din familia 1 de UDP-glucuronoziltransferaze (UGT1A) (Philipp 1994), proteine localizate la nivelul membranei reticulului endoplasmic cu rol in metabolizarea medicamentelor (Turkey 2001). Autoanticorpul LKM-3 au fost descrisi la pacienti cu infectie VHD si la cei cu hepatita autoimuna de tip 2 (Strassburg 1996), dar pot aparea si in AIH cu autoanticorpi LKM-1 si ANA negativi. In plus, serurile LKM-pozitive prezinta reactivitate pentru un grup de antigene neidentificate cu greutate moleculare de 35 kDa, 57 kDa, 59 kDa si 70 kDa (Durazzo 1995), acesti autoanticorpi fiind prezenti mai ales la pacientii cu AIH, infectie VHC si hepatita indusa de halotan (Figura 4). Autoanticorpul LKM sunt pusi in evidenta prin reactie de imunofluorescenta indirecta pe sectiuni de tesut murin obtinute cu ajutorul criostatului iar clasificarea se realizeaza prin teste ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) si Western Blot, folosind antigene recombinante.

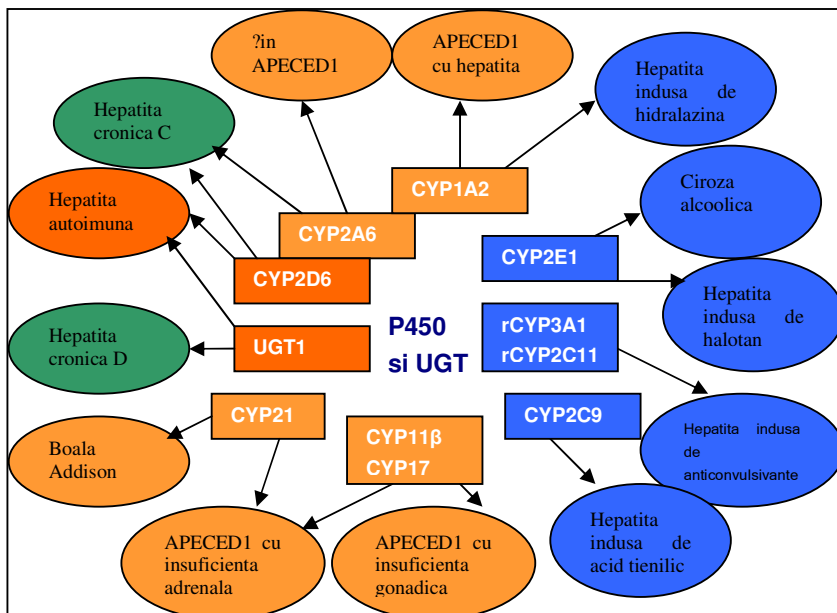


Figura 4. Diversitatea proteinelor-tinta pentru autoanticorpii microsomiali (indreptati impotriva reticulului endoplasmatic), aparuti in hepatitele induse medicamentos, hepatitele virale si bolile genetice (sindromul poliendocrin autoimun tip 1; APECED/APS-1). CYP - citocromul P450; UGT - uridin difosfat glucuronozil transferaza.

Anticorpii cu specificitate pentru antigenul hepatic solubil (SLA - soluble liver antigen) au fost descoperiti la un pacient cu AIH si anticorpi antinucleari negativi (Manns 1987), dar actualmente este bine dovedit faptul ca si anticorpii cu specificitate pentru ficat si pancreas (LP - liver pancreas) recunosc aceeasi structura proteica-tinta, ducand prin asociere la noua denumire a acestora, respectiv autoanticorpii SLA/LP (Stechemesser 1993; Wies 2000) si fiind considerati relativ specifici pentru AIH, aparand in 10-30% dintre cazuri. In 1992 a fost detectata o clasa aparte de autoanticorpi aparuti in cazurile severe de hepatita autoimuna cronica (Gelpi 1992), care precipita un complex serinic ARNt-proteina supresor al UGA, ce pare a fi implicat in incorporarea cotranslationala a selenocisteinei in celulele umane. Pe de alta parte, s-a demonstrat faptul ca anticorpii anti-SLA/LP sunt directionati impotriva complexului serinic ARNt-proteina supresor UGA, si nu impotriva citokeratinei 8 si/sau 18 sau a glutatyon S transferazei, cum fusese sugerat anterior, dar functia exacta a acestui antigen in aparitia fenomenelor autoimune nu este inca bine precizata. In ceea ce priveste autoanticorpii SLA/LP acestia sunt considerati a interveni cu siguranta in patogenia procesului autoimun.

Anticorpii cu specificitate pentru citosolul hepatic, de tip 1 (LC1 - liver-cytosol) sunt detectati la pana la 50% dintre pacientii cu AIH tip 2 (Muratori 1995); mai rar, se pot asocia cu SMA si ANA in serul pacientilor cu AIH tip 1 sau hepatita cronica C si, in plus, la un procent de pana la 10% dintre pacientii cu AIH, anti-LC1 pot reprezenta singurul semn de boala autoimuna. Anticorpii anti-LC1 pot fi pusi in evidenta prin reactie de imunofluorescenta indirecta, totusi exista posibilitatea ca

patternul acestora sa fie mascat de o imunofluorescenta difuza produsa de autoanticorpii LKM-1. Antigenul recunoscut de anti-LC1 este formiminotransferaza - ciclodeaminaza (FTCD), o enzima implicata in metabolizarea histidinei in acid glutamic, care este exprimata predominant la nivel hepatic; aceasta este o enzima bifunctionala compusa din doua domenii distincte (FT si CD) legate printr-o scurta conexiune. Serurile anti-LC1 pozitive recunosc epitopi diferiti din FTCD, situati mai frecvent in domeniul FT al FTCD (Muratori 2001). Spre deosebire de alti autoanticorpi care apar in AIH anti-LC1 par sa fie corelati mai mult cu activitatea bolii, putand fi utili ca markeri ai inflamatiei hepatocelulare reziduale din AIH.

Anticorpii indreptati impotriva receptorului asialoglicoproteic (ASGPR) (Treichel 1990) apar la pana la 90% dintre pacientii cu AIH, coexistand cu ANA, SMA si anti-LKM-1, dar nefiind specifici afectarii autoimune, pot aparea si in hepatitele virale, cele induse medicamentos si in ciroza biliara primara (PBC). Nivelul anticorpilor anti-asialoglicoproteina se coreleaza cu activitatea inflamatorie si pot fi utilizati ca markeri aditionali de monitorizare a eficientei terapiei.

Anticorpii indreptati impotriva antigenelor citoplasmice ale neutrofilelor (pANCA - neutrophil cytoplasmic antigens) sunt detectati in serul a 65-95% dintre pacientii cu AIH tip 1, si uneori in serul pacientilor cu colangita sclerozanta primitiva (PSC) (Figura 5). Autoanticorpii pANCA sunt evidentiati prin imunofluorescenta, aceasta reactie putand deosebi doua patternuri distincte: cANCA - cu distributie a imunofluorescentei difuza in citoplasma neutrofilelor si pANCA - cu distributia imunofluorescentei in citoplasma perinucleara, determinand o colorare ce urmareste conturul nucleului. In unele cazuri de AIH pot exista, de asemenea, si anticorpi pANCA atipici (denumiti si xANCA) cu distributie a imunofluorescentei de tip pANCA, dar care nu prezinta reactivitate la coloratia pentru mieloperoxidaza, care este antigenul major fata de care autoanticorpii ANCA reactioneaza in mod normal. Deosebirea ANCA de alti autoanticorpi este uneori dificila deoarece frecvent si ANA pot colora neutrofilele fixate cu etanol. Antigenul-tinta din AIH este necunoscut, dar in afara mieloperoxidazei granulocitare, alti posibili candidati ai fenomenelor autoimune (proteinaza 3 si elastaza) au fost exclusi. Rolul ANCA in patogenia AIH este inca neclar, dar determinarea de rutina a acestora poate fi utila in punerea diagnosticului de hepatita autoimuna la anumiti pacienti care in trecut erau considerati a avea hepatita criptogenica (Álvarez 1999).

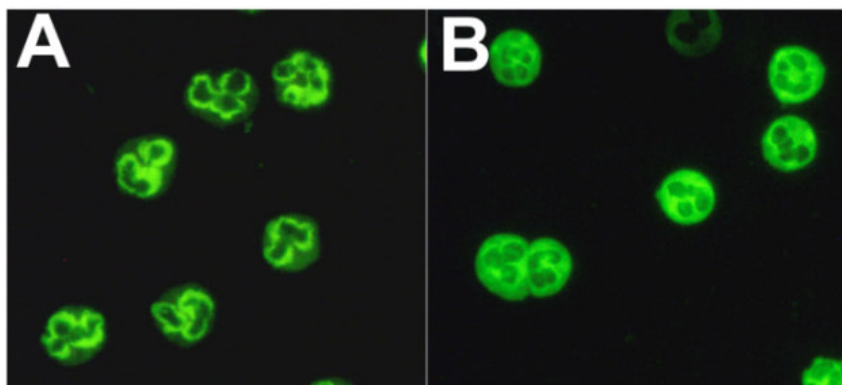


Figura 5. Detectia prin reactie de imunofluorescenta a ANCA (anticorpi indreptati impotriva antigenelor citoplasmatice din neutrofile) cu distributie de tip pANCA (A) si cANCA (B). Acesti autoanticorpi apar in hepatita autoimuna tip1 (cu ANA si SMA pozitivi) la pana la 95% dintre pacienti, dar nu sunt considerati specifici pentru diagnosticul de AIH. La investigatii ulterioare la anumiti pacienti cu AIH acesti autoanticorpi nu reactioneaza cu mieloperoxidaza (pANCA) sau cu proteinaza 3 (cANCA).

Etiologia AIH

Nu au fost inca prezentate dovezi concludente asupra etiologiei unice a AIH. Multe cercetari conduc spre o etiologie virala, ce a fost investigata in numeroase studii (Lenzi 1995; Manns 1990); totusi, etiologia hepatitelor autoimune ramane in continuare o problema controversata (Voguel 2002).

Rapoarte anecdotice sugereaza implicarea virusurilor hepatitice A, B, virusului Epstein-Barr si virusului herpes simplex in hepatita autoimuna (Vento 1996; Vento 1997; Vento 1991; Vento 1995). S-a presupus, ca mecanism potential, mimetismul molecular intre proteinele virale si cele umane. In acest sens, s-a aratat ca epitopul celulei B al CYP 2D6, care este tinta autoanticorpilor LKM-1, prezinta omologie cu antigenul timpuriu IE175 al virusului herpes simplex (HSV). A fost raportat un caz, in care singura diferenta intre gemeni identici HLA cu manifestari diferite de AIH a fost expunerea la HSV (Manns 1990).

Infectia VHC este asociata cu o serie larga de markeri serologici ai autoimunitatii si ai sindroamelor mediate imun. Autoanticorpii LKM sunt prezenti in 3-5% din cazuri. Totusi, aceasta autoimunitate serologica difera in ceea ce priveste recunoasterea antigenelor tinta (CYP 2D6 si CYP 2A6), recunoasterea epitopilor (in AIH in principal 257-269, in infectia cu VHC epitopi mai diversi si de asemenea mai dependenti de complexitatea conformationala a moleculei de antigen), precum si in prezentarea clinica (Tabelul 5). In urma acestor observatii, este putin probabil ca VHC sa fie raspunzator de etiologia AIH (Czaja 1993).

	Hepatita autoimuna	Hepatita virala
Titul autoanticorpilor	↑↑↑	↑
Autoepitopi liniari	+++	+
Epitopi conformationali	+	++++
Anticorpi inhibitori	++	++
Raspunsul autoimun	omogen	heterogen
Tratament	Imunosupresie	(antiviral)

Tabelul 5. Diferentele intre boala autoimuna veritabila si autoimunitatea indusa de virus.

In afara de agentii virali, predispozitia genetica trebuie privita ca o conditie obligatorie pentru AIH. Totusi, profilul genetic al AIH nu urmeaza modelul Mendelian si nu a fost identificat inca un rol concludent al unui singur locus genetic capabil sa explice etiologia AIH. De aceea, hepatitele autoimune sunt considerate o trasatura caracteristica complexa, ca majoritatea celorlalte boli umane, ceea ce inseamna ca exista una sau mai multe gene ce actioneaza singure sau impreuna pentru a reduce sau creste riscul acestei trasaturi. Componenta ereditara a AIH este considerata in prezent minora. Totusi, aceste date urmeaza a fi dezbattute in continuare.

Cea mai concludenta asociere cu bolile autoimune este legata de alelele complexului major de histocompatibilitate. Pana in prezent, au fost identificate aproximativ 1000 de antigene leucocitare umane (HLA). Complexul CMH este codificat de o portiune de 4000 kpb a cromozomului 6p21.3, se caracterizeaza printr-un polimorfism genetic considerabil si este impartit in 3 regiuni: CMH clasa I si II codifica HLA A, B, Cw, Dr, Dq si DP, regiunea CMH clasa II cuprinde mai multe proteine reactive imun inclusiv proteinele complementului C2, C4A, CaB, proteina socului termic (HSP-70), factorul de necroza tumorala (TNF) alpha si beta, si proteinele MHC clasa I MICA, MICB. Interesul in ceea ce priveste asocierea HLA cu AIH decurge din faptul ca structura moleculara si variatia peptidelor CMH ale regiunii helicoidale-alpha la nivelul santului de legare a peptidelor determina prezentarea antigenului receptorului celulelor-T si astfel, majoritatea variabilitatii interindividuale in alelele HLA are legatura cu secventa de aminoacizi a situsului de legare a peptidelor. S-a observat ca pacientii cu haplotip HLA A1-B8-DRB1*0301 au fost mai tineri la debutul bolii, au prezentat mai frecvent recidiva dupa tratament imunosupresiv si au necesitat mai frecvent transplant hepatic. Investigatii ulterioare asupra alelelor HLA codante au aratat ca susceptibilitatea genetica la AIH este legata de secventa de sase aminoacizi LLEQKR in pozitia 67-72 a polipeptidului DRB1. In cadrul acestor sase aminoacizi, aminoacidul critic pare a fi in pozitia 71-adica, lizina sau arginina pentru alelele de susceptibilitate si alanina pentru alelele de rezistenta. Polimorfismul in aceasta regiune poate afecta predispozitia la bolile autoimune prin mai multe mecanisme. Aceste mecanisme includ modelarea

repertoriului celulelor T, selectia peptidelor si prezentarea ca si peptide de transport. S-a raportat asocierea HLA A1 si B8 cu AIH (Mackay 1972).

Variabilitatea genetica nu este limitata la genele HLA I si II, ci afecteaza in egala masura TNFa si b, genele complementului, proteinele MICA si MICB. Desi schimbarile functionale ale promotorului genei TNF polimorf nu sunt clare, rolul acestei molecule in inflamatie, moarte celulara, apoptoza si reglarea pozitiva a expresiei CMH a promovat-o ca o gena candidat interesanta.

In mai multe studii a fost demonstrata clar asocierea HLA A1, Cw7, B8 si DR3 – care este mostenita ca un haplotip – precum si DR4 cu AIH si alte boli autoimune (Donaldson 1991; Mackay 1980). Asocierile cu HLA B, Cw, TNF-a nu s-au dovedit a fi un factor major. Studii realizate in Europa si SUA au identificat DRB1*0301 si DRB1*0401 ca alele pentru susceptibilitate si DRB1*1501 ca alele pentru rezistenta (Tabelul 2) (Doherty 1994; Strettell 1997). Totusi, observatiile imunogenetice par a nu fi universal aplicabile si s-a observat ca exista diferente geografice semnificative. In Japonia DR2 (DRB1*1501) este mai degraba o alela de susceptibilitate slaba decat o alela pentru rezistenta (Ota 1992) si la copiii din America de Sud DRB1*1301 este o alela puternica de susceptibilitate (Pando 1999) neantantita in alte studii. Compararea moleculara a reziduurilor aminoacizilor din regiunea de legare helicoidala a HLA a sugerat ca la pacientii din Japonia histidina in pozitia 13, la pacientii din SUA si Europa precum si cei din Japonia, Mexic si Argentina lizina in pozitia 71, si pentru copiii din America de Sud valina in pozitia 86 par a conferi risc pentru AIH. Aceste date arata ca asocierile genetice variaza in populatiile aflate in studiu (Tabelul 6). Pentru aceasta observatie pot fi luate in calcul o serie de explicatii. Prezentarea unui factor exogen intr-o anumita populatie poate fi necesara (amprenta moleculara), ceea ce este in concordanta cu ipoteza actuala asupra triggerilor de mediu si susceptibilitatii genetice, dar modelul poate fi prea simplu in prezumtia sa asupra importantei unei diferente de un singur reziduu de aminoacizi. AIH nu pare a fi o boala monogenetica sau oligogenetica. Este evident ca un profil poligenetic de factori ce urmeaza a fi elucidati va defini predispozitia pentru aceasta boala.

HLA	DR3	DR4
Genotipul	DR B1*0301	DR B1*0401 (DR B1*0405 in Japonia)
Varsta la debut	<30	>40
Activitatea bolii	+++	+
Raspunsul la tratament	++	++++
Recidiva dupa tratament	+++	+
Transplant hepatic	+++	+
Lantul de aminoacizi DRβ ca factor de risc	lizina la aminoacidul 71	?

Tabelul 6. Heterogenitatea hepatitelor autoimune bazata pe markeri genetici.

Genele non-CMH si hepatita autoimuna

Molecula CD152 (antigen-4 citotoxic limfocitar, CTLA-4) exprimata pe celulele imune reglatoare T (CD25 pozitive) interactioneaza cu CD80 si CD86 exprimate pe celulele prezentatoare de antigen cu o afinitate de pana la 50 de ori mai mare comparativ cu CD28. Recunoasterea CD152 are ca rezultat reducerea raspunsului imun. S-a aratat ca gena CTLA-4 expune mai mult de 16 nucleotide polimorfe si alelele CTLA-4 A+49G sunt asociate cu diabet, ciroza biliara primara si tiroidita autoimuna. O asociere cu AIH are sens din punct de vedere biologic si este intr-adevar cea mai puternica asociere non-CMH de pana acum (Agarwal 2000). Studiul interleukinei 1 si 10 nu a aratat existenta unor asocieri. Variante ale receptorului vitaminei D, asociat cu un numar de boli autoimune precum si cu tirozin fosfataza CD45 a aratat o slaba asociere cu AIH (Vogel 2003; Vogel 2002).

Hepatita autoimuna in cadrul sindromului poliendocrin autoimun (APS) tip 1: un model de boala?

Sindromul APS-1 se caracterizeaza printr-un numar de tulburari autoimune implicand organe endocrine si non-endocrine, inclusiv candidoza muco-cutanata, hipoparatiroidism si insuficienta suprarenala (diagnosticul este stabilit cand sunt prezente doua din aceste trei afectiuni) (Obermayer-Straub 2001). La 10% din pacienti este prezenta hepatita autoimuna. APS-1 a contribuit mult la intelegerea bolilor autoimune datorita faptului ca prezinta o asociere monogenica cu mutatiile din gena reglatoare autoimuna (AIRE). AIRE este exprimata in celulele epiteliale medulare ale timusului, reprezentand mai putin de 0.1% din celulele timice (Pitkanen 2001). Factorul de transcriptie codificat de gena AIRE regleaza expresia mai multor antigene necesare pentru selectia negativa a celulelor T autoreactive in timus. In cazul deficitului genei AIRE, in celulele epiteliale medulare timice este exprimat mai putin autoantigen, rezultand un numar mai mare de celule T reactive in periferie, ceea ce contribuie la aparitia unei boli autoimune (Ramsey 2002). AIH in cadrul sindromului APS-1 conduce la formarea autoanticorpilor impotriva CYP1A2 si CYP2A6. AIH poate fi primul element clinic al acestui sindrom in special la copii (Lankisch 2005). Totusi, o analiza retrospectiva a pacientilor adulti cu AIH nu a aratat o crestere a frecventei variantelor alelice ale genei AIRE (Vogel 2001).

Prezentare clinica

Sistematic, hepatita autoimuna este parte a sindromului hepatitelor cronice, caracterizata prin inflamatie hepatocelulara pentru cel putin 6 luni insotita de cresteri ale ALT si AST de 1.5 ori peste limita normalului. La aproximativ 49% din pacientii cu AIH s-a observat un debut acut al hepatitei autoimune; au fost raportate cazuri rare de AIH fulminanta. Totusi, in majoritatea cazurilor, prezentarea clinica nu este spectaculoasa si se caracterizeaza prin fatigabilitate, dureri la nivelul hipocondrului drept, icter si ocazional eritem palmar si stelute vasculare. In stadiile avansate, domina consecintele hipertensiunii portale, incluzand ascita, hemoragia produsa de ruptura varicelilor esofagiene si encefalopatia. O trasatura specifica a AIH este asocierea sindroamelor extrahepatice mediate imun inclusiv tiroidita

autoimuna, vitiligo, alopecia, distrofia unghiilor, colita ulcerativa, artrita reumatoida, diabetul zaharat si glomerulonefrita (Tabelul 3).

Subclasificare

Parametrii imunoserologici au un rol central in subclasificarea AIH (Tabelul 4) si permit diferentierea grupurilor distincte de pacienti din punct de vedere clinic. IAIHG recomanda aceasta subclasificare doar in scopuri de cercetare, deoarece autoanticorpii nu delimiteaza grupurile terapeutic distincte. Totusi, s-a mentionat ca distinctia intre AIH de tip 1 si tip 2 a fost deja, in mare masura, adoptata in practica clinica (Manns 2001).

Hepatita autoimuna tip 1 se caracterizeaza prin prezenta ANA si, de asemenea, in majoritatea cazurilor, prin prezenta autoanticorpilor SMA. La 97% din pacienti este prezenta hipergamaglobulinemia cu niveluri ridicate ale imunoglobulinei G. Reprezentand 80% din cazurile de AIH, aceasta subclasa cu cea mai ridicata prevalenta a fost initial descrisa ca lupus, AIH clasica sau idiopatica. 70% din pacienti sunt femei, cu un varf al incidentei in grupa de varsta 16 - 30 de ani; totusi, 50% din cazuri se diagnosticheaza peste varsta de 30 de ani. In 48% din cazuri s-a observat o asociere cu alte sindroame imune, in fruntea listei aflandu-se boala tiroidiana autoimuna, sinovita si colita ulcerativa. Evolutia clinica nu este de obicei spectaculoasa si debutul acut este foarte rar. In momentul diagnosticului, aproximativ 25% din pacienti au ciroza.

Hepatita autoimuna tip 2 se caracterizeaza prin prezenta autoanticorpilor LKM-1 impotriva CYP 2D6. La 10% din pacienti sunt prezenti de asemenea autoanticorpii LKM-3 impotriva UDP-glucuronosiltransferazelor. In contrast cu AIH tip 1, sunt prezenti in plus autoanticorpi organ-specifici cum ar fi autoanticorpii anti-tiroida, anti-celula parietala si autoanticorpii anti-celula Langerhans. Sindroamelor imune extrahepatice, ca de exemplu, diabetul, vitiligo si boala tiroidiana autoimuna sunt mai frecvent intalnite. Nivelurile serice ale imunoglobulinelor sunt moderat crescute cu o reducere a IgA. AIH tip 2 este o afectiune rara, ce afecteaza in Europa 20% din pacientii cu AIH; in SUA sunt afectati doar 4% din pacientii cu AIH. Este intalnita cu precadere la femei. Varsta maxima la care apare este in jur de 10 ani, dar AIH tip 2 este de asemenea observata la adulti, in special in Europa. AIH tip 2 prezinta un risc mai mare de progresie spre ciroza cu o evolutie fulminanta.

Hepatita autoimuna tip 3 se caracterizeaza prin prezenta autoanticorpilor SLA/LP, dar 74% din pacienti prezinta de asemenea alti markeri serologici de autoimunitate, inclusiv SMA si AMA. AIH tip 3 are o prevalenta mai mica comparativ cu tipul 2, afecteaza pacientii de sex feminin in 90% din cazuri si are o varsta maxima de aparitie intre 20 si 40 de ani. Aceasta subclasa a AIH este inca o problema in dezbateri si sunt necesare evaluari suplimentare pentru a determina daca reprezinta o entitate sau este o varianta a AIH tip 1. Totusi, este important de diagnosticat prezenta anticorpilor anti-SLA/LP, care apar in 10% din cazurile de AIH ca singurul marker serologic. Acest lucru ar trebui sa reduca probabilitatea clasificarilor incorecte.

Hepatita criptogenica si sindroamele overlap

Hepatita criptogenica este o hepatita cronica cu etiologie nedeterminata. Nu se cunoaste inca de ce multi din acesti pacienti sufera de AIH fara a prezenta autoanticorpi serici detectabili prin tehnicile actuale. La aproximativ 13% din pacientii initial testati pentru ANA, SMA si LKM prin imunoflorescenta indirecta, este posibil sa se detecteze autoanticorpii SLA si astfel sa se clarifice diagnosticul. Clinic, acest grup al hepatitelor criptogenice seamana cu AIH tip 1 in ceea ce priveste distributia pe varsta si sexe, tipurile de antigen HLA, activitatea inflamatorie si raspunsul la terapie.

Sindroamele overlap sunt afectiuni in care exista simptomele principale ale AIH, dar markeri si simptome suplimentare conduc spre alte boli. In cadrul acestor boli se inscriu: PBC in 8% din cazuri cu AMA serici si semne histologice de colangita, PSC in 6% din cazuri cu imagine tipica la colangiografie, si colangita autoimuna in 10% din cazuri cu ANA, SMA si inflamatie histologica a sistemului biliar (Czaja 1998). Totusi, o definitie clara si universal acceptata a sindroamelor overlap nu exista in prezent. In plus, frecventa acestei afectiuni este o problema controversata. Diferentele raportate pot reflecta diferentele intre suprapunerea serologica si cea clinica veritabila a doua boli autoimune. Ultima pare a fi mai rara (Strassburg 2004).

O asociere clinica semnificativa este asocierea virus-autoimunitate, care descrie coexistenta autoanticorpilor si infectiei virale (Strassburg 1995; Strassburg 1996). Cele mai importante asocieri sunt cu infectia VHC si cu infectia VHD, in care autoanticorpii LKM pot fi detectati in 2-5% din cazuri si respectiv, 6-12% din cazuri. AIH tip 2 si infectia VHC cu autoanticorpi LKM sunt entitati clinic distincte (Tabelul 5). In infectiile virale, autoanticorpii LKM sunt prezenti la un titru mai scazut si recunosc epitopi conformationali mai diversi comparativ cu AIH autentice. Aceasta diferenta este relevanta de cand reprezinta baza strategiilor terapeutice mutual exclusive: imunosupresia in cazul AIH si interferonul in cazul hepatitei cronice virale (Dalekos 1999).

Istorie naturala si prognostic

Datele despre istoria naturala a AIH sunt insuficiente. Ultimul trial despre tratamentul imunosupresiv controlat-placebo a fost publicat in 1980 (Kirk 1980). Valoarea acestor studii este limitata avand in vedere ca acesti pacienti au fost testati doar pentru factorii de risc epidemiologici pentru hepatita virala si nu au fost caracterizati in functie de criteriile standard de diagnostic. Totusi, aceste studii arata ca AIH netratate au un prognostic foarte slab, fiind raportate rate de supravietuire la 5 si 10 ani de 50% si respectiv, 10%. Mai mult, ei au demonstrat ca tratamentul imunosupresiv imbunatateste semnificativ supravietuirea.

Date recente arata ca pana la 30% din pacientii adulti au caracteristici histologice de ciroza la diagnostic. La 17% din pacientii cu hepatita periportala ciroza se dezvolta in decurs de 5 ani; cand este prezenta necroza in puncti sau necroza multilobulara, ciroza se dezvolta in 82% din cazuri. Frecventa remisiunii (86%) si esecul terapeutic (14%) sunt comparabile la pacientii cu si fara ciroza in momentul prezentarii la medic. Important, prezenta cirozei nu influenteaza supravietuirea la

10 ani (90%) si acesti pacienti necesita o strategie terapeutica agresiva similara (Geall 1968; Soloway 1972).

Aproape jumatate din copii cu AIH au deja ciroza in momentul diagnosticului. Dupa o perioada de monitorizare pe termen lung, s-a observat ca o mica parte dintre copii isi pot intrerupe complet intreg tratamentul si in jur de 70% dintre copii primesc tratament pe termen lung (Gregorio 1997; Homberg 1987). Majoritatea acestor pacienti au o recadere in momentul intreruperii tratamentului sau in cazul reducerii dozei de medicamente imunosupresive. Aproximativ 15% din pacienti dezvoltata insuficienta hepatica cronica si necesita transplant inainte de varsta de 18 ani.

La pacientii mai in varsta, s-a raportat o clasificare histologica initiala mai severa, dar frecventa cirozei pare sa nu difere de cea a pacientilor tineri. La reexaminare, aproximativ 30% din pacienti dezvoltata ciroza. Raspunsul la medicatia imunosupresoare este similar la pacientii in varsta comparativ cu cei tineri si 90% din pacientii in varsta obtin remisiune completa. Totusi, intr-un studiu realizat in UK 41% din pacientii in varsta cu AIH au primit terapie non-imunosupresiva si prognosticul nu a parut a fi mai sever comparativ cu pacientii tineri, de obicei tratati (Newton 1997).

Riscul de carcinom hepatocelular variaza considerabil intre PBC, PSC si AIH. In mod particular, PCS se poate complica cu colangiocarcinom, carcinom de vezica biliara si carcinom hepatocelular. In contrast, aparitia HCC este rara la pacientii cu AIH si se dezvoltata doar in cazul prezentei unei ciroze vechi.

Terapia AIH

In cazul AIH, indicatia pentru tratament se bazeaza pe activitatea inflamatorie si mai putin pe prezenta cirozei. In absenta activitatii inflamatorii, tratamentul imunosupresiv are efecte limitate.

Independent de tipurile definite clinic sau imunoserologic ale AIH, tratamentul consta din predniso(lo)n administrat singur sau in combinatie cu azatioprina. Ambele strategii terapeutice sunt eficiente (Manns 2001). Utilizarea prednisonului sau a metabolitului sau prednisolonul este la fel de eficienta, deoarece boala hepatica cronica pare sa nu aiba un efect asupra sintezei prednisolonului din prednison. Importanta este diferentierea exacta intre infectia virala si hepatita autoimuna. Tratamentul hepatitei virale replicative cu corticosteroizi nu trebuie sa fie permis la fel ca administrarea interferonului in cazul AIH, care poate conduce la o exacerbare dramatica a bolii.

Exista indicatie pentru tratament daca transferazele sunt crescute de 2 ori, nivelurile gamaglobulinelor sunt crescute de 2 ori si histologia indica hepatita periportala moderata spre severa. Simptomele de fatigabilitate severa sunt de asemenea o indicatie de tratament. O indicatie absoluta de tratament exista in cazurile cu cresteri de 10 ori sau mai mult ale transferazelor, semne histologice de inflamatie severa si necroza si progresia bolii.

Regimurile terapeutice si examinarile recomandate sunt sumarizate in Tabelul 7. Terapia este de obicei administrata pe o perioada de 2 ani. Decizia de a aplica monoterapie sau terapie combinata este ghidata de consideratii de principiu: terapia cu steroizi pe termen lung conduce la efecte secundare de tip cushingoid. Aceste

efecte secundare vizibile scad considerabil complianta pacientului. Complicatii serioase precum diabetul indus de steroizi, osteopenia, necroza osoasa aseptica, simptome psihiatrice, hipertensiune si cataracta trebuie de asemenea anticipate in cazul tratamentului de lunga durata. Efectele secundare se observa la 44% din pacienti dupa 12 luni de tratament si la 80% din pacienti dupa 24 de luni. Monoterapia cu predniso(lo)n poate fi administrata la femeile insarcinate. Pe de alta parte, azatioprina conduce la o scadere a dozei de prednison. Prezinta un risc teoretic de teratogenitate. In plus, pot fi intalnite: disconfort abdominal, stari de greata, hepatita colestatica, rash si leucopenia. Aceste efecte secundare sunt intalnite la 10% din pacientii ce primesc o doza de 50 mg pe zi. In general vorbind, o femeie aflata in perioada post-menopauza si care prezinta osteoporoza, hipertensiune si un nivel crescut al glucozei din sange, reprezinta un candidat pentru terapia combinata. In cazul femeilor cu potential fertil, al femeilor gravide sau al pacientilor cu anomalii hematologice, monoterapia cu prednison poate fi strategia terapeutica aleasa.

Tratamentul se incepe conform schemei din Tabelul 7. O administrare stricta este esentiala deoarece cele mai multe cazuri de recidiva sunt rezultatul unor schimbari neprevazute ale medicatiei si/sau ale dozei. Reducerea dozei are ca scop obtinerea unei doze de intretinere tolerabila. Deoarece rezultatele analizelor histologice sunt cu 3 pana la 6 luni in urma normalizarii parametrilor serici, terapia trebuie continuata dupa normalizarea nivelurilor transferazelor. De obicei, dozele de predison de intretinere variza intre 10 si 25 mg. Dupa 12-24 luni de terapie, doza de predniso(lo)n poate fi redusa pe parcursul a 4-6 saptamani pentru a verifica daca s-a obtinut remisiunea sustinuta. Reducerea schemelor trebuie efectuata cu multa precautie si numai dupa obtinerea unei biopsii hepatice care sa ateste o incetare completa a activitatii inflamatorii. Recidiva hepatitei autoimune si riscul de progresie spre fibroza au loc in aproape toate cazurile, atunci cand doza de medicatie imunosupresiva este micorata existand inca inflamare reziduala evidentiata histologic.

	<u>A. monoterapie</u>	<u>B. terapie combinata</u>
Predniso(lo)n	60 mg Reducere in 4 sapt la doza de intretinere de 20 mg sau mai putin	30 mg Reducere in 4 sapt la doza de intretinere de 10 mg sau mai putin
Azatioprina	n.a.	50 mg
	(intretinere cu azatioprina: monoterapie: 2 mg/kg greutate corporala)	
	<u>dupa atingerea remisiunii (durata tratamentului 12-24 luni, analize de histologie, evitati reducerea prematura):</u>	
Predniso(lo)n	Reducerea dozei zilnice cu 2.5 mg pe saptamana	
Azatioprina	n.a.	Reducere: 25 mg la fiecare 3 saptamani

Examinare	Inainte de terapie	In timpul terapiei Inainte de remisiune la ficare 4 saptamani	Remisiune sub terapie la ficare 3-6 luni	Incetarea terapiei la ficare 3 saptamani (x4)	Remisiune post-terapie la ficare 3-6 luni	Evaluarea recidivei
Fizic	+		+	+	+	+
Biopsie hepatica	+		(+/-)			+
Hemograma	+	+	+	+	+	
Transferaze	+	+	+	+	+	+
Gamaglutamil transferaza	+	+	+			
Gamaglobulina	+	+	+	+	+	+
Bilirubina	+	+	+	+	+	+
Teste de coagulare	+	+	+	+	+	
Autoanticorpi	+	+/-				+
Teste ale functiei tiroidei	+	+/-				+

n.a. – nu se aplica. La pacientii in varsta, cu activitate inflamatorie scazuta, indicatia de tratament trebuie luata in considerare impreuna cu efectele secundare- pentru multi din acesti pacienti este mai indicat sa ramana netratati. Tabelul reflecta abordarea Mayo (Manns 2001). In experienta noastra, monoterapia cu prednison, incepand cu 50 mg si reducand cu 10 mg la ficare 10 zile pana la o doza de intretinere de 15 pana la 20 mg; si alternativ, terapia combinata cu 1 mg/kg greutate corporala de azatioprina timp de 3 saptamani si reducere la 50 mg zilnic impreuna cu terapia cu prednison redusa la 10 mg zilnic, este la fel de eficace. (Manns 2001). Nu exista dovezi publicate ale avantajelor unei scheme de reducere individuala, fiind folosite diferite scheme terapeutice de reducere si de dozaj in diferite centre. In cazul pacientilor tineri, fara simptome severe si cu activitate inflamatorie scazuta (biopsie, ALT < 5x limita superioara a normalului), tratamentul poate fi inceput cu doze de intretinere.

Tabel 7. Schema de tratament si examinarile necesare pentru monitorizarea hepatitei autoimune indiferent de tipul autoanticorpilor.

Cele patru rezultate: remisiune, recidiva, esec al tratamentului si stabilizare

Remisiunea reprezinta o normalizare completa a tuturor parametrilor inflamatori, inclusiv ai celor histologici. Aceasta se atinge la 65% dintre pacienti, dupa 24 luni de tratament. Remisiunea poate fi sustinuta prin monoterapia cu azatioprina de 2 mg/kg greutate corporala (Johnson 1995). Aceasta previne efectele secundare de natura cushingoida. Totusi, au fost observate efecte secundare precum artralgiile (53%), mialgiile (14%), limfopenia (57%) si mielosupresia (6%).

Recidiva este caracterizata de o crestere de 3 ori a nivelurilor transferazelor si de reaparitia simptomelor clinice. Recidiva se observa la 50% dintre pacienti, in interval de 6 luni de la incetarea tratamentului si la 80% dupa 3 ani. Recidiva este asociata cu progresie spre ciroza la 38% dintre pacienti si cu insuficienta hepatica la 14% dintre acestia. Aparitia recidivei necesita reinceperea terapiei standard si,

probabil, administrarea pe termen lung a unei doze de intretinere cu predniso(lo)n sau a monoterapiei cu azatioprina.

Esecul terapeutic este caracterizat de o progresie a parametrilor clinici, serologici si histologici pe durata terapiei standard. Acest lucru se observa la aproximativ 10% dintre pacienti. In aceste cazuri, diagnosticul de AIH trebuie atent regandit pentru a exclude alte etiologii de hepatita cronica. In cazul acestor pacienti se pot administra scheme experimentale; altfel, va fi necesar un transplant hepatic.

Stabilizarea reprezinta atingerea remisiunii partiale. Deoarece 90% dintre pacienti ating remisiunea in interval de 3 ani, beneficiul terapiei standard trebuie reevaluat la acest subgrup de pacienti. Transplantul hepatic reprezinta o optiune decisiva de tratament pentru acest grup.

Daca tratamentul standard esueaza sau apare o intoleranta la medicament, se pot lua in considerare terapii alternative precum ciclosporina, tacrolimus, ciclofosfamida, micofenolatul mofetil, rapamicina, UDCA si budesonidul. Eficacitatea acestor optiuni nu a fost clar definita.

Budesonidul este un steroid sintetic, cu un intens metabolism hepatic de prima trecere, care, in comparatie cu steroizii conventionali, ar trebui sa limiteze efectele secundare sistemice. Intr-un studiu in care 13 pacienti cu AIH primesc budesonid pe o perioada de 9 luni, medicamentul a fost bine tolerat, iar valorile transferazelor s-au normalizat (Danielson 1994). Experinta noastra a confirmat ca budesonidul este eficient, insa nu are alt avantaj fata de steroizii conventionali atunci cand sunt prezente ciroza si sunturile porto-sistemice (Schüler 1995). Cu toate acestea, intr-un studiu mai recent, terapia cu budesonid a fost asociata cu o frecventa scazuta a remisiunii si cu o incidenta crescuta a efectelor secundare (Czaja 2000). Avantajul principal al budesonidului pentru tratamentul viitor al hepatitei autoimune poate fi reprezentat de inlocuirea prednisonului in terapia de intretinere pe termen lung, pentru a reduce efectele secundare ale steroizilor. Beneficiul potential al budesonidului este evaluat in momentul de fata in cadrul unor studii clinice.

Deflazacortul a fost propus ca un corticosteroid alternativ pentru imunosupresie, avand mai putine efecte secundare decit glucocorticoizii conventionali. Intr-un studiu recent, 15 pacienti cu AIH de tip I, carora li s-a administrat anterior prednison cu sau fara azatioprina, au primit deflazacort pana la obtinerea remisiunii biochimice. Remisiunea a fost mentinuta pe o perioada de 2 ani de monitorizare. Totusi, sunt necesare studii controlate suplimentare pentru a analiza rolul pe termen lung al corticoizilor de generatia a doua in sustinerea remisiunii la pacientii cu AIH, cu efecte secundare reduse legate de tratament (Rebollo, 1999).

Ciclosporina A (CyA) este un peptid ciclic lipofilic de 11 aminoacizi produs de *Tolypocladium inflatum*, care actioneaza asupra cailor de semnalizare dependente de calciu si inhiba functia celulelor T prin gena interleukinei 2. Pana in prezent, dintre toti agentii alternativi, cele mai bune rezultate au fost obtinute cu ajutorul CyA. CyA a fost folosita cu succes in tratamentul AIH si a fost bine tolerata (Alvarez 1999; Debray 1999). Principala problema in ceea ce priveste folosirea pe scara larga a CyA, ca tratament de prima linie, este legata de profilul sau de toxicitate, mai ales in cazul administrarii pe termen lung (risc crescut de hipertensiune, insuficienta renala, hiperlipidemie, hirsutism, infectii si malignitate) (Alvarez 1999; Debray 1999; Frazer 1985; Heneghan 2002).

Tacrolimus este un compus din grupa macrolidelor lactone cu proprietati imunosupresive care le depasesc pe cele ale CyA. Mecanismul de actiune este asemannator cu cel al CyA, insa tacrolimus se leaga la o imunofilina diferita. Administrarea de tacrolimus la 21 pacienti, care au primit tratament timp de un an, a condus la o ameliorare a nivelurilor transferazelor si bilirubinei, cu o usoara crestere a nivelurilor de creatinina si uree serica (Van Thiel 1995). Desi tacrolimus se prezinta ca un medicament imunosupresiv promitator, pentru a-i evalua rolul in cadrul terapiei AIH sunt necesare studii clinice randomizate mai ample.

Micofenolatul a atras atentia ca un imunosupresor de transplant, cu un rol important in terapia imunosupresoare fara steroizi la pacientii cu transplant pentru hepatita cronica C. Micofenolatul este un inhibitor non-competitiv al inozin monofosfat dehidrogenazei, care blocheaza etapele enzimatice cheie ale sintezei *de novo* a purinei. Micofenolatul are o actiune selectiva asupra activarii limfocitelor, determinand o reducere pronuntata a proliferarii atat a limfocitelor T cat si a limfocitelor B. Intr-un studiu pilot recent, 7 pacienti cu AIH de tip 1, care fie nu au tolerat azatioprina, fie nu au raspuns la terapia standard cu o normalizare completa a nivelurilor transferazelor, au primit micofenolat pe langa steroizi. In cazul a 5 pacienti din 7, normalizarea nivelurilor transferazelor s-a atins in termen de 3 luni. Aceste date preliminare sugereaza ca micofenolatul poate reprezenta un alt tratament promitator (Richardson 2000).

A fost raportata inducerea remisiunii cu ajutorul unei doze de ciclofosfamida de 1-1.5 mg/kg/zi in combinatie cu steroizi. Totusi, necesitatea administrarii continue de ciclofosfamida, impreuna cu potentialele sale efecte secundare hematologice severe, face ca aceasta sa reprezinte o optiune terapeutica inca in dezvoltare (Kanzler 1996).

Acid ursodezoxicolic este un acid biliar hidrofil, cu proprietati imunomodulatorii recunoscute. Se presupune ca acesta modifica exprimarea antigenului HLA de clasa I pe suprafetele celulare si ca inhiba producerea imunoglobulinelor. Studii clinice necontrolate au demonstrat o reducere a anomaliilor histologice, o ameliorare clinica si biochimica, insa nu s-a observat o reducere a fibrozei la 4 pacienti cu AIH de tip 1 (Calmus 1990; Czaja 1999; Nakamura 1998). Rolul sau in terapia AIH sau in combinatie cu terapia imunosupresoare este inca neclar.

Transplantul hepatic in AIH

La aproximativ 10% dintre pacientii cu AIH, transplantul hepatic ramane singura optiune care le poate salva viata. Indicatia pentru transplant hepatic in AIH este asemanatoare cu cea pentru alte boli hepatice cronice si include deteriorarea clinica, dezvoltarea cirozei, varice esofagiene sangerande si anomalii de coagulare in ciuda unei terapii imunosupresoare adecvate (Ahmed 1997; Neuberger 1984; Prados 1998; Sanchez-Urdazpal 1991; Tillmann 1999; Vogel 2004). Nu exista un singur indicator sau predictor care sa confirme necesitatea transplantului hepatic. Candidatii pentru transplant hepatic sunt, de obicei, pacienti care nu ating remisiunea dupa 4 ani de tratament continuu. Indicatorii unei rate inalte a mortalitatii asociata cu insuficienta hepatica sunt necroza multilobulara evidentiata histologic si hiperbilirubinemia progresiva. In Europa, 4% din cazurile de transplant hepatic sunt pentru AIH (European Liver Transplant Registry 1996). Rezultatele pe termen lung ale transplantului hepatic ca urmare a AIH sunt foarte bune. Rata de

supravietuire la 5 ani este de pana la 92% (Prados 1998; Rea 2005; Sanchez-Urdazpal 1991) si se incadreaza foarte bine in intervalul pentru alte indicatii de transplant hepatic.

Posibilitatea ca AIH sa repara dupa transplantul hepatic este inca o problema in dezbatere. Primul caz raportat de AIH recurenta, dupa un transplant hepatic (Neuberger 1984) a avut la baza analize de biochimie serica, anomalii la biopsie si reducerea steroizilor. Studiile arata ca rata recurentei AIH variaza intre 10% si 35% si ca riscul de recurenta a AIH este de aproximativ 68% la 5 ani (Devlin 1995; Götz 1999; Manns 2000; Milkiewicz 1999; Vogel 2004; Wright 1992). Este important sa se ia in considerare criteriile pe baza carora este pus diagnosticul de AIH recurenta. Este posibil ca multi pacienti cu semne histologice usoare de AIH recurenta sa nu fie diagnosticati atunci cand nivelul transaminazelor este ales drept parametru practic de selectie. De aceea este indicat ca toti pacientii suspectati de hepatita autoimuna recurenta sa efectueze o biopsie hepatica, analize de biochimie a nivelurilor transferazelor, precum si o determinare a titrurilor de imunoglobuline si anticorpi (Vogel 2004). Factori de risc semnificativi pentru recurenta AIH nu au fost inca identificati, desi se pare ca prezenta insuficientei hepatice fulminante inainte de transplant ofera protectie impotriva dezvoltarii bolii recurente. Un potential factor de risc pentru dezvoltarea AIH recurente este prezenta antigenelor HLA specifice care pot determina o predispozitie catre o imunoreactivitate mai severa. In cadrul a doua studii, recurenta AIH a avut o frecventa mai ridicata la pacientii pozitivi HLA DR3, care au primit grefe HLA DR3 negativ. Totusi, aceasta asociere nu a fost confirmata in toate studiile. Este interesant ca nu exista date clare care sa sustina ipoteza ca o schema imunosupresoare specifica reprezinta un factor de risc pentru dezvoltarea AIH recurente. Cu toate acestea, datele arata ca pacientii care au primit transplant pentru AIH necesita tratament continuu cu steroizi in 64% din cazuri fata de 17% din cazuri pentru pacientii care primesc transplant hepatic ca urmare a altor afectiuni. Pe baza acestor rezultate si a altor studii, apare ipoteza ca mentinerea medicatiei cu steroizi la pacientii cu AIH este indicata pentru a preveni nu numai rejectia celulara ci si recurenta AIH care sa ameninte grefa (Vogel 2004). De aceea, incetarea administrarii steroizilor trebuie efectuata cu precautie. Pe langa recurenta AIH, s-a raportat dezvoltarea hepatitei autoimune *de novo* dupa transplantul hepatic (Kerker 1998).

Autoanticorpii serici sunt o parte integranta a diagnosticului de hepatita autoimuna. Prevalenta si titrurile autoanticorpilor au fost studiate la pacientii care au primit transplant hepatic pentru hepatita autoimuna si ciroza biliara primara. In general, tipurile de autoanticorpi se pastreaza la majoritatea pacientilor dupa transplant. In ciroza biliara primara anticorpii antimitocondriali s-au mentinut, desi la titruri reduse, la aproape 100% dintre pacienti, fapt confirmat mai tarziu de mai multe grupuri de cercetare (Gouw 1994). In AIH, autoanticorpii de subtip specifici, prezenti inainte de transplant, au fost detectati intr-un studiu post-transplant, la titruri scazute, la 77% din pacienti si la 82% dintre acei pacienti care nu au dezvoltat recurenta a AIH. Un studiu recent sugereaza ca o crestere a titrurilor care depaseste nivelurile detectate inainte de transplant poate indica o recurenta a AIH. Majoritatea datelor publicate si experienta noastra nu sustin un rol prognostic al autoanticorpilor in cazul AIH si transplantului hepatic (Vogel 2004).

Ciroza biliara primitiva (PBC)

Introducere

Ciroza biliara primitiva (primary biliary cirrhosis - PBC) este definita ca boala hepatica inflamatorie cronica insotita de colestaza, de etiologie necunoscuta, totusi aparitia concomitenta a unor simptome si fenomene autoimune sugereaza totusi etiologia autoimuna, cu atat mai mult cu cat in cursul evolutiei sale sunt descrise distrugerii progresive si ireversibile ale ductelor biliare mici interlobulare si septale (Tabel 8).

90% sex femin varsta 40-59 ani prurit icter pigmentari tegumentare cresterea valorilor serice ale: fosfatazei alcaline (APL), aspartataminotransferazei (AST), bilirubinei, IgM anticorpi antimitocondriali (AMA) asociate frecvent si alte sindroame imune pe biopsia hepatica <ul style="list-style-type: none">• infilltrate celulare ale ductelor biliare• posibil granuloame• depozite de cupru

Tabel 8. Profilul clinic sugestiv pentru ciroza biliara primitiva (PBC).

Ca si alte boli autoimune, PBC afecteaza mai frecvent femeile (peste 90% din cazuri) si este asociata des cu variate sindroame imune extrahepatice (pana la 84% din cazuri) care includ sindromul sicca – cu xerofthalmie si xerostomie, boli de colagen, tiroidita autoimuna, glomerulonefrita si colita ulcerosa (Tabel 9).

- sindromul “sicca”
- sindromul Sjögren
- artrita reumatoida
- tiroidita autoimuna
- acidoza renala tubulara
- boala mixta de tesut conjunctiv (MCTD)
- polimiozita
- polimialgia reumatica
- fibroza pulmonara
- sindromul CREST
- lupus eritematos sistemic (SLE)
- anemia pernicioasa
- colita ulcerosa
- insuficienta pancreatica exogena
- miastenia gravis

Tabel 9. Sindroame imune extrahepatice si boli reumatice asociate frecvent cu PBC

Predominanta la sexul feminin (Donaldson 1996; Mackay 1997; Uibo 1999) si agregarea familiala a cazurilor de PBC (Jones 1999; Kato 1981; Tsuji 1999) sugereaza implicarea factorilor genetici in etio-patogenia bolii (Strassburg 2000), unele studii indicand o instabilitate a ADNului limfocitar la pacientii cu ciroza biliara primitiva (Notghi 1990). Totusi, testele imunogenetice nu indica decat asocieri nesemnificative cu haplotipuri specifice ale HLA, PBC parand a fi asociat cu HLA 2 DR8 si cu o combinatie a DR8 cu o alela nula pentru factorul C4A al complementului: C4AQ0 (Donaldson 1996; Manns 1991; Mehal 1994; Onishi 1994). Este studiat in continuare rolul genei pentru TNF α sau polimorfismul promoterului ei in etiologia PBC (Donaldson 1999; Gordon 1999), ca si rolul jucat de antigenul 4 al limfocitelor T citotoxice (CTLA-4) ca factor de risc in dezvoltarea cirozei biliare primitive. Din aceste considerente, baza genetica a PBC este apreciata a fi heterogena si poligenica, iar asocierea in afara factorilor ce tin de gazda si a unor factor ambientali este studiata ca mecanism trigger de declansarea a PBC.

Definitie si prevalenta PBC

Ciroza biliara primitiva este o boala inflamatorie cronica mediata in principal de limfocitele T citotoxice si reprezentata la nivel microscopic prin distructia ductelor biliare intrahepatice de etiologie necunoscuta (Strassburg 2000). Boala afecteaza prevalent femeile (90% dintre cazuri) si este insotita din punct de vedere paraclinic de cresterea imunoglobulinei M serice, prezenta de anticorpi antimitocondriali cu specificitate pentru subunitatea E2 a piruvatdehidrogenazei (PDH-E2), profil al enzimelor serice de tip colestaza hepatica (cresterea valorilor serice ale fosfatazei alcaline, gamma glutamitranspeptidazei si bilirubinei) si evolutie spre ciroza hepatica in decurs de ani sau decade. O caracteristica importanta este asocierea cu sindroame imune extrahepatice ca tiroidita autoimuna, sindromul “sicca”, artrita reumatoida, colita ulcerosa si, mai rar, boala celiaca si sindromul CREST,

manifestarile extrahepatice precedand, de obicei, boala hepatica. In stadii tardive se instaleaza astenie marcata, prurit, hiperbilirubinemie si semnele hipertensiunii portale (ascita, varice esofagiene, encefalopatie) (Strassburg 2004).

Prevalenta PBC este estimata la 65/100.000 la femei si 12/100.000 la barbati, cu o incidenta de 5/100.000 la femei si 1/100.000 la barbati, cifre care variaza regional, iar cresterea incidentei bolii in ultimii ani ar putea fi rezultatul testarii mai eficiente pentru anticorpi antimitocondriali (Strassburg 2004).

Fiziopatologia PBC

Distructia progresiva a ductelor biliare mediata de limfocitele T este evidentiata pe biopsia hepatica prin infiltrate inflamatorii pericolangiolare constituite din limfocite, plasmocite, eozinofile si macrofage, asociate cu granuloame. Omologia dintre piruvatdehidrogenaza PDH-E2 a bacteriei *E. coli* si PDH-E2 umana (acesta fiind autoantigenul major recunoscut de anticorpii antimitocondriali la pacientii cu PBC) si implicarea HLA-A ar putea sugera simularea antigenica ca mecanism de aparitie a autoimunitatii. In culturi celulare limfocitele pacientilor cu PBC exprima intens autoantigenul PDH-E2 pe suprafata colangiocitelor sugerand factori transmisibili, iar asocierea unui rezervor de apa infectata din Anglia cu un cluster de pacienti cu PBC poate sugera etiologia infectioasa in care par implicate atat colonii R de *E.coli* (rugoase), cat si alte specii bacteriene si virale. Totusi, pana in prezent nu sunt inca elaborate concluzii finale reproductibile pentru etiopatogenia cirozei biliare primitive.

Principii de diagnostic pentru PBC

Suspiciunea de PBC este ridicata de aparitia colestazei si a cirozei la o femeie de varsta mijlocie (Figura 6), prima etapa implicand un examen echografic pentru excluderea diagnosticului de colestaza mecanica. Prezenta de anticorpi antimitocondriali (AMA) indreptati impotriva PDH-E2 pune diagnosticul de PBC si, in plus, AMA cu specificitate pentru subunitatea E2 a componentelor membranei interne mitocondriale care exprima complexul oxoacid dehidrogenazei (piruvatdehidrogenaza - PDH, cetoacid dehidrogenaza cu lant ramficat - BCKD si cetoglutarat dehidrogenaza - KD) sunt prezenti la aprox. 95% dintre pacientii cu PBC. La pacientii care nu prezinta AMA pot aparea anticorpi antinucleari cu specificitate pentru antigenul nuclear dot (SP100), o proteina din membrana nucleara cu greutate moleculara de 210 kDa (gp210), denumita si nucleoporina p62; la pacientii cu PBC si AMA-negativi este indicata realizarea unei biopsii hepatice pentru stabilirea diagnosticului, la pacientii cu AMA-pozitivi indreptati impotriva PDH-E2 histologia hepatica nu este utilizata in scop diagnostic, ci doar in vederea stadializarii leziunilor de ciroza hepatica (Strassburg 2004).

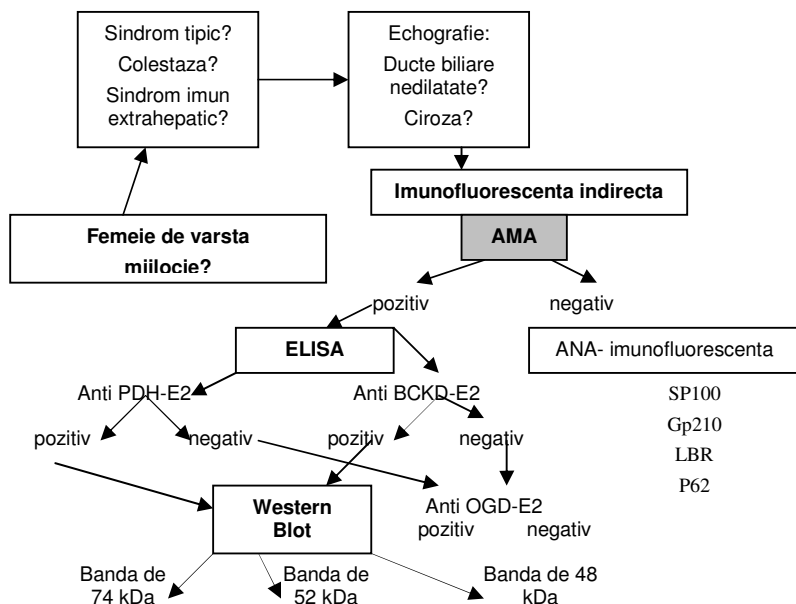


Figura 6. Algoritm de diagnostic pentru PBC cuprinzand datele clinice, examenul echografic si serologie.

Anticorpii antimitocondriali in PBC

In ciroza biliara primitiva se crede ca agresiunea asupra ductelor biliare intra-hepatice mici este mediata de mecanisme celulare, iar acest proces este principalul factor implicat in fiziopatologia PBC (Joplin 1999; Lohr 1993; Van Hoogstraten 2000). In timp ce autoimunitatea celulara este procesul definitoriu care afecteaza supravietuirea pacientului si functia sa hepatica, autoimunitatea umorala este principalul marker in diagnosticarea acestei boli. Prezenta unor titruri mari de AMA a fost descrisa pentru prima data in anul 1958 (Mackay 1958), in 1967 antigenul tinta al AMA a fost localizat la nivelul membranei mitocondriale interne si denumit M2 (Berg 1967), iar in 1985 cercetarile suplimentare au condus la subimpartirea acestuia in fractiuni antigenice individuale cu greutate moleculara cuprinsa intre 36 si 74 kDa (Berg 1986; Frazer 1985; Ishii 1985; Lindenborn-Fotinos 1985; Manns 1987; Manns 1982). Clonarea moleculara a antigenului cu greutate moleculara 74 kDa a condus la identificarea complexului multiproteic cetoacid dehidrogenazei (OADC), ca autoantigen major al AMA asociati PBC (Gershwin 1987). Autoanticorpii ce actioneaza impotriva componentelor OADC reprezinta acei autoanticorpi definiti anterior ca autoanticorpi anti-M2. Acesti AMA sunt specifici pentru ciroza biliara primitiva si pot fi diferentiati de AMA nespecifici utilizand metode seroimunologice (Tabel 10).

		kDa	cazuri	clasificare-M veche
<u>PIRUVAT- DEHIDROGENAZA (PDH)</u>				
PDH-E2	(Piruvat decarboxilaza)	74	95%	M2 a
PDH-E1 α	(Piruvat decarboxilaza)	41	41-66%	M2 d
PDH-E1 β	(Piruvat decarboxilaza)	36	2-7%	M2 e
Proteina X	(Componenta lipoida a PDH)	52	95%	M2 c
<u>CETOACID DEHIDROGENAZA CU LANT RAMIFICAT (BCKD)</u>				
BCKD-E2	(Aciltransferaza)	50	53-55%	M2 c
BCKD-E1 α	(Acildecaboxilaza)	46	?	
BCKD-E1 β	(Acildecaboxilaza)	38	?	
<u>CETOGLUTARAT DEHIDROGENAZA (KGD)</u>				
KGD-E2	(Succiniltransferaza)	48	39-88%	M2 c
KGD-E1	(Cetoglutarat decarboxilaza)	110	low	
E3	(Lipoamid dehidrogenaza)	55	38%	M2 c

Tabel 10. Clasificarea si heterogenitatea autoantigenelor mitocondriale (modificat conform Gershwin 1991).

AMA cu specificitate pentru complexul antigenic cetoacid dehidrogenaza (OADC)

OADC este format din trei antigene majore: piruvat dehidrogenaza (PDH), cetoacid dehidrogenaza cu lant ramificat (BCKD) si cetoglutarat dehidrogenaza (OGD) (Strassburg 2000) (Tabel 3). Fiecare enzima este alcatuita la randul sau din trei subunitati, cu activitati enzimatice individuale: E1 (decarboxilaza), E2 (dihidrolipoamid aciltransferaza) si E3 (lipoamid dehidrogenaza) (Tabel 10).

La 95% din pacientii cu PBC din America de Nord si Europa si la 65% din pacientii cu PBC din Japonia, AMA actioneaza impotriva subunitatii E2 a PDH (PDH-E2). PDH-E2 reprezinta autoantigenul cu greutate moleculara 74 kDa identificat primul ca parte a fractiunilor antigenului M2. AMA apartin in principal clasei de imunoglobuline IgM, dar sunt detectati in mod obisnuit si autoanticorpi de clasa IgA, IgG1 si IgG3. Analize suplimentare ale serurilor pacientilor cu PBC au demonstrat ca in 53-55% din cazuri acestea reactioneaza cu subunitatea E2 a BCKD (BCKD-E2), care corespunde cu fostul antigen cu greutate moleculara 52 kDa al M2. In plus, 39-88% dintre serurile PBC prezinta autoanticorpi directionati impotriva subunitatii E2 a OGD (OGD-E2), ce corespunde componentei cu greutate moleculara 48 kDa a M2. Reactivitatea acestor trei subtipurii ale AMA specifici pentru PBC prezinta cateva caracteristici comune: reactioneaza predominant cu epitopii subunitatii E2 in toate cele trei cazuri, epitopii recunoscuti sunt de marimi

considerabile si conformational-dependenti si sunt localizati in domeniul lipoil al moleculei. Pana in prezent, au fost caracterizati epitopii pentru PDH-E2 (93 aminoacizi) (Gershwin 1991; Van De Water 1988), BCKD-E2 (227 aminoacizi) (Leung 1995) si OGD-E2 (81 aminoacizi) (Moteki 1996). In 60% din cazuri, autoanticorpul impotriva PDH-E2 apar impreuna cu autoanticorpul anti-BCKD-E2, iar la aproximativ 10-20% din pacientii cu PBC autoanticorpul anti-BCKD-E2 sunt detectati singuri, semnificatia acestora nefiind clara.

Autoanticorpul ce actioneaza impotriva altor componente ale OADC sunt de importanta minora pentru diagnostic. Autoanticorpul anti-PDH-E1 α au fost detectati la 41-66% din pacientii cu PBC si reprezinta un indicator serologic al coexistentei sclerozei sistemice multiple (Fujimoto 1995). Totusi, acest test nu este folosit de rutina. Au fost descriși autoanticorpul impotriva proteinei X, un antigen cu greutate moleculara 56 kDa, dar s-au dovedit a fi cross-reactivi cu anticorpul PDH-E2 (Leung 1996; Palmer 1999).

La 89% din pacientii cu PBC, anticorpul antimitocondrial au fost detectati, de asemenea, in secretia biliara. Acestia actionau impotriva PDH-E2 (79%), BCKD-E2 (32%) si OGD-E2 (5%) si au fost intotdeauna identificati atunci cand anticorpul antimitocondrial cu aceeasi reactivitate erau si ei prezenti in ser (Nishio 1997). Aproape jumătate din acesti AMA biliari au fost de subtip IgA, care actioneaza impotriva acelorasi epitopi ca si AMA serici. Este interesant ca prezenta antigenelor PDH-E2, BCKD-E2 si OGD-E2 a fost detectata in secretia biliara a pacientilor cu PBC, ceea ce arata ca raspunsul umoral la acesti pacienti poate fi determinat de antigen, fie de catre antigenul OADC, fie de proteine cu cross-activitate fata de acesta. AMA de subtip IgA, exprimarea antigenului PDH-E2 (sau a unui antigen cross-reactiv) pe celulele epiteliale biliare (Joplin 1995; Leung 1996) la pacientii cu PBC poate sa indice faptul ca PBC ar putea reprezenta un tip de afectiune a mucoasei. AMA si PDH-E2 sau antigenele cu reactivitate incrucisata sunt detectati, de asemenea, in saliva pacientilor cu PBC, ceea ce ar putea constitui o dovada in plus pentru aceasta ipoteza (Reynoso-Paz 2000). Identificarea AMA in saliva si secretia biliara nu face parte din determinarile de rutina pentru AMA la pacientii cu PBC, iar importanta lor pentru diagnostic este necunoscuta.

AMA specifici pentru boli autoimune non PBC

In timp ce AMA care reactioneaza cu OADC din membrana mitocondriala interna sunt specifici pentru PBC, un anumit numar de AMA se observa si in afectiunile extrahepatice. Cu ajutorul centrifugarii diferite a antigenelor mitocondriale a fost stabilit un sistem de antigene mai elocvent, alcatuit din 9 fragmente (M1-M9, M2 contine antigene OADC) (Berg 1986). Aceasta nomenclatura cuprinde antigene inca neidentificate ale membranei mitocondriale interne (M1, M2, M5a, M7) si ale membranei mitocondriale externe (M3, M4, M5b, M6, M8, M9). Autoanticorpul anti-M1 (anti-cardiolipina) au fost identificati in cazul sifilisului, cei anti-M7 actionand impotriva sarcosin dehidrogenazei in miocardita acuta, autoanticorpul anti-M3 in lupusul indus medicamentos de venocuran, cei anti-M6 in hepatita indusa medicamentos cu iproniazida si autoanticorpul anti-M5 au fost intalniti la un numar de pacienti cu boli de colagen (Berg 1995).

Valoarea prognostica a acestei clasificari a autoanticorpilor pe baza reactivitatii fata de fragmente de antigen este controversata (Klein 1991; Klein 1997). S-a sugerat ca

autoanticorpii anti-M4 si anti-M8 sunt indicatori ai unei evolutii mai severe a PBC, care necesita transplant timpuriu. S-a sugerat, de asemenea, ca autoanticorpii anti-M4 actioneaza impotriva sulfitei oxidazei (Klein 1991) iar autoanticorpii M9 impotriva glicogen fosforilazei (Berg 1995), fapt neconfirmat de alti autori (Davis 1992 ; Palmer 1993). In prezent, semnificatia prognostica a AMA cu specificitate fata de antigenele M ramane incerta.

Rolul AMA in diagnosticul PBC

Scopul principal al determinarilor AMA este detectarea AMA specifici pentru PBC si excluderea AMA nerelevanti pentru diagnosticul bolii. Ca test screening, se determina AMA prin teste de imunofluorescenta indirecta pe sectiuni la criostat de rinichi de soarece sau pe celule Hep.2 imobilizate (Strassburg 1999). Testele de imunofluorescenta indirecta pe sectiuni de rinichi de soarece determina coloratia tubulilor distali si proximali (nota: coloratia proximala indica numai prezenta anticorpilor microzomali hepatici/renali, LKM). Atunci cand se obtine un rezultat pozitiv la testul de imunofluorescenta, o analiza suplimentara ar trebui sa includa o subclasificare utilizand reactivitatea fata de preparatele antigenice moleculare. Detectarea PDH-E2, BCKD-E2 poate fi realizata prin testul ELISA folosind antigen recombinant sau seruri de referinta. Daca in ambele cazuri se obtine un rezultat negativ, testarea ar trebui sa includa OGD-E2. In ultima etapa se realizeaza testul de confirmare Western Blot, cu ajutorul acestuia se pot vizualiza benzile indicatoare pentru 74 kDa (PDH-E2), 52 kDa (BCKD-E2) si 48 kDa (OGD-E2). Aceasta schema pe mai multe etape asigura un diagnostic obiectiv si sigur al AMA specifici PBC, excluzand anticorpii antimitocondriali identificati in bolile infectioase si cele induse medicamentos.

In majoritatea cazurilor, determinarea anticorpilor anti-PDH-E2 este suficienta pentru confirmarea diagnosticului. Studiile viitoare vor trebui sa evalueze daca aplicarea unui singur examen ELISA pentru PDH-E2, ca test screening de inalta specificitate in cazul persoanelor suspectate de PBC, reprezinta o abordare diagnostica eficienta si economica.

Valoarea predictiva a AMA

Cautarea unor parametri predictivi siguri pentru PBC a condus la evaluarea AMA din acest punct de vedere. Intrebarea este daca anumite categorii de AMA pot prezice o evolutie mai severa a bolii, insotita de progresie histologica sau recidiva dupa transplant.

Se pare ca titruri mai mari ale AMA pot indica o activitate inflamatorie mai severa. Intr-un studiu recent, titrurile de autoanticorpi fata de antigenele OADC au fost evaluate si corelate cu progresia bolii. Titrurile de anticorpi antimitocondriali au variat de peste 200 de ori intre indivizi, insa au ramas relativ constante la pacientii cu PBC. O corelatie cu stadiul, histologia sau progresia PBC nu a putut fi stabilita (Van Norstrand 1997), de aceea, cuantificarea titrurilor de AMA nu este un instrument util in determinarea stadiului PBC. S-a observat ca AMA persista dupa transplantul hepatic ortotopic pentru PBC (Haagsma 1987; Mattalia 1997). In cadrul unei evaluari recente, s-a demonstrat ca in cazul anumitor pacienti nivelurile de AMA au scazut dupa transplant, necesitand inca un model general stabilit si este

indoielnic daca AMA pot reprezenta un indicator predictiv al rezultatelor transplantului (Gouw 1994).

Rata recurenteii PBC este inca studiata; desi este cunoscut faptul ca recurenta PBC apare la anumiti pacienti (Haagsma 1999), implicatiile clinice pentru managementul acestor pacienti sunt inca mici, desi probabil vor creste pe masura ce supravietuirea va depasi 10 ani dupa transplant. In prezent, este incert daca determinarile calitative sau cantitative ale AMA au semnificatie suplimentara fata de importanta lor in stabilirea diagnosticului.

Anticorpii antinucleari (ANA) in PBC

Anticorpii antinucleari (ANA) sunt determinati in mod curent ca un marker de diagnostic intr-un numar mare de boli mediate imun, inclusiv in bolile hepatice autoimune (Strassburg 2000) si afectiunile reumatologice (Tan Em 1988). ANA au fost identificati, de asemenea, ca parametru serologic la pana la 52% din pacientii cu PBC (Tabel 11; Figura 1). Intrebarea este daca acesti anticorpi pot contribui la diagnosticarea PBC prin identificarea cazurilor de ciroza biliara primitiva- AMA negativi. De curand au fost descrise antigenele complexului por nuclear ca antigene secundare in diagnosticul serologic al PBC (Bloch 1999; Worman 1994). Sunt bine definiti anticorpii cu actiune impotriva unei glicoproteine a membranei nucleare, cu greutatea moleculara de 210 kDa (gp 210) (Lassoued 1990; Nickowitz 1994), care au o specificitate crescuta pentru PBC si apar la 10-47% dintre pacienti (Bandin 1996), sunt bine definiti. Desi acesti anticorpi au demonstrat o specificitate crescuta pentru PBC, ei persista dupa transplantul hepatic ortotopic si nu par sa indice recurenta bolii (Dubel 1998; Luettig 1998; Mattalia 1997). Epitopul a fost determinat pana la portiunea C-terminala a proteinei si este recunoscut de catre toate serurile gp210 pozitive (Nickowitz 1993).

Anti-gp210 anti-nucleoporina p62 Anti-SP100 Receptor anti-lamina B Anti-ciclina A Anti-proteina leucemiei promielocitare (PML)

Tabel 11. Anticorpi antinucleari asociati PBC

Nucleoporina p62 reprezinta antigen tinta in 32% din serurile PBC si pare a fi, de asemenea, specific bolii (Manns 2000). La aproximativ 20% dintre seruri, sunt detectati autoanticorpi impotriva SP100, o nucleoproteina cu greutatea moleculara de 100 kDa (Szosteki 1987; Szosteki 1992). Sp100 pare sa aiba o specificitate crescuta pentru CBP si s-a observat, de asemenea, ca persista dupa transplantul hepatic ortotopic pentru PBC (Luettig 1998). Semnificatia prognostica a acestor autoanticorpi este cel mai probabil la fel de scazuta ca cea a AMA specifici PBC (Zuchner 1997). Prin analize moleculare s-au identificat epitopi SP100 liniari in serurile pacientilor cu PBC (Bluthner 1999). Un studiu recent a identificat ciclina A ca autoantigen uman in afectiunile hepatice si extrahepatice (Strassburg 1996). Autoanticorpii anti-ciclina A au fost detectati la 7% din pacientii cu PBC si mai

frecvent in cazul hepatitei autoimune de tip 1. Alti autoanticorpi antinucleari cu specificitate pentru PBC includ receptorul pentru lamina B (Lin 1996) si proteina PML asociata leucemiei promielocitare (Sternsdorf 1995).

Cand ANA sunt detectati in PBC, ei prezinta frecvent o distributie specifica a imunoflorescentei, precum puncte nucleare (de ex. SP 1000) sau model nuclear inelar (Laminins, gp210) (Figura 1). In timp ce in hepatita autoimuna, ANA prezinta mai frecvent la imunoflorescenta un aspect omogen sau pestrut, in PBC sau PBC cu AMA negativi, anticorpii antinucleari apar la imunoflorescenta frecvent sub forma de puncte nucleare sau sub forme inelare. Cazurile in care acesti autoanticorpi sunt prezenti la pacienti cu simptome clinice de PBC, iar AMA sunt absenti sunt rare, insa pot reprezenta singurul indicciu sero-imunologic pentru stabilirea diagnosticului de PBC la un numar restrans de pacienti.

Principii terapeutice in PBC

Pana in prezent, nu este disponibil un tratament care sa conduca la vindecarea PBC (Strassburg 2004). Acidul ursodeoxicolic (UDCA) (15 mg/kg pe zi) a adus o imbunatatire a analizelor biochimice, histologice si a supravietuirii insa nu are nici un efect asupra fatigabilitatii si osteoporozei. UDCA are proprietati imunomodulatoare, modifica transductia semnalului celular si caracterul hidrofил al secretiei biliare; nu trebuie administrat insa in colestaza severa si in timpul primului trimestru de sarcina. Imunosupresia in tratamentul PBC da rezultate nesatisfacatoare. Terapia simptomatica a complicatiilor PBC include tratarea pruritului (colestiramina, terapie de inductie cu rifampicina, antagonisti opioizi, antagonisti ai serotoninei), ascitei (diuretice, beta-blocanti pentru controlarea hipertensiunii portale), a osteoporozei (suplimentarea vitaminei D si a calciului, biofosfonati pentru osteoporoza), precum si interventia endoscopica pentru varice esofagiene sangerande. Ar trebui indicata inlocuirea vitaminelor liposolubile. In cazul insuficientei hepatice indusa de ciroza, transplantul hepatic ramane optiunea terapeutica hotaratoare. Ratele de supravietuire la 10 ani sunt de 75-80%, iar recurenta PBC dupa transplant apare in 10-40% din cazuri.

Imunosupresia in PBC

Corticosteroidii: Tratamentul cu prednisolon poate imbunatati activitatea transaminazelor serice, alcalin fosfataza si nivelurile crescute ale imunoglobulinelor, dar nu conduce la ameliorarea semnificativa a bilirubinei, pruritului sau a analizelor histologice. Intr-un studiu controlat placebo, realizat pe o perioada de un an pe un numar de 36 de pacienti asimptomatici, au fost observate osteopenie si efecte secundare de tip cushingoid (Mitchison 1992).

Azatioprina: In cadrul a doua studii, azatioprina, medicamentul imunosupresor clasic cu un efect pronuntat in AIH, nu a prezentat efecte semnificative si nu este folosit in tratamentul PBC (Christensen 1985).

Ciclosporina A: Intr-un studiu amplu, realizat pe un numar de 346 de pacienti, cu un timp mediu de observatie de 2,5 ani, ciclosporina A, un imunosupresor clasic pentru transplant, nu a prezentat efecte semnificative asupra progresiei histologice a PBC (Lombard 1993). In contradictie cu aceste rezultate, intr-un studiu redus, realizat pe un numar de 20 de pacienti tratati timp de 2 ani, analizele histologice s-

au ameliorat; acest fapt trebuie insa apreciat cu precautie (Wiesner 1990). Datorita posibilitatii aparitiei unor efecte secundare severe, ciclosporina A nu este o optiune terapeutica recomandata.

D-penicilamina: Deoarece PBC se caracterizeaza prin acumularea de cupru in caile biliare, a fost studiat agentul chelator D-penicilamina. D-penicilamina are, de asemenea, proprietati imunosupresoare si antifibrotice. Acest medicament a fost testat in cadrul a 6 studii pe un lot total de 748 pacienti, fara a obtine insa un efect terapeutic pozitiv, iar 30% din pacientii tratati au prezentat efecte secundare severe (Bodenheimer 1985). D-penicilamina nu este recomandata pentru tratamentul PBC.

Colchicina: Colchicina a fost studiata in anii 1980, in cadrul a trei studii datorita proprietatilor sale antifibrotice si antiinflamatorii. In ciuda ameliorarii albuminei, bilirubinei, transaminazelor si fosfatazei alcaline, nu a fost observata o ameliorare a simptomelor clinice si histologiei hepatice (Bodenheimer 1988; Kaplan 1986; Warnes 1987). Nu au fost raportate efecte secundare severe, insa nici nu a fost observat un efect asupra prognosticului pe termen lung.

Metotrexat: In ciuda hepatotoxicitatii sale, metotrexatul a fost folosit ca imunosupresor in PBC. Intr-un studiu controlat placebo, realizat pe un numar de 60 de pacienti, doze reduse de metotrexat (7,5 mg/saptamana) au condus la o ameliorare a parametrilor biochimici, exceptie facand bilirubina, insa nu s-a raportat nici un efect in ceea ce priveste rata pacientilor care au necesitat transplant hepatic sau rata de supravietuire (Hendrickse 1999). Nu a fost observata ca reactie adversa hepatotoxicitatea. Pneumonia interstitiala, care afecteaza aproximativ 3-5% din pacientii cu artrita reumatoida, a fost intalnita la 14% din pacientii cu PBC. Metotrexatul nu poate fi recomandat in afara studiilor sau evaluarilor stiintifice.

In principiu, alte medicamente imunosupresoare (Tabel 12) precum acidul micofenolic (micofenolat mofetil), tacrolimus (FK506) sau chiar anticorpi monoclonali ce actioneaza impotriva receptorului interleukinei-2, pot reprezenta strategii alternative importante. Pana in prezent, nu exista insa studii asupra acestor medicamente imunosupresoare.

	Ameliorarea analizelor biochimice	Ameliorare histologica	Supravietuire	Efecte secundare/Toxicitate
Corticosteroidi	++	++	-	++
Azatioprina	-	-	+	+
Ciclosporina A	++	-	++	++
D-penicilamina	-	-	-	++
Colchicina	++	-	+	-
Metotrexat	++	+	-	+

Tabel 12. Efectele medicamentelor imunosupresoare in PBC.

Acidul ursodeoxicolic in PBC (UDCA)

In anul 1981, Leuschner a observat un efect pozitiv al UDCA asupra parametrilor hepatici ridicati, mecanismul exact fiind neclar (Leuschner 1996). Pe de alta parte, UDCA conduce la o modificare a secretiei biliare acide catre un mediu mai hidrofil,

cu proprietati asemanatoare celor ale detergentilor, dar mai putin intense; de asemenea, determina un tranzit crescut al secretiei biliare. Se sugereaza ca activitatea imunomodulatoare este legata de antigenele HLA exprimate pe celulele biliare epiteliale si de transductia modificata a semnalului (Paumgartner 2002). La pacientii cu PBC, doza optima de acidul ursodeoxicolic pare a fi de 13-15 mg/kg. Intr-o metaanaliza a trei studii in care s-a administrat aceasta doza la un numar de 548 de pacienti, s-a observat o ameliorare a analizelor biochimice si o progresie histologica intarziata catre fibroza (Poupon 1997). Aceste efecte au fost evidente atunci cand perioada de monitorizare a pacientilor a continuat pana la 4 ani. Aceste date se bazeaza in principal pe efectele pozitive observate intr-un singur studiu, o metaanaliza ulterioara a 8 studii realizate pe un numar de 1114 pacienti nereusind sa stabileasca o asociere pozitiva cu terapia cu UDCA (Goulis 1999). Acest aspect ridica cateva probleme. Dozele au variat, protocoalele incluzand pacienti care au primit doze insuficiente, iar perioada de urmarire a fost mai mica de doi ani in unele cazuri. Intr-o analiza recent publicata, realizata pe un numar de 367 de pacienti care au participat la patru studii clinice initierea tratamentului cu UDCA in stadiile timpurii ale PBC (stadiile I-II) si o durata de doi ani a tratamentului au condus la intarzierea progresiei histologice, ceea ce sustine ideea inceperii tratamentului cu UDCA cat mai repede dupa diagnosticare, chiar si in absenta fibrozei sau a cirozei. A fost demonstrat de asemenea ca UDCA amelioreaza analizele biochimice, intarzie hipertensiunea portala si aparitia varicelor, iar in momentul de fata nu exista alternativa de tratament la acest produs (Poupon 2003). Nu a fost demonstrat nici un efect semnificativ asupra osteopeniei si a manifestarilor extrahepatice ale PBC. Un efect secundar de interes pare a fi reducerea semnificativa a proliferarii celulelor epiteliale ale colonului. Tratamentul cu UDCA nu este asociat cu o prevalenta mai ridicata a polipilor la nivelul colonului si se pare ca intarzie reaparitia acestora dupa polipectomie (Serfaty 2003).

Tratamentul pacientilor non-responderi si strategiile terapeutice combinate

Termenul de "non-responder" poate fi definit prin progresia CPB spre ciroza si hipertensiune portala in prezenta terapiei cu acid ursodeoxicolic (UDCA). Catiiva factori pot contribui la aceasta progresie: doza neadecvata de UDCA, pacient necompliant la tratament, asocierea unei hepatite autoimune (AIH), alte comorbiditati hepatice, fistula arterio-portala, boala tirodiana, sprue celiac, cel mai frecvent motiv fiind reprezentat de asocierea AIH. In cazul progresiei sub tratament, se poate recomanda terapia combinata, reprezentata de asocierea UDCA cu diferite preparate medicamentose:

Steroidii si UDCA: Terapia combinata cu imunosupresori si UDCA a fost evaluata in patru studii mici care urmaresc recomandarea prednisonului (Leuschner 1996), azatioprinei (Wolfhagen 1998) si a budesonidelor (Angulo 2000; Leuschner 1996) (Tabelul 13).

Colangiocarcinomul

10-20% dintre pacientii cu colangita sclerozanta primitiva (PSC)
Risc anual 1.5%
Frecventa mare la un an de la diagnostic

Bilirubina, sexul masculin, colita ulcerativa cronica, simptome abdominale, fumatul

Cancerul colorectal	Risc de 10 ori crescut (pentru PSC si colita ulcerativa) Colonoscopie anuala la cei cu colita ulcerativa Colita ulcerativa si ALP crescut: de realizat ERC (colangiografie endoscopica retrograda)
Cancer pancreatic	Risc de 14 ori mai crescut la pacientii cu PSC Ecografie abdominala

Tabelul 13. Tumorile asociate PSC

Intr-un studiu controlat randomizat, au fost evaluati 30 de pacienti carora li s-a administrat 10 mg prednison/zi si la care s-a observat ameliorarea activitatii inflamatorii (Leuschner 1996). Intr-un alt studiu, la 39 de pacienti ce au beneficiat de 9 mg budesonida/zi s-au raportat imbunatatiri biochimice si histologice (Leuschner 1999) intr-un studiu deschis realizat pe 22 de pacienti s-a descris progresia osteopeniei (Angulo 2000).

Sulindac si UDCA: Intr-un studiu deschis realizat pe 23 de pacienti s-a raportat un raspuns incomplet la tratamentul cu UDCA administrat mai mult de 12 luni, iar la terapia combinata cu UDCA plus sulindac se observa ameliorarea histologica si biochimica (Leuschner 2002).

Colchicina si UDCA: In trei studii au fost evaluati in total 118 pacienti pe o perioada de 24 de luni carora li s-a administrat terapia combinata cu UDCA si colchicina (Ikeda 1996; Poupon 1996; Raedsch 1992), semnalandu-se imbunatatiri usoare biochimice, iar beneficiile tratamentului pe termen lung sunt neclare. Din cauza eliminarii biliare a colchicinei, combinarea ei cu bila acida, poate determina efecte toxice.

Metotrexatul si UDCA: Cateva studii pilot si trei studii randomizate au evaluat combinatia terapeutica metotrexat plus UDCA. Intr-un studiu recent placebo-control randomizat realizat pe 60 de pacienti s-a raportat o rata crescuta a efectelor secundare fara beneficii terapeutice (Bach 2003; Van Steenberg 1996).

Colangita sclerozanta primara

Diagnosticul colangitei sclerozante primare (primary sclerosing cholangitis - PSC)

PSC se caracterizeaza de obicei prin distructia progresiva a ductelor biliare intra si extrahepatice mari – ceea ce o diferentiaza de CBP si de AIH – este frecvent intalnita la barbati cu varsta maxima de aproximativ 25-45 de ani (Figura 7) (Strassburg 1996). Aproximativ 50-70% dintre cei cu PSC asociaza colita ulcerativa. PSC se caracterizeaza clinic prin durere abdominala superioara, prurit, anorexie, febra, totusi aproximativ 50% dintre pacienti nu au asemenea simptome (Weismüller 2008). Diagnosticul este pus pe baza unui profil biochimic specific

pentru colestaza cu valori crescute ale bilirubinei, fosfatazei alcaline si gama glutamil transferazei. Aspectele caracteristice ale colangiografiei si o biopsie tipica evidentiaza un inel de fibroza in jurul ductelor biliare, dar nu este prezent la toti pacientii. Frecvent prin serologie se identifica anticorpii atipici anticitoplasma neutrofilelor (xANCA) la peste 80% dintre pacienti (Terjung 2000), totusi acestia nu sunt specifici bolii si pot apare la pacientii cu colita ulcerativa, fara PSC. Exista o asociere semnificativa a PSC cu colangiocarcinomul (10-20%) si cancerul colorectal (9% in 10 ani). Intr-un subgrup de pacienti poate fi prezenta o afectare, in contextul PSC a ductelor biliare mici (Broome 2002), cu lipsa stricturilor specifice la colangiografie si cu reducerea ramificatiilor arborelui biliar. Cu ajutorul biopsiei hepatice, in aceste situatii diagnosticul poate fi stabilit in prezenta asocierii tipice a colitei ulcerative la pacientii de sex masculin.



Figura 7. Colangiografie tipica in PSC intrahepatica si extrahepatica.

Asocierea PSC cu boala inflamatorie intestinala

Un semn clinic specific PSC este reprezentat de numarul mare al pacientilor cu boala inflamatorie intestinala (IBD). In studii separate realizate pe 605 pacienti cu PSC din SUA (Mayo Clinic), Anglia (King's College) si Suedia, boala inflamatorie intestinala se intalneste la 71%, 73% si respectiv 81% din cazuri (Bergquist 2002; Boberg 1998) iar din experienta Clinicii de Gastro-enterologie, Hepatologie si Endocrinologie a Universitatii de Medicina Hanovra, procentul a fost de 52% la pacientii cu PSC (Tischendorf 2007). Colita ulcerativa este mai frecvent asociata

(Anglia 71%, Suedia 72%) comparativ cu boala Chron. Boala inflamatorie intestinala este frecvent diagnosticata inaintea PSC, dar datorita perioadei de latentă simptomatice atat boala inflamatorie intestinala cat si PSC pot fi diagnosticate in acelasi timp sau mai tarziu decat PSC. De obicei colita ulcerativa este diagnosticata cu cel puțin un an inainte de PSC (67%), in timp ce in 22% din cazuri diagnosticarea se realizeaza pana intr-un an in cazul ambelor afectiuni, si doar la 11% din cazuri diagnosticarea colitei ulcerative s-a facut dupa un an de la stabilirea diagnosticului de PSC. Toti pacientii cu boala inflamatorie intestinala cu valori biochimice hepatice crescute reprezinta un grupul de risc si necesita investigare hepatica atenta pentru PSC. Aproximativ 5% dintre toti pacientii cu colita ulcerativa prezinta asociat si PSC.

PSC - factor de risc pentru dezvoltarea cancerului hepatic

Separat de riscul dezvoltării hipertensiunii portale si a cirozei, PSC este un factor de risc important in dezvoltarea cancerului hepatic, ceea ce diferentiaza aceasta afectiune de AIH si de CBP (Tabelul 13). Riscul crescut al dezvoltării colangiocarcinomului este bine documentat (Bergquist 2001; Boberg 2002), insa valorile raportate variaza din cauza exprimării diferite a rezultatelor legate de explanturile obtinute din transplantul hepatic, probele de necropsie si probelor obtinute prin punctie biopsie *in vivo*. Diagnosticul colangiocarcinomului (CC) in cazul pacientilor cu PSC este in continuare dificil deoarece stenoza observata la colangiografie poate fi cauzata de activitatea inflamatorie, dar si de o tumora, iar testele biochimice si procedurile bioptice au sensibilitate si specificitate scazuta. Studiile imagistice sunt, de asemenea, grevate de lipsa de sensibilitate deoarece tumorile frecvent cresc intramural si sunt diagnosticate in stadiile tardive, cand metodele terapeutice curative sunt ineficiente. Studiile din Suedia arata ca in 54% din cazurile de CC diagnosticul s-a realizat intr-un an de la cel de PSC, iar in 27% din cazuri s-a realizat doar in momentul transplantului hepatic. Peste 12,2% dintre pacientii cu PSC nord europeni dezvolta CC, ceea ce este in conformitate cu datele obtinute de studiile din Hanovra (Boberg 2002; Tischendorf 2006). Acesti pacienti dezvolta icter, prurit, durere abdominala si au un lung istoric de boala inflamatorie intestinala. Sexul masculin si fumatul sunt, de asemenea, factori de risc (Tischendorf 2006; Weismüller 2008). Intr-un studiu olandez au fost puse in evidenta rezultate similare, astfel: 18 pacienti aveau CC dintr-un total de 174 de pacienti (10%) (Ponsioen 2002). Riscul dezvoltării CC la pacientii cu PSC creste cu 1,5% per an si este de 161 ori mai mare comparativ cu pacientii-control sanatosi. Este important de realizat faptul ca riscul dezvoltării cancerului colorectal (CCR) este de 10 ori mai crescut, iar in cazul cancerului pancreatic riscul este de 14 ori mai mare (Bergquist 2002). Aceste date justifica de ce diagnosticarea PSC trebuie asociata cu efectuarea precoce a unor colonoscopii si ecografii in vederea monitorizării potentialului ridicat privind dezvoltarea cancerului.

Terapia medicamentoasa a PSC

Datele recente si experienta clinica sugereaza ca PSC nu poate fi tratata medicamentos (Larusso 2006). Un tratament ar trebui sa includa ameliorarea sau normalizarea parametrilor biochimici specifici colestazei, dar mult mai importanta este ameliorarea sclerozei de la nivelul arborelui biliar intra si extrahepatic, ceea ce

va conduce in final la ciroza biliara, episoade de colangita si mentinerea riscului de carcinom colangiocelular. Medicamentul disponibil care are un profil satisfactor din punct de vedere al toxicitatii si care poate determina scaderea parametrilor serici specifici colestazei, este acidul ursodeoxicolic (UDCA) (Tabelul 14).

PSC necomplicata	Acid ursodeoxicolic, 15-30 mg/ kg/ zi
Stricturi biliare	Endoscopie interventionala, dilatari (stent-uri)
Litiază coledociana	
Colangita	Antibiotice (de exemplu, mezlocilin si metronidazol)

Tabelul 14. Terapia PSC.

Scorurile predictive, care a fost propuse pentru stabilirea evolutiei PSC din perspectiva experientei clinice - pe grupuri cu mare variabilitate individuala si episoade neasteptate de accelerare a progresiei bolii - contin aproape intotdeauna ca parametru, bilirubina serica (Broome 1996; Dickson 1992; Farrant 1991; Kim 2000; Okolicsanyi 1996; Wiesner 1989). Intre anii 1998 si 2000 pentru stabilirea scorului au fost luate in considerare - alaturi de bilirubina - varsta, aspectul histologic, sangerarea variceala, hepatomegalia, boala inflamatorie intestinala, albumina, AST si hemoglobina (Broome 1996; Dickson 1992; Kim 2000; Wiesner 1989). Din aceasta perspectiva, imbunatatirea valorii bilirubinei, parametru intalnit in toate aceste scoruri, va fi un indicator plauzibil al imbunatatirii prognosticului. Totusi exista opinii contradictorii in privinta efectului UDCA asupra normalizarii bilirubinei. In doua studii s-a observat o imbunatatire in urma administrarii a 20 mg/kgc, respectiv 25-30 mg/kgc (Harnois 2001; Mitchell 2001), dar ambele doze de UDCA sunt considerate mari comparativ cu doza uzuala de 15 mg/kgc. Din datele studiului reiese ca doza mai mare pare a fi mai buna pentru PSC, existand insa si un studiu care analizeaza UDCA la nivelul secretiei biliare si corelatia cu doza de medicament administrata oral care arata ca dozele mai mari de 25 mg/kgc nu sunt folositoare deoarece transportul medicamentului la nivelul bilei este maxim la aceasta valoare (Rost 2004).

Dupa numeroase rapoarte initiale, s-a publicat in anul 2002 o meta-analiza (Chen 2003), care a concluzionat ca terapia cu UDCA determina imbunatatirea parametrilor biochimici, dar sunt neclare efectele benefice la pacientii cu PSC, in special in ceea ce priveste calitatea vietii, lucru confirmat si de un alt raport publicat in anul 2005, in care 219 pacienti cu PSC au fost analizati intr-un studiu placebo-control (Olsson 2005). S-a recomandat UDCA in doza de 17-23 mg/kgc observandu-se o tendinta a supravietuii mai buna si o necesitate mai scazuta a transplantului hepatic, dar fara semnificatie statistica si fara o diferenta in ceea ce priveste incidenta colangiocarcinomului (pentru obtinerea semnificatiei statistice ar fi fost nevoie de 346 pacienti). Pe baza datele disponibile din literatura, in prezent, nu poate fi exclus un efect pozitiv al tratamentului cu UDCA, dar in mod cert sunt necesare studii ample placebo-control si abordari multicentrice.

Un efect suplimentar al terapiei cu UDCA, citat in doua rapoarte, a implicat o scadere a modificarilor displazice de la nivelul polipilor colonici cand este administrat in doza de 10-15 mg/kgc (Pardi 2003; Tung 2001), ceea ce trebuie confirmat prin studii mai mari, inasa asocierea frecventa intre PSC si colita ulcerativa (la aproximativ 75% dintre pacienti) duce la obtinerea prin tratamentul cu UDCA a unui efect terapeutic suplimentar important.

Problema imunosupresiei la pacientii cu PSC este controversata si majoritatea centrelor si publicatiilor nu recomanda administrarea de rutina a corticosteroizilor si a altor imunosupresoare (Larusso 2006; Van Hoogstraten 2000). La pacientii cu PSC, colangita bacteriana si colangiosepsisul reprezinta complicatii periculoase, iar imunosupresia se presupune ca agraveaza aceste complicatii. In situatii rare, cum ar fi afectiunile similare PSC si hepatitele autoimune, imunosupresia poate avea efecte benefice, dar este nevoie de o documentare riguroasa a hepatitei autoimune ce include biopsia, serologia bolii autoimune si biochimia sugestiva (Beuers 2005; Boberg 1996).

Tratamentul bolii inflamatorii intestinale la pacientii cu PSC

Multi pacienti cu PSC pot prezenta o forma usoara de boala inflamatorie intestinala. Colita ulcerativa este frecvent caracterizata de pancolita fara simptomatologie grava, rect indem si ileita de reflux(backwash). Riscul dispeziei si al CCR este semnificativ crescut la pacientii cu PSC si colita ulcerativa. Interventia terapeutica nu este diferita de cea din cazul bolii inflamatorii intestinale fara PSC. In aceasta circumstanta UDCA pare a determina un efect benefic impiedicand dezvoltarea displaziei. Intr-un studiu realizat pe 59 de pacienti cu PSC si colita ulcerativa, s-a observat ca terapia cu UDCA scade riscul aparitiei displaziei colonului (Serfaty 2003; Tung 2001). Terapia cu UDCA poate contribui la modularea pozitiva a riscului dezvoltarii cancerului colorectal la pacientii cu PSC.

Terapia endoscopica

Factorul determinant cel mai important al evolutiei PSC este reprezentat de dezvoltarea stricturilor biliare, care determina colangita septica si creste riscul acesteia, rezultand in final fibroza biliara. Dilatatia endoscopica poate ameliora colestaza, in anumite studii aceasta putand fi dobandita prin stentare biliara (Weismüller 2008), dar care nu este recomandata de toti gastroenterologii. Combinarea interventiei endoscopice si a terapiei cu UDCA pare sa conduca la cresterea perioadei de supravietuire fara necesitatea de transplant hepatic, administrarea UDCA singur nedeterminand acest efect.

Transplantul hepatic in PSC (OLT)

S-a demonstrat ca pacientii cu PSC prezinta durate de supravietuire scurtate, indiferent daca pacientul este simptomatic sau nu (Kim 2000; Larusso 2006), ceea ce in parte se datoreaza riscului asociat de aparitie a colangiocarcinomului - 10-20% - la acesti pacienti. Din aceasta cauza, luarea deciziei de efectuarea a transplantului hepatic reprezinta o adevarata provocare. In plus, la pacientii cu PSC care asociaza colangiopatie distructiva avansata, frecvent apar doar semne minore de insuficienta

hepatica, ca: anomalii ale coagulării, hipoalbuminemie sau complicatii ale hipertensiunii portale (Tischendorf 2007). Evolutia spre insuficienta hepatica este adesea observata dupa perioade lungi de stabilitate clinica si frecvent este urmata de complicatii biliare septice. Acest lucru nu este prevazut de scorul mentionat mai sus si nici de scorul MELD (Model for End-Stage Liver Disease), folosit pentru transplantul de organe in SUA si (din anul 2006) in Europa.

Doua mari probleme definesc actiunile implicate in recomandarea transplantului hepatic in cazul pacientilor cu PSC. Prima este reprezentata de sincronizarea dificila (Wiesner 1992): pacientii cu PSC sunt tineri, iar posibilii candidati ai transplantului hepatic prezinta un risc mare pe termen scurt dupa OLT, comparativ cu evolutia naturala a bolii. Pe de alta parte, pacientii care necesita urgent OLT din cauza distructiei biliare avansate, frecvent nu intrunesc criteriile necesare calculate prin sistemul MELD. In al doilea rand, riscul dezvoltarii colangiocarcinomului creste de 161 de ori (Bergquist 2002) putand elimina optiunea transplantului in totalitate daca se evidentiaza colangiocarcinomul prin metode imagistice de diagnostic. Diagnosticarea precoce a colangiocarcinomului este dificila si in prezent nu exista nici o procedura de diagnostic cu mare specificitate si sensibilitate (Tischendorf 2006). Mai mult, acesti pacienti cu risc nu pot fi identificati.

Din punct de vedere al managementului, la inceput se pune accent doar pe monitorizarea clinica atenta a pacientilor cu PSC in centre cu experienta in transplant hepatic, cu posibilitati de diagnosticare precoce si de sincronizare a fiecarui individ in scopul efectuării OLT (Tischendorf 2007). Al doilea punct de vedere face referire la doua centre care stabilesc protocoale specifice privind abordarea colangiocarcinomului hilar si a OLT (Rea 2005; Sudan 2002). Rea si colab. au raportat un algoritm riguros de tratament la pacientii cu colangiocarcinom hilar nerezecabil care au fost atent selectati si pot suporta chimioterapia, radioterapia si tratamentul chirurgical. O abordare multimodala care include chimio-/radioterapia neoadjuvanta, iradierea locala, chimioterapia, laparotomia si transplantul hepatic ortotopic determina o rata de supravietuire la 5 ani de 82% ceea ce nu difera mult de rezultatele obtinute la pacientii cu PSC fara colangiocarcinom (Rea 2005). Desi atractive, aceste strategii interdisciplinare sunt limitate studiilor si sunt experimentate doar in centrele de hepatologie.

In general rezultatele transplantului sunt bune in cazul pacientilor cu PSC, ducand la o rata de supravietuire la 10 ani de 70% (Graziadei 1999). In Clinica de Gastroenterologie, Hepatologie si Endocrinologie a Universitatii de Medicina Hanovra perioada medie de supravietuire a pacientilor cu PSC asociat cu colangiocarcinom a fost de 12,7 luni, in timp ce toti ceilalti pacienti cu PSC au prezentat o perioada medie de supravietuire de 112 luni (Tischendorf 2006). Recurenta dupa OLT este dificil de diagnosticat, dar apare probabil la mai mult de 25% dintre pacienti (Graziadei 1999). Transplantul hepatic continua sa reprezinte singura optiune curativa in cazul pacientilor cu PSC. Cercetarile viitoare trebuie sa vizeze lipsa de specificitate si sensibilitate a metodelor de diagnostic al colangiocarcinomului, prognosticul acestei boli si, respectiv, criteriile specifice alocării organului de transplantat pentru acest grup de pacienti.

Referinte

- Agarwal K, Czaja Aj, Jones De et al. (2000) Cytotoxic T lymphocyteantigen-4 (CTLA-4) gene polymorphisms and susceptibility to type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 31:49-53.
- Ahmed M, Mutimer D, Hathaway M et al. (1997) Liver transplantation for autoimmune hepatitis: a 12-year experience. *Transplant. Proc.* 29:496
- Alvarez F, Berg Pa, Bianchi Fb et al. (1999) International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J. Hepatology* 31:929-938.
- Alvarez F, Ciocca M, Canero-Velasco C et al. (1999) Short-term cyclosporine induces a remission of autoimmune hepatitis in children. *J. Hepatol.* 30:222-227.
- Angulo P, Smith C, Jorgensen Ra (2000) Budesonide in the treatment of patients with primary biliary cirrhosis with suboptimal response to ursodeoxycholic acid. *Hepatology* 20:471-490
- Bach N, Bodian C, Bodenheimer H et al. (2003) Methotrexate therapy for primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 98:187-193.
- Bandin O, Courvalin Jc, Poupon R et al. (1996) Specificity and sensitivity of gp210 autoantibodies detected using an enzyme-linked immunosorbent assay and a synthetic polypeptide in the diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 23:1020-1024
- Beaune Ph, Lecoer S, Bourdi M et al. (1996) Anti-cytochrome P450 autoantibodies in drug-induced disease. *Eur J Haematol Suppl* 60:89-92
- Berg Pa, Doniach D, Roitt Im (1967) Mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. I. Localization of the antigen to mitochondrial membranes. *J Exp Med* 126:277-290
- Berg Pa, Klein R (1995) Mitochondrial antigen/antibody systems in primary biliary cirrhosis: revisited. *Liver* 15:281-292
- Berg Pa, Klein R (1986) Mitochondrial antigens and autoantibodies: from anti-M1 to anti-M9. *Klin Wochenschr* 64:897-909
- Bergquist A, Broome U (2001) Hepatobiliary and extra-hepatic malignancies in primary sclerosing cholangitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 15:643-656.
- Bergquist A, Ekbohm A, Olsson R et al. (2002) Hepatic and extrahepatic malignancies in primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol* 36:321-327.
- Beuers U, Rust C (2005) Overlap syndromes. *Semin Liver Dis* 25:311-320
- Bloch Db, Chiche Jd, Orth D et al. (1999) Structural and functional heterogeneity of nuclear bodies. *Mol Cell Biol* 19:4423-4430
- Bluthner M, Schafer C, Schneider C et al. (1999) Identification of major linear epitopes on the sp100 nuclear PBC autoantigen by the gene-fragment phage-display technology. *Autoimmunity* 29:33-42
- Boberg Km, Aadland E, Jahnsen J et al. (1998) Incidence and prevalence of primary biliary cirrhosis, primary sclerosing cholangitis, and autoimmune hepatitis in a Norwegian population. *Scand. J. Gastroenterol.* 33:99-103
- Boberg Km, Bergquist A, Mitchell S et al. (2002) Cholangiocarcinoma in primary sclerosing cholangitis: risk factors and clinical presentation. *Scand J Gastroenterol* 37:1205-1211.
- Boberg Km, Fausa O, Haaland T et al. (1996) Features of autoimmune hepatitis in primary sclerosing cholangitis: an evaluation of 114 primary sclerosing cholangitis patients according to a scoring system for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 23:1369-1376
- Bodenheimer H, Jr., Schaffner F, Pezzullo J (1988) Evaluation of colchicine therapy in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 95:124-129.

- Bodenheimer Hc, Jr., Schaffner F, Sternlieb I et al. (1985) A prospective clinical trial of D-penicillamine in the treatment of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 5:1139-1142.
- Broome U, Glaumann H, Lindstom E et al. (2002) Natural history and outcome in 32 Swedish patients with small duct primary sclerosing cholangitis (PSC). *J Hepatol* 36:586-589.
- Broome Uo, R. Loof, L. Bodemar, G. Hultcrantz, R. Danielsson, A. Prytz, H. Sandberg-Gertzen, H. Wallerstedt, S. Lindberg, G. (1996) Natural history and prognostic factors in 305 Swedish patients with primary sclerosing cholangitis. *Gut* 38:610-615
- Calmus Y, Gane P, Rouger P et al. (1990) Hepatic expression of class I and class II major histocompatibility complex molecules in primary biliary cirrhosis: effect of ursodeoxycholic acid. *Hepatology* 11:12-15
- Cancado Elr, Porta G (2000) Autoimmune hepatitis in South America. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London
- Chen W, Gluud C (2003) Bile acids for primary sclerosing cholangitis. *Cochrane Database Syst Rev*:CD003626
- Christensen E, Neuberger J, Crowe J et al. (1985) Beneficial effect of azathioprine and prediction of prognosis in primary biliary cirrhosis. Final results of an international trial. *Gastroenterology* 89:1084-1091.
- Crivelli O, Lavarini C, Chiaberge E et al. (1983) Microsomal autoantibodies in chronic infection with HBsAg associated delta (delta) agent. *Clin. Exp. Immunol.* 54:232-238
- Czaja Aj (1998) Frequency and nature of the variant syndromes of autoimmune liver disease. *Hepatology* 28:360-365
- Czaja Aj, Carpenter Ha-, Santrach Pj et al. (1993) Evidence against hepatitis viruses as important causes of severe autoimmune hepatitis in the United States. *J. Hepatol.* 18:342-352.
- Czaja Aj, Carpenter Ha, Lindor Kd (1999) Ursodeoxycholic acid as adjunctive therapy for problematic type 1 autoimmune hepatitis: a randomized placebo-controlled treatment trial. *Hepatology* 30:1381-1386
- Czaja Aj, Lindor Kd (2000) Failure of budesonide in a pilot study of treatment-dependent autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 119:1312-1316.
- Dalekos Gn, Wedemeyer H, Obermayer-Straub P et al. (1999) Epitope mapping of cytochrome P4502D6 autoantigen in patients with chronic hepatitis C during alpha-interferon treatment. *J Hepatol* 30:366-375
- Danielson A, Prytz H (1994) Oral budesonide for treatment of autoimmune chronic hepatitis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 8:585-590.
- Davis Pa, Leung P, Manns M et al. (1992) M4 and M9 antibodies in the overlap syndrome of primary biliary cirrhosis and chronic active hepatitis: epitopes or epiphenomena? *Hepatology* 16:1128-1136
36. Debray D, Maggiore G, Giradet Jp et al. (1999) Efficacy of cyclosporin A in children with type 2 autoimmune hepatitis. *J. Pediatr.* 135:111-114.
- Devlin J, Donaldson P, Portman B et al. (1995) Recurrence of autoimmune hepatitis following liver transplantation. *Liver Transpl. Surg.* 1:162-165.
- Dickson Er, Murtaugh Pa, Wiesner Rh et al. (1992) Primary sclerosing cholangitis: refinement and validation of survival models. *Gastroenterology* 103:1893-1901
- Dienes Hp, Popper H, Manns M et al. (1989) Histologic features in autoimmune hepatitis. *Z. Gastroenterol.* 27:327-330.
- Dighiero G, Lymberi P, Monot C et al. (1990) Sera with high levels of anti-smooth muscle and anti-mitochondrial antibodies frequently bind to cytoskeleton proteins. *Clin Exp Immunol* 82:52-56
- Doherty Dg, Donaldson Pt, Underhill Ja et al. (1994) Allelic sequence variation in the HLA class II genes and proteins on patients with autoimmune hepatitis. *Hepatology* 19:609-615

- Donaldson Pt (1996) Immunogenetics in liver disease. *Baillieres Clin Gastroenterol* 10:533-549
- Donaldson Pt (1999) TNF gene polymorphisms in primary biliary cirrhosis: a critical appraisal [editorial; comment]. *J Hepatol* 31:366-368
- Donaldson Pt, Czaja Aj (2002) Genetic effects on susceptibility, clinical expression, and treatment outcome of type 1 autoimmune hepatitis. *Clin Liver Dis* 6:419-437
- Donaldson Pt, Doherty Dg, Hayllar Km et al. (1991) Susceptibility to autoimmune chronic active hepatitis: human leukocyte antigens DR 4 and A1-B8-DR-3 are independent risk factors. *Hepatology* 13:701-706
- Dubel L, Farges O, Courvalin Jc et al. (1998) Persistence of gp210 and multiple nuclear dots antibodies does not correlate with recurrence of primary biliary cirrhosis 6 years after liver transplantation. *J Hepatol* 28:169-170
- Durazzo M, Philipp T, Van Pelt Fn et al. (1995) Heterogeneity of liver-kidney microsomal autoantibodies in chronic hepatitis C and D virus infection. *Gastroenterology* 108:455-462
- European Liver Transplant Registry J (1996)
- Farrant Jm, Hayllar Km, Wilkinson Ml et al. (1991) Natural history and prognostic variables in primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 100:1710-1717
- Fernandez Nf, Redeker Ag, Vierling Jm et al. (1999) Cyclosporine therapy in patients with steroid resistant autoimmune hepatitis. *Am. J. Gastroenterol.* 94:241-248.
- Frazer Ih, Mackay Ir, Jordan Tw et al. (1985) Reactivity of anti-mitochondrial autoantibodies in primary biliary cirrhosis: definition of two novel mitochondrial polypeptide autoantigens. *J Immunol* 135:1739-1745
- Fujimoto M, Sato S, Ihn H et al. (1995) Autoantibodies to pyruvate dehydrogenase complex in patients with systemic sclerosis. Possible role of anti-E1 alpha antibody as a serologic indicator for development of primary biliary cirrhosis. *Arthritis Rheum* 38:985-989
- Geall Mg, Schoenfield Lj, Summerskill Whj (1968) Classification and treatment of chronic active liver disease. *Gastroenterology* 55:724-729.
- Gelpi C Se, Rodriguez-Sanchez JI (1992) Autoantibodies against a serine tRNA-protein complex implicated in cotranslational selenocysteine insertion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89:9739-9743
- Gershwin Me, Mackay Ir (1991) Primary biliary cirrhosis: paradigm or paradox for autoimmunity. *Gastroenterology* 100:822-833
- Gershwin Me, Mackay Ir, Sturgess A et al. (1987) Identification and specificity of a cDNA encoding the 70 kd mitochondrial antigen recognized in primary biliary cirrhosis. *J Immunol* 138:3525-3531
- Gordon Ma, Oppenheim E, Camp Nj et al. (1999) Primary biliary cirrhosis shows association with genetic polymorphism of tumour necrosis factor alpha promoter region [see comments]. *J Hepatol* 31:242-247
- Götz G, Neuhaus R, Bechstein Wo et al. (1999) Recurrence of autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Transplant. Proc.* 31:430-431.
- Goulis J, Leandro G, Burroughs Ak (1999) Randomised controlled trials of ursodeoxycholic acid therapy for primary biliary cirrhosis: a meta analysis. *Lancet* 354:1053-1060
- Gouw As, Haagsma Eb, Manns M et al. (1994) Is there recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation? A clinicopathologic study in long-term survivors. *J Hepatol* 20:500-507
- Graziadei Iw, Wiesner Rh, Batts Kp et al. (1999) Recurrence of primary sclerosing cholangitis following liver transplantation. *Hepatology* 29:1050-1056
- Gregorio Gv, Portman B, Reid F et al. (1997) Autoimmune hepatitis in childhood: a 20-year experience. *Hepatology* 25:541-547

- Guenguen M, Boniface O, Bernard O et al. (1991) Identification of the main epitope on human cytochrome P450IID6 recognized by anti-liver kidney microsome antibody. *J. Autoimmun.* 4:607-615
- Guenguen M, Meunier-Rotival M, Bernard O et al. (1988) Anti-liver-kidney microsome antibody recognizes a cytochrome P450 from the IID subfamily. *J. Exp. Med.* 168:801
- Haagsma Eb (1999) Clinical relevance of recurrence of primary biliary cirrhosis after liver transplantation. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11:639-642
- Haagsma Eb, Manns M, Klein R et al. (1987) Subtypes of antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis before and after orthotopic liver transplantation. *Hepatology* 7:129-133
- Harnois Dm, Angulo P, Jorgensen Ra et al. (2001) High-dose ursodeoxycholic acid as a therapy for patients with primary sclerosing cholangitis. *Am J Gastroenterol* 96:1558-1562.
- Hendrickse Mt, Rigney E, Giaffer Mh et al. (1999) Low-dose methotrexate is ineffective in primary biliary cirrhosis: long-term results of a placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 117:400-407.
- Heneghan Ma, Mcfarlane Ig (2002) Current and novel immunosuppressive therapy for autoimmune hepatitis. *Hepatology* 35:7-13.
- Homberg Jc, Abuaf N, Bernard O et al. (1987) Chronic active hepatitis associated with anti liver/kidney microsome type 1: a second type of "autoimmune" hepatitis. *Hepatology* 7:1333-1339
- Ikeda T, Tozuka S, Noguchi O (1996) Effects of additional administration of colchicine in ursodeoxycholic acid-treated patients with primary biliary cirrhosis: a prospective randomized study. *J Hepatol* 24:88-94
- Ishii H, Saifuku K, Namihisa T (1985) Multiplicity of mitochondrial inner membrane antigens from beef heart reacting with antimitochondrial antibodies in sera of patients with primary biliary cirrhosis. *Immunol Lett* 9:325-330
- Johnson Pj, Mcfarlane Ig (1993) Meeting report: International autoimmune hepatitis group. *Hepatology* 18:998-1005
- Johnson Pj, Mcfarlane Ig, Williams R (1995) Azathioprine for long-term maintenance of remission in autoimmune hepatitis. *N. Engl.J. Med.* 333:958-963
- Jones De, Watt Fe, Metcalf Jv et al. (1999) Familial primary biliary cirrhosis reassessed: a geographically-based population study. *J Hepatol* 30:402-407
- Joplin R, Wallace Ll, Johnson Gd et al. (1995) Subcellular localization of pyruvate dehydrogenase dihydrolipoamide acetyltransferase in human intrahepatic biliary epithelial cells. *J Pathol* 176:381-390
- Joplin Re, Neuberger Jm (1999) Immunopathology of primary biliary cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11:587-593
- Kanzler S, Gerken G, Dienes Hp et al. (1996) Cyclophosphamide as alternative immunosuppressive therapy for autoimmune hepatitis - report of three cases. *Z. Gastroenterol.* 35:571-578.
- Kaplan Mm, Alling Dw, Zimmerman Hj et al. (1986) A prospective trial of colchicine for primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 315:1448-1454.
- Kato Y, Suzuki K, Kumagai M et al. (1981) Familial primary biliary cirrhosis. Immunological and genetic study. *Am J Gastroenterol* 75:188-191
- Kerkar N, Hadzic N, Davies Et et al. (1998) De-novo autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Lancet* 351:409-413
- Kim Wr, Therneau Tm, Wiesner Rh et al. (2000) A revised natural history model for primary sclerosing cholangitis. *Mayo Clin Proc* 75:688-694

- Kirk Ap, Jain S, Pocock S et al. (1980) Late results of the Royal Free Hospital prospective controlled trial of prednisolone therapy in hepatitis B surface antigen negative chronic active hepatitis. *Gut* 21:789-3.
- Klein R, Berg Pa (1991) Anti-M4 antibodies in primary biliary cirrhosis react with sulphite oxidase, an enzyme of the mitochondrial inter-membrane space. *Clin Exp Immunol* 84:445-448
- Klein R, Kloppel G, Garbe W et al. (1991) Antimitochondrial antibody profiles determined at early stages of primary biliary cirrhosis differentiate between a benign and a progressive course of the disease. A retrospective analysis of 76 patients over 6-18 years. *J Hepatol* 12:21-27
- Klein R, Pointner H, Zilly W et al. (1997) Antimitochondrial antibody profiles in primary biliary cirrhosis distinguish at early stages between a benign and a progressive course: a prospective study on 200 patients followed for 10 years. *Liver* 17:119-128
- Kurki P, Miettinen A, Linder E et al. (1980) Different types of smooth muscle antibodies in chronic active hepatitis and primary biliary cirrhosis: their diagnostic and prognostic significance. *Gut* 21:878-884
- Lankisch To, Strassburg Cp, Debray D et al. (2005) Detection of autoimmune regulator gene mutations in children with type 2 autoimmune hepatitis and extrahepatic immune-mediated diseases. *J Pediatr* 146:839-842.
- Larusso Nf, Shneider Bl, Black D et al. (2006) Primary sclerosing cholangitis: summary of a workshop. *Hepatology* 44:746-764
- Lassoued K, Brenard R, Degos F et al. (1990) Antinuclear antibodies directed to a 200-kilodalton polypeptide of the nuclear envelope in primary biliary cirrhosis. A clinical and immunological study of a series of 150 patients with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 99:181-186
- Lenzi M, Manotti P, Muratori L et al. (1995) Liver cytosolic 1 antigen-antibody system in type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. *Gut* 36:749-754
- Leung Ps, Chuang Dt, Wynn Rm et al. (1995) Autoantibodies to BCOADC-E2 in patients with primary biliary cirrhosis recognize a conformational epitope. *Hepatology* 22:505-513
- Leung Ps, Van De Water J, Coppel Rl et al. (1996) Molecular aspects and the pathological basis of primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 9:119-128
- Leuschner M, Guldutuna S, You T et al. (1996) Ursodeoxycholic acid and prednisolone versus ursodeoxycholic acid and placebo in the treatment of early stages of primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 25:49-57.
- Leuschner M, Holtmeier J, Ackermann H et al. (2002) The influence of sulindac on patients with primary biliary cirrhosis that responds incompletely to ursodeoxycholic acid: a pilot study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 14:1369-1376.
- Leuschner M, Maier Kp, Schlichting J et al. (1999) Oral budesonide and ursodeoxycholic acid for treatment of primary biliary cirrhosis: results of a prospective double-blind trial. *Gastroenterology* 117:918-925.
- Lidman K, Biberfeld G, Fagraeus A et al. (1976) Anti-actin specificity of human smooth muscle antibodies in chronic active hepatitis. *Clin Exp Immunol* 24:266-272
- Lin F, Noyer Cm, Ye Q et al. (1996) Autoantibodies from patients with primary biliary cirrhosis recognize a region within the nucleoplasmic domain of inner nuclear membrane protein LBR. *Hepatology* 23:57-61
- Lindenborn-Fotinos J, Baum H, Berg Pa (1985) Mitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis: species and nonspecies specific determinants of M2 antigen. *Hepatology* 5:763-769
- Lohr H, Fleischer B, Gerken G et al. (1993) Autoreactive liver-infiltrating T cells in primary biliary cirrhosis recognize inner mitochondrial epitopes and the pyruvate dehydrogenase complex. *J Hepatol* 18:322-327

- Lombard M, Portmann B, Neuberger J et al. (1993) Cyclosporin A treatment in primary biliary cirrhosis: results of a long-term placebo controlled trial. *Gastroenterology* 104:519-526.
- Luettig B, Boeker Kh, Schoessler W et al. (1998) The antinuclear autoantibodies Sp100 and gp210 persist after orthotopic liver transplantation in patients with primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 28:824-828
- Mackay I, R, Taft Li, Cowling Dc (1956) Lupoid hepatitis. *Lancet* 2:1323-1326
- Mackay Ir (1958) Primary biliary cirrhosis showing a high titer of autoantibody. *N. Engl. J. Med.* 258:707-713
- Mackay Ir, Gershwin Me (1997) The nature of autoimmune disease. *Semin Liver Dis* 17:3-11
- Mackay Ir, Morris Pj (1972) Association of autoimmune chronic hepatitis with HLA-A1-B8. *Lancet* 2:793-795
- Mackay Ir, Tait Bd (1980) HLA association with autoimmune type chronic active hepatitis: identification of B8-DRw3 haplotype by family studies. *Gastroenterology* 79:95-98
- Manns M, Gerken G, Kyriatsoulis A et al. (1987) Characterisation of a new subgroup of autoimmune chronic active hepatitis by autoantibodies against a soluble liver antigen. *Lancet* 1:292-294
- Manns M, Gerken G, Trautwein C et al. (1987) Characterization of primary biliary cirrhosis (PBC) specific mitochondrial determinants by immunoblotting. *Dtsch Z Verdau Stoffwechsellkr* 47:59-66
- Manns M, Meyer Zum Buschenfelde Kh (1982) A mitochondrial antigen-antibody system in cholestatic liver disease detected by radioimmunoassay. *Hepatology* 2:1-7
- Manns M, Meyer Zum BÜschenfelde Kh, Slusarczyk J et al. (1984) Detection of liver-kidney microsomal autoantibodies by radioimmunoassay and their relation to antimitochondrial antibodies in inflammatory liver disease. *Clin. Exp. Immunol.* 54:600-608
- Manns Mp, Bahr Mj (2000) Recurrent autoimmune hepatitis after liver transplantation - when non-self becomes self. *Hepatology* 32:868-870
- Manns Mp, Bremm A, Schneider Pm et al. (1991) HLA DRw8 and complement C4 deficiency as risk factors in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 101:1367-1373.
- Manns Mp, Griffin Kj, Sullivan Kf et al. (1991) LKM-1 autoantibodies recognize a short linear sequence in P450IID6, a cytochrome P-450 monooxygenase. *J. Clin. Invest.* 88:1370-1378
- Manns Mp, Jentsch M, Mergener K et al. (1990) Discordant manifestation of LKM-1 antibody positive autoimmune hepatitis in identical twins. *Hepatology* 12:840
- Manns Mp, Johnson Ef, Griffin Kj et al. (1989) Major antigen of liver kidney microsomal antibodies in idiopathic autoimmune hepatitis is cytochrome P450db1. *J. Clin. Invest.* 83:1066-1072
- Manns Mp, Kruger M (1994) Immunogenetics of chronic liver diseases. *Gastroenterology* 106:1676-1697.
- Manns Mp, Strassburg Cp (2001) Autoimmune hepatitis: clinical challenges. *Gastroenterology* 120:1502-1517.
- Mattalia A, Luttig B, Rosina F et al. (1997) Persistence of autoantibodies against recombinant mitochondrial and nuclear pore proteins after orthotopic liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *J Autoimmun* 10:491-497
- Mehal Wz, Gregory Wl, Lo Ym et al. (1994) Defining the immunogenetic susceptibility to primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 20:1213-1219
- Milkiewicz P, Hubscher Sg, Skiba G et al. (1999) Recurrence of autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Transplantation* 68:253-256

- Mitchell Sa, Bansal Ds, Hunt N et al. (2001) A preliminary trial of high-dose ursodeoxycholic acid in primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 121:900-907
- Mitchison Hc, Palmer Jm, Bassendine Mf et al. (1992) A controlled trial of prednisolone treatment in primary biliary cirrhosis. Three-year results. *J Hepatol* 15:336-344.
- Moteki S, Leung Ps, Dickson Er et al. (1996) Epitope mapping and reactivity of autoantibodies to the E2 component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex in primary biliary cirrhosis using recombinant 2-oxoglutarate dehydrogenase complex. *Hepatology* 23:436-444
- Muratori L, Cataleta M, Muratori P et al. (1995) Detection of anti-liver cytosol antibody type 1 (anti-LC1) by immunodiffusion, counterimmunoelectrophoresis and immunoblotting: comparison of different techniques. *J. Immunol. Meth.* 187:259-264.
- Muratori L, Sztul E, Muratori P et al. (2001) Distinct epitopes on formiminotransferase cyclodeaminase induce autoimmune liver cytosol antibody type 1. *Hepatology* 34:494-501
- Nakamura K, Yoneda M, Yokohama S et al. (1998) Efficacy of ursodeoxycholic acid in Japanese patients with type 1 autoimmune hepatitis [see comments]. *J Gastroenterol Hepatol* 13:490-495
- Neuberger J, Portmann B, Calne R et al. (1984) Recurrence of autoimmune chronic active hepatitis following orthotopic liver grafting. *Transplantation* 37:363-365
- Newton JI, Burt Ad, Park Jb et al. (1997) Autoimmune hepatitis in older patients. *Age Ageing* 26:441-444
- Nickowitz Re, Worman Hj (1993) Autoantibodies from patients with primary biliary cirrhosis recognize a restricted region within the cytoplasmic tail of nuclear pore membrane glycoprotein Gp210. *J Exp Med* 178:2237-2242
- Nickowitz Re, Wozniak Rw, Schaffner F et al. (1994) Autoantibodies against integral membrane proteins of the nuclear envelope in patients with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 106:193-199
- Nishio A, Van De Water J, Leung Ps et al. (1997) Comparative studies of antimitochondrial autoantibodies in sera and bile in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 25:1085-1089
- Nishioka M, Morshed Sa, Kono K et al. (1997) Frequency and significance of antibodies to P450IID6 protein in Japanese patients with chronic hepatitis C. *J. Hepatol.* 26:992-1000
- Nishioka M, Morshed Sa, Mcfarlane Ig (1998) Geographical variation in the frequency and characteristics of autoimmune liver diseases. Elsevier, Amsterdam
- Notghi A, Nestle U, Rittner G et al. (1990) Chromosomal aberrations in patients with primary biliary cirrhosis. *Hum Genet* 85:546-550
- Obermayer-Straub P, Perheentupa J, Braun S et al. (2001) Hepatic autoantigens in patients with autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy. *Gastroenterology* 121:668-677
- Okolicsanyi L, Fabris L, Viaggi S et al. (1996) Primary sclerosing cholangitis: clinical presentation, natural history and prognostic variables: an Italian multicentre study. The Italian PSC Study Group. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 8:685-691
- Olsson R, Boberg Km, De Muckadell Os et al. (2005) High-dose ursodeoxycholic acid in primary sclerosing cholangitis: a 5-year multicenter, randomized, controlled study. *Gastroenterology* 129:1464-1472
- Onishi S, Sakamaki T, Maeda T et al. (1994) DNA typing of HLA class II genes; DRB1*0803 increases the susceptibility of Japanese to primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 21:1053-1060
- Ota M, Seki T, Kiyoshawa K et al. (1992) A possible association between basic amino acids of position 13 of DRB1 cns and autoimmune hepatitis. *Immunogenetics* 36:40-55.

- Palmer Jm, Jones De, Quinn J et al. (1999) Characterization of the autoantibody responses to recombinant E3 binding protein (protein X) of pyruvate dehydrogenase in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 30:21-26
- Palmer Jm, Yeaman Sj, Bassendine Mf et al. (1993) M4 and M9 autoantigens in primary biliary cirrhosis--a negative study. *J Hepatol* 18:251-254
- Pando M, Larriba J, Fernandez Gc et al. (1999) Pediatric and adult forms of type I autoimmune hepatitis in Argentina: evidence for differential genetic predisposition. *Hepatology* 30:1374-1380
- Pardi Ds, Loftus Ev, Jr., Kremers Wk et al. (2003) Ursodeoxycholic acid as a chemopreventive agent in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Gastroenterology* 124:889-893
- Paumgartner G, Beuers U (2002) Ursodeoxycholic acid in cholestatic liver disease: mechanisms of action and therapeutic use revisited. *Hepatology* 36:525-531.
- Philipp T, Durazzo M, Trautwein C et al. (1994) Recognition of uridine diphosphate glucuronosyl transferases by LKM-3 antibodies in chronic hepatitis D. *Lancet* 344:578-581
- Pitkanen J, Vahamurto P, Krohn K et al. (2001) Subcellular localization of the autoimmune regulator protein. characterization of nuclear targeting and transcriptional activation domain. *J Biol Chem* 276:19597-19602.
- Ponsioen Cy, Vrouwenraets Sm, Prawirodirdjo W et al. (2002) Natural history of primary sclerosing cholangitis and prognostic value of cholangiography in a Dutch population. *Gut* 51:562-566.
- Poupon Re, Huet Pm, Poupon R et al. (1996) A randomized trial comparing colchicine and ursodeoxycholic acid combination to ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. UDCA-PBC Study Group. *Hepatology* 24:1098-1103.
- Poupon Re, Lindor Kd, Cauch-Dudek K (1997) Combined analysis of randomized controlled trials of ursodeoxycholic acid in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 113:884-890
- Poupon Re, Lindor Kd, Pares A et al. (2003) Combined analysis of the effect of treatment with ursodeoxycholic acid on histologic progression in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol* 39:12-16.
- Prados E, Cuervas-Mons V, De La Mata M et al. (1998) Outcome of autoimmune hepatitis after liver transplantation. *Transplantation* 66:1645-1650.
- Raedsch R, Stiehl A, Walker S et al. (1992) [Combined ursodeoxycholic acid plus colchicine--treatment of primary biliary cirrhosis: results of a placebo-controlled double-blind study]. *Z Gastroenterol* 30 Suppl 1:55-57.
- Ramsey C, Winqvist O, Puhakka L et al. (2002) Aire deficient mice develop multiple features of APECED phenotype and show altered immune response. *Hum Mol Genet* 11:397-409
- Ratziu V, Samuel D, Sebagh M et al. (1999) Long-term follow-up after liver transplantation for autoimmune hepatitis: evidence of recurrence of primary disease. *J Hepatol* 30:131-141
- Rea Dj, Heimbach Jk, Rosen Cb et al. (2005) Liver transplantation with neoadjuvant chemoradiation is more effective than resection for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 242:451-458; discussion 458-461
- Rebollo Bernardez J, Cifuentes Mimoso C, Pinar Moreno A et al. (1999) Deflazacort for long-term maintenance of remission in type I autoimmune hepatitis. *Rev Esp Enferm Dig* 91:630-638.
- Reynoso-Paz S, Leung Ps, Van De Water J et al. (2000) Evidence for a locally driven mucosal response and the presence of mitochondrial antigens in saliva in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 31:24-29

- Richardson Pd, James Pd, Ryder Sd (2000) Mycophenolate mofetil for maintenance of remission in autoimmune hepatitis in patients resistant to or intolerant of azathioprine. *J Hepatol* 33:371-375
- Rizzetto M, Swana G, Doniach D (1973) Microsomal antibodies in active chronic hepatitis and other disorders. *Clin. Exp. Immunol.* 15:331-344
- Rost D, Rudolph G, Kloeters-Plachky P et al. (2004) Effect of high-dose ursodeoxycholic acid on its biliary enrichment in primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 40:693-698
- Sanchez-Urdazpal L, Czaja Aj, Van Holk B (1991) Prognostic features and role of liver transplantation in severe corticoid-treated autoimmune chronic active hepatitis. *Hepatology* 15:215-221
- Schüler A, Manns Mp (1995) Treatment of autoimmune hepatitis. In: Arroyo V, Bosch J, Rodés J (eds) *Treatment in Hepatology*. Masson, S.A., Paris, p 375-383
- Serfaty L, De Leusse A, Rosmorduc O et al. (2003) Ursodeoxycholic acid therapy and the risk of colorectal adenoma in patients with primary biliary cirrhosis: an observational study. *Hepatology* 38:203-209.
- Soloway Rd, Summerskill Wh, Baggenstoss Ah et al. (1972) Clinical, biochemical, and histological remission of severe chronic active liver disease: a controlled study of treatments and early prognosis. *Gastroenterology* 63:820-833
- Stechemesser E, Klein R, Berg Pa (1993) Characterization and clinical relevance of liver-pancreas antibodies in autoimmune hepatitis. *Hepatology* 18:1-9
- Sternsdorf T, Guldner Hh, Szosteki C et al. (1995) Two nuclear dot-associated proteins, PML and Sp100, are often co- autoimmunogenic in patients with primary biliary cirrhosis. *Scand J Immunol* 42:257-268
- Strassburg Cp, Alex B, Zindy F et al. (1996) Identification of cyclin A as a molecular target of antinuclear antibodies (ANA) in hepatic and non-hepatic autoimmune diseases. *J Hepatol* 25:859-866
- Strassburg Cp, Jaeckel E, Manns Mp (1999) Anti-mitochondrial antibodies and other immunological tests in primary biliary cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 11:595-601
- Strassburg Cp, Manns Mp (2002) Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis. *Semin Liver Dis* 22:339-352
- Strassburg Cp, Manns Mp (1995) Autoimmune hepatitis versus viral hepatitis C. *Liver* 15:225-232
- Strassburg Cp, Manns Mp (2000) Autoimmune tests in primary biliary cirrhosis. *Baillieres Best Pract Res Clin Gastroenterol* 14:585-599
- Strassburg Cp, Manns Mp (1996) Primär biliäre Zirrhose und primär sklerosierende Cholangitis. *Internistische Praxis* 36:57-74
- Strassburg Cp, Manns Mp (2004) [Primary biliary liver cirrhosis and overlap syndrome. Diagnosis and therapy]. *Internist (Berl)* 45:16-26.
- Strassburg Cp, Obermayer-Straub P, Alex B et al. (1996) Autoantibodies against glucuronosyltransferases differ between viral hepatitis and autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 111:1576-1586
- Strassburg Cp, Obermayer-Straub P, Manns Mp (1996) Autoimmunity in hepatitis C and D virus infection. *J. Viral. Hepat.* 3:49-59
- Strassburg Cp, Obermayer-Straub P, Manns Mp (2000) Autoimmunity in liver diseases. *Clin Rev Allergy Immunol* 18:127-139
- Strettell Md, Thomson Lj, Donaldson Pt et al. (1997) HLA-C genes and susceptibility to type 1 autoimmune hepatitis. *Hepatology* 26:1023-1026.
- Sudan D, Deroover A, Chinnakotla S et al. (2002) Radiochemotherapy and transplantation allow long-term survival for nonresectable hilar cholangiocarcinoma. *Am J Transplant* 2:774-779

- Sugimura T, Obermayer-Straub P, Kayser A et al. (2002) A major CYP2D6 autoepitope in autoimmune hepatitis type 2 and chronic hepatitis C is a three-dimensional structure homologous to other cytochrome P450 autoantigens. *Autoimmunity* 35:501-513
- Szostecki C, Krippner H, Penner E et al. (1987) Autoimmune sera recognize a 100 kD nuclear protein antigen (sp-100). *Clin Exp Immunol* 68:108-116
- Szostecki C, Will H, Netter Hj et al. (1992) Autoantibodies to the nuclear Sp100 protein in primary biliary cirrhosis and associated diseases: epitope specificity and immunoglobulin class distribution. *Scand J Immunol* 36:555-564
- Tan Em, Chan Ekl, Sullivan Kf et al. (1988) Antinuclear antibodies (ANAs): diagnostically specific immune markers and clues toward the understanding of systemic autoimmunity. *Clin. Immunol. Immunopathol.* 47:121-141.
- Terjung B, Spengler U, Sauerbruch T et al. (2000) "Atypical p-ANCA" in IBD and hepatobiliary disorders react with a 50-kilodalton nuclear envelope protein of neutrophils and myeloid cell lines. *Gastroenterology* 119:310-322
- Tillmann HJ, Jackel E, Manns Mp (1999) Liver transplantation in autoimmune liver disease--selection of patients. *Hepatogastroenterology* 46:3053-3059
- Tischendorf Jj, Hecker H, Kruger M et al. (2007) Characterization, outcome, and prognosis in 273 patients with primary sclerosing cholangitis: A single center study. *Am J Gastroenterol* 102:107-114
- Tischendorf Jj, Meier Pn, Strassburg Cp et al. (2006) Characterization and clinical course of hepatobiliary carcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis. *Scand J Gastroenterol* 41:1227-1234
- Treichel U, Poralla T, Hess G et al. (1990) Autoantibodies to human asialoglycoprotein receptor in autoimmune-type chronic hepatitis. *Hepatology* 11:606-612
- Tsuji K, Watanabe Y, Van De Water J et al. (1999) Familial primary biliary cirrhosis in Hiroshima. *J Autoimmun* 13:171-178
- Tukey Rh, Strassburg Cp (2001) Genetic multiplicity of the human UDP-glucuronosyltransferases and regulation in the gastrointestinal tract. *Mol Pharmacol* 59:405-414.
- Tung By, Emond Mj, Haggitt Rc et al. (2001) Ursodiol use is associated with lower prevalence of colonic neoplasia in patients with ulcerative colitis and primary sclerosing cholangitis. *Ann Intern Med* 134:89-95.
- Uibo R, Salupere V (1999) The epidemiology of primary biliary cirrhosis: immunological problems. *Hepatogastroenterology* 46:3048-3052
- Van De Water J, Gershwin Me, Leung P et al. (1988) The autoepitope of the 74-kD mitochondrial autoantigen of primary biliary cirrhosis corresponds to the functional site of dihydrolipoamide acetyltransferase. *J Exp Med* 167:1791-1799
- Van De Water J, Shimoda S, Niho Y et al. (1997) The role of T cells in primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis* 17:105-113
- Van Hoogstraten Hj, Vleggaar Fp, Boland Gj et al. (2000) Budesonide or prednisone in combination with ursodeoxycholic acid in primary sclerosing cholangitis: a randomized double-blind pilot study. Belgian-Dutch PSC Study Group [see comments]. *Am J Gastroenterol* 95:2015-2022
- Van Norstrand Md, Malinchoc M, Lindor Kd et al. (1997) Quantitative measurement of autoantibodies to recombinant mitochondrial antigens in patients with primary biliary cirrhosis: relationship of levels of autoantibodies to disease progression. *Hepatology* 25:6-11
- Van Steenberg W, Sciort R, Van Eyken P et al. (1996) Combined treatment with methotrexate and ursodeoxycholic acid in non-cirrhotic primary biliary cirrhosis. *Acta Clin Belg* 51:8-18.

- Van Thiel Dh, Wright H, Carroll P et al. (1995) Tacrolimus: A potential new treatment for autoimmune chronic active hepatitis: results of an open-label preliminary trial. *Am. J. Gastroenterol.* 90:771-776.
- Vento S, Cainelli F, Ferraro T et al. (1996) Autoimmune hepatitis type 1 after measles. *Am. J. Gastroenterol.* 91:2618-2620.
- Vento S, Cainelli F, Renzini C et al. (1997) Autoimmune hepatitis type 2 induced by VHC and persisting after viral clearance. *Lancet* 350:1298-1299.
- Vento S, Garofano T, Di Perri G et al. (1991) Identification of hepatitis A virus as a trigger for autoimmune chronic hepatitis type 1 in susceptible individuals. *Lancet* 337:1183-1187
- Vento S, Guella L, Mirandola F et al. (1995) Epstein-Barr virus as a trigger for autoimmune hepatitis in susceptible individuals. *Lancet* 346:608-609.
- Vogel A, Heinrich E, Bahr Mj et al. (2004) Long-term outcome of liver transplantation for autoimmune hepatitis. *Clin Transplant* 18:62-69.
- Vogel A, Liermann H, Harms A et al. (2001) Autoimmune regulator AIRE: Evidence for genetic differences between autoimmune hepatitis and hepatitis as part of the autoimmune polyglandular syndrome type 1. *Hepatology* 33:1047-1052.
- Vogel A, Manns Mp, Strassburg Cp (2002) Autoimmunity and viruses. *Clin Liver Dis* 6:451-465
- Vogel A, Strassburg Cp, Manns Mp (2003) 77 C/G Mutation in the Tyrosine Phosphatase CD45 and Autoimmune Hepatitis: Evidence for a Genetic Link. *Genes and Immunity* 4:79-81
- Vogel A, Strassburg Cp, Manns Mp (2002) Genetic association of vitamin D receptor polymorphisms with primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis. *Hepatology* 35:126-131.
- Volkman M, Martin L, Baurle A et al. (2001) Soluble liver antigen: isolation of a 35-kd recombinant protein (SLA-p35) specifically recognizing sera from patients with autoimmune hepatitis. *Hepatology* 33:591-596
- Waldenström J (1950) Leber, Blutproteine und Nahrungseiweisse. *Dtsch Gesellsch Verd Stoffw* 15:113-119.
- Warnes Tw, Smith A, Lee Fi et al. (1987) A controlled trial of colchicine in primary biliary cirrhosis. Trial design and preliminary report. *J Hepatol* 5:1-7.
- Weismüller Tj, Wedemeyer J, Kubicka S et al. (2008) The challenges in primary sclerosing cholangitis – Aetiopathogenesis, autoimmunity, management and malignancy. *J Hepatol* 48:S38-S57
- Wesierska-Gadek J, Hohenauer H, Hitchman E et al. (1996) Autoantibodies against nucleoprotein p62 constitute a novel marker of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 110:840-847
- Wies I, Brunner S, Henninger J et al. (2000) Identification of target antigen for SLA/LP autoantibodies in autoimmune hepatitis [see comments]. *Lancet* 355:1510-1515
- Wiesner Rh, Grambsch Pm, Dickson Er et al. (1989) Primary sclerosing cholangitis: natural history, prognostic factors and survival analysis. *Hepatology* 10:430-436
- Wiesner Rh, Ludwig J, Lindor Kd et al. (1990) A controlled trial of cyclosporine in the treatment of primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 322:1419-1424.
- Wiesner Rh, Porayko Mk, Dickson Er et al. (1992) Selection and timing of liver transplantation in primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis. *Hepatology* 16:1290-1299
- Wolffhagen Fhj, Van Hoogstraaten Hjf, Van Buuren, H.R. (1998) Triple therapy with ursodeoxycholic acid, prednisone, and azathioprine in primary biliary cirrhosis: a 1 year randomized, placebo controlled study. *J Hepatol* 29:736-742

- Worman Hj (1994) Primary biliary cirrhosis and the molecular cell biology of the nuclear envelope. *Mt Sinai J Med* 61:461-475
- Wright HI, Bou-Abboud Cf, Hassanenstein T et al. (1992) Disease recurrence and rejection following liver transplantation for autoimmune chronic active liver disease. *Transplantation* 53:136-139.
- Zanger Um, Hauri Hp, Loeper J et al. (1988) Antibodies against human cytochrome P-450db1 in autoimmune hepatitis type 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:8256-8260
- Zuchner D, Sternsdorf T, Szostecki C et al. (1997) Prevalence, kinetics, and therapeutic modulation of autoantibodies against Sp100 and promyelocytic leukemia protein in a large cohort of patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 26:1123-1130

Index

A	
ACH-806	230
Adefovir.....	135, 151, 286
Albinterferon	197, 242
Amantadina.....	197, 241
Amplicor.....	177
Anemia hemolitica autoimuna	270
Analogi nucleoz(t)idici	133
ART	vezi terapia anteretrovirală
B	
Belerofon	243
BILB 1941	216
BILN 12202.....	216
BMI-790052	216
Boala hepatica terminala.....	383
Boala feroportinei	420
Boala Wilson	439
Boceprevir	216
rezistenta	238
Boli limfoproliferative	268
C	
Carcinom hepatocelular	327
terapie curativa.....	330
si coinfectia VHB/VHC	306
terapie paliativa.....	332
profilaxie.....	334
Celgosivir	216, 240
Ciclu replicativ viral VHC.....	87
Ciluprevir.....	216, 221
rezistenta	238
Ciroza	
in coinfectia VHB/VHC.....	306
in hepatita C.....	46
Ciroza biliara primara	483
Cobas Ampliprep.....	177
Colangita sclerozanta primitiva	494
Coinfectie	
VHB/VHC	303
VHB/HIV	279
VHC/HIV	291
Copegus	192
Crioglobulinemia	265
Culturi celulare	
VHB	68
D	
Debio-025	216, 240
Deferasirox	417
Diabet zaharat	270
E	
Emtricitabina.....	284
Entecavir.....	137, 151, 286
Elastografia	317
Epidemiologie	
Hepatita A	23
Hepatita C	41
Hepatita E	53
Esec terapeutice	
VHC	203
F	
Famciclovir	166
Flaviviridae	79
Flebotomie	417
G	
GS 9190	216
GSK625433	216
H	
HAART.....	vezi tratament antiretroviral
Hemocromatoza	403
juvenila ereditara.....	418
secundara	420
asociata TFR2	419
HCC	vezi carcinom hepatocelular
HCV-796.....	216, 235
rezistenta	239
HCV-SuperQuant.....	177
Hepatita autoimuna	459
Hepatita A	23
profilaxie.....	103
vaccinare	105
Hepatita B	29
coinfectie cu VHC.....	303
genotipare.....	118, 119

profilaxie.....	103
profilaxie post-expunere	108
tratament	123
virusologie.....	59
Hepatita C.....	41, 173
manifestari extrahepatice	263
coinfecție cu VHB.....	303
teste de diagnostic	175
profilaxie.....	104
teste serologice.....	176
tratament	187
vaccinare	109
virusologie	79
Hepatita D	
profilaxie.....	103
virusologie	160
tratament	159
Hepatita Delta	vezi Hepatita D
Hepatita E	53
HIV	
coinfecția cu VHB.....	279
coinfecția cu VHC.....	291
I	
IFN α -2bXL.....	243
IMPDH	241
Infergen.....	192
Inhibitori de Ciclofilina B	240
Inhibitori de Glucozidaza	240
Inhibitori de polimeraza.....	232, 284
Inhibitorii de polimeraza NS5B	232
Inhibitori de proteaza	220
Inhibitori de proteaza NS3/4A	220
Istoria naturala	
Hepatita B	33
Hepatita C	46
Interferon alpha.....	167, 187
Interferon consens.....	197
Interferon pegylat.....	vezi PEG-IFN
Interferonii	131
Intron	192
IRES	236
ITMN-191.....	216, 229
rezistenta.....	238
L	
Lamivudina	149, 284
Locteron.....	243
M	
Manifestari cutanate.....	271
MK-0608	216
MK-7009	216

Mod de diagnostic in hepatita D	159
---------------------------------------	-----

N

NAFLD.....	427
NASH	427
Nitazoxanida	216, 240

O

Oligonucleotide antisens	237
--------------------------------	-----

P

Pegasys	192
PEG-IFN	132, 187, 189, 294
terapie de intretinere.....	206
PEG-Intron.....	192
PF-868554.....	216

R

R1626.....	216, 234
R7128.....	216, 235
R7227.....	229
Reactii adverse.....	253
la terapia infectiei VHC	198
la IFN	198
la ribavirina	199
RealTime HCV	177
Rebetol.....	192
Rezistenta la tratament	
VHC	237
Ribavirina	166, 189, 294
Ribozime.....	236
Roferon	192

S

Standard IFN.....	131
-------------------	-----

T

Taribavirina.....	244
Telaprevir.....	216, 222
rezistenta	238
Telbivudina	150, 286
Tenofovir	137, 152, 284
Teste de diagnostic	
Hepatita B	117
Hepatita C	175
Teste moleculare pentru ADN VHB	118
Teste de rezistenta.....	119
Trombocitopenie	269
Tiroidita, afectiuni tiroidiene	270
TMC435350.....	216, 229
Transmitere	

Hepatita A.....	23
Hepatita B.....	30
Hepatita C.....	41
Hepatita E.....	53
Transplant hepatic	
in coinfectia HIV/VHC/VHB.....	383
in infectia VHC.....	201
in coinfectia HIV/VHC.....	299
Tratament	
hepatita B acuta.....	127
hepatita B cronica.....	128
Hepatita C.....	187
Hepatita D.....	166
Tratament antiretroviral	293, 388

V

Vaccinare	
Hepatita C.....	109
Hepatita E.....	110
Valopicitabina.....	216, 233
rezistenta.....	239
VCH-759.....	216, 236
Versant.....	177
VHD.....	vezi Hepatita D
Virusologie	
VHB.....	59
VHC.....	79
VHD.....	160
VX-497.....	241
VX-500.....	216

**Acest text reprezinta versiunea in limba romana a
lucrarii :**

Hepatology

A clinical textbook

Mauss - Berg - Rockstroh - Sarrazin - Wedemeyer

www.HepatologyTextbook.com