

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

„CAROL DAVILA” BUCUREȘTI

ȘCOALA DOCTORALĂ

FACULTATEA DE MEDICINĂ

**VALOAREA PREDICTIVĂ A CINETICII ANTIGENULUI HBS
CANTITATIV LA PACIENȚII CU HEPATITIA VIRALĂ
CRONICĂ B IN TRATAMENT ANTIVIRAL**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

Conducător științific,

Conf. Dr. Laura Elena Iliescu

Doctorand,

Dr. Daniel Mihai Dodot

2020

CUPRINS

PARTEA GENERALĂ

	Pagina
Listă de abrevieri	1
Introducere	3
Capitolul 1. Infecția cu virus hepatitic B	6
1.1 Definiție, epidemiologie, transmitere	6
1.2 Manifestări clinice, diagnostic	11
1.3 Evoluție naturală	14
Capitolul 2. Structura Virusului Hepatitic B	16
2.1 Structura VHB și organizarea genomică	16
2.2 Proteine structurale și nonstructurale	19
2.3 Ciclu de replicare al VHB	21
Capitolul 3. Tratamentul infecției cronice cu VHB	24
3.1 Scopul terapiei și recomandări de tratament	24
3.2 Strategii de tratament	26
3.3 Monitorizarea pacienților cu HC-VHB	31
3.4 Factori de prognostic pentru răspunsul la tratament	34
3.5 Profilaxia infecției VHB	36
3.6 Posibilitatea de eradicare a VHB	38
Capitolul 4. Antigenul HBs	43
4.1 Structura antigenului HBs	43
4.2 Rolurile antigenului HBs	46
4.3 Metode de detecție ale AgHBs	48
4.4 Valoarea predictivă a cineticii AgHBs	50

PARTEA SPECIALĂ

CAPITOLUL 1

1.1	Justificarea studiului. Importanța temei	<i>57</i>
1.2	Obiectivele studiului	<i>59</i>
1.3	Materiale și metode	<i>60</i>
1.3.1	Proiectul studiului	<i>60</i>
1.3.2	Pacienți	<i>61</i>
1.3.3	Tratamentul și monitorizarea pacienților	<i>72</i>
1.3.4	Criterii de evaluare	<i>75</i>
1.4	Analiza statistică a datelor	<i>87</i>

CAPITOLUL 2

2.1	Rezultate	<i>89</i>
2.1.1	Dinamica antigenului HBs cantitativ pe parcursul tratamentului	<i>89</i>
2.1.2	Evoluția clinică și biologică a pacienților pe parcursul perioadei de urmărire	<i>100</i>
2.1.3	Corelații	<i>102</i>
2.1.4	Datele biochimice ale pacienților la finalul perioadei de urmărire	<i>121</i>
2.2	Discuții	<i>133</i>
2.3	CONCLUZII	<i>145</i>
	Limitele studiului	<i>150</i>
	Bibliografie	<i>151</i>

PARTEA GENERALĂ - STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

1.1. DEFINIȚIE, EPIDEMIOLOGIE, TRANSMITERE.

Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a estimat în 2015 că 2 miliarde de persoane au intrat în contact cu VHB, 257 de milioane de persoane sau 3,5% din totalul populației globale sunt infectați cronic cu VHB (definită ca persistența peste 6 luni a antigenului HBs). Dintre pacienții infectați cu VHB aproximativ 27 de milioane (10,5%) sunt conștienți de faptul că sunt infectați și aproximativ 4,5 milioane (16,7%) dintre aceștia urmează un tratament antiviral. Prevalența VHB diferă semnificativ de la o regiune geografică la alta: 6% în Africa, 2% în sud-estul Asiei, 1% pe continentul American[1].

Infecția VHB reprezintă a 15-a cauză de mortalitate la nivel global. S-a estimat că infecția VHB este responsabilă de un număr de 887.000 de decese anual, majoritatea prin ciroză hepatică, carcinom hepatocelular și insuficiență hepatică acută[2]. Aproximativ 15-40% din pacienții cu infecție cronică VHB vor dezvolta ciroză hepatică (CH), carcinom hepatocelular (CHC) sau insuficiență hepatică (IH) și 15-25% decedază din această cauză.

Endemicitatea infecției VHB diferă semnificativ în funcție de modul de transmitere. În țările cu prevalență înaltă principala cale de transmitere a infecției este cea parenterală, pe când în țările cu prevalență scăzută predomină căile orizontale de transmitere. Ambele căi de transmitere sunt importante în țări cu prevalențe intermediare datorită vaccinării, îngrijirii perinatale și sănătății publice[3].

Capitolul 2

STRUCTURA VIRUSULUI HEPATITIC B

2.1 STRUCTURA VHB ȘI ORGANIZARE GENOMICĂ:

Virusul hepatitic B este un virus ADN de dimensiuni mici, aparține genului orthohepadnavirus, familiei hepadnaviridae și prezintă trăsături similare retrovirusurilor[4]. Virusul este extrem de simplu, dar în același timp endemic și persistent[5]. Virionul (particula Dane) prezintă o nucleocapsidă anvelopată care conține ADN parțial dublucatenar (aproximativ 3200 perechi de baze azotate). Virusul este clasificat în multiple genotipuri în funcție de diferențele nucleotidice de peste 8%[6], în prezent se cunosc 10 genotipuri (A-J)[7]. Genotipurile VHB prezintă distribuții geografice distincte la nivel global și caracteristici unice pentru fiecare genotip[8].

Virionul are un diametru de 42 nm, acesta conține o nucleocapsidă icosaedrică, nucleul (core) de 36 nm și o anvelopă externă. Invelișul extern sau anvelopa compusă din lipide și proteine este denumită antigen de suprafață sau AgHBs. Învelișul proteic intern definit ca particula core sau AgHBc conține ADN viral și enzimele utilizate în replicarea virală (ADN polimeraze). Antigenul Hbe este strâns asociat nucleocapsidei VHB și de asemenea poate circula ca proteină solubilă în ser. Microscopia electronică vizualizează 3 tipuri de particule în serul infectat cu VHB: Virionul cu un diametru de 42 nm, o structură sferică cu diametrul de 20 nm și filamente externe de 22 nm.

Între genotipurile cunoscute de VHB există diferențe semnificative, spre exemplu genotipul B este frecvent asociat coinfecției cu HIV sau cu alte genotipuri de VHB[9]. Genotipul D prezintă o secvență genetică în regiunea pre-S1 care îl diferentiază de alte genotipuri[10]. S-a demonstrat clinic faptul că genotipul VHB se asociază cu grade diferite de severitate a bolii hepatice sau răspunsul la tratament[11].

Răspândirea geografică a genotipurilor nu este omogenă, genotipul A este răspândit în Africa sub-Sahariană, nordul Europei și vestul Africii; genotipurile B și C sunt frecvent

întâlnite în Asia, genotipul C este întâlnit predominant în Asia de Sud-est, genotipul este răspândit în Africa, Europa, țările Mediteraneene și India; infecții cu genotipul G au fost raportate în Franța, Germania și Statele Unite, genotipul H este comun în America Centrală și de Sud. Infecții cu genotip I au fost raportate în Vietnam și Laos.

2.2 PROTEINE STRUCTURALE ȘI NESTRUCTURALE

Dupa ce infectează hepatocitele ADN-ul VHB circular relaxat este convertit de enzimele celulare la ADN circular închis covalent (cccDNA) în interiorul celulelor infectate. cccADN-ul VHB epizomal persistă în hepatocite sub forma unui minicromozom organizat cu ajutorul unei serii de proteine histonice și nonhistonice[12]. Minicromozomul viral utilizează mecanismul transcripțional celular pentru a produce tot ADN-ul viral necesar pentru sinteza de proteine și replicarea virală[13]. Genomul VHB conține 4 cadre suprapuse de citire deschisă care codifică polimeraza virală, proteinele VHB de suprafață, proteina structurală nucleară (core), și proteinele non-structurale cunoscute și sub denumirea de antigen HBe și proteina X[14]. Proteinele VHB de suprafață (HBs) se împart în proteine de dimensiuni mari (LHBs), medii (MHBs) și mici (SHBs), diferența dintre acestea este dată de domeniile lor diferite și de starea de glicozilare[14]. Domeniul carboxiterminal ce conține SHBs este prezent în toate proteinele de suprafață pe când extensia preS1 N-terminală este prezentă doar în cazul LHB2 iar extensia preS2 este prezentă în cazul LHBs și MHBs[15].

Aceste trei forme de proteine VHB de suprafață reprezintă antigenul HBs (AgHBs)[16]. Proteinele de suprafață sunt sintetizate la nivelul reticulului endoplasmatic (RE) și se poate ajunge la situația în care cantitatea de proteine sintetizată să depășească necesarul asamblării virionilor. Excesul de proteine de suprafață suferă un proces de multimerizare rezultând particule subvirale(PSV) non-infecțioase sferice sau filamentoză[17]. PSV sunt mai numeroase decât virionii și pot fi componente ale unor complexe imune circulante care pot induce toleranța imună printr-un mecanism ce “mimează apoptoza virală”[18].

Capitolul 3

TRATAMENTUL INFECȚIEI CRONICE CU VHB

3.1 SCOPUL TERAPIEI ȘI INDICAȚII DE TRATAMENT:

Principalul scop al terapiei antivirale în cazul pacienților cu HC-VHB este creșterea speranței de viață și îmbunătățirea calității vieții prevenind progresia bolii și prin urmare evitarea apariției CHC. Alte obiective ale terapiei sunt prevenția transmiterii infecției de la mamă la copil, reactivarea hepatitei B și prevenția și tratamentul manifestărilor extrahepatice asociate infecției cu VHB. Probabilitatea realizării acestor scopuri depinde de momentul în care se inițiază terapia în cursul evoluției naturale a bolii, dar și de stadiul bolii și vârsta pacientului la momentul inițierii terapiei[19]. Regresia cirozei și a fibrozei poate reprezenta un viitor obiectiv al terapiei în cazul pacienților cu fibroză hepatică avansată sau ciroză hepatică, cu toate acestea impactul tratamentului în aceste situații nu a fost complet clarificat prin studii clinice[19]. Strategiile de tratament care își propun prevenția apariției CHC pot fi diferite în anumite aspecte de cele care au ca scop prevenirea progresiei fibrozei hepatice. În cazul pacienților cu CHC indus de infecția VHB scopul terapiei cu analogi nucleo(t)izidici (AN), este în primul rând reprezentat de supresia replicării VHB pentru a stabiliza boala hepatică indusă de VHB și a opri progresia acesteia, pe plan secundar se urmărește reducerea riscului de recidivă a CHC după efectuarea de terapii cu potențial curativ. Stabilizarea bolii hepatice induse de infecția VHB poate fi de asemenea considerată o premiză importantă pentru aplicarea eficientă și sigură a procedurilor curative anti CHC[19].

3.2 STRATEGII DE TRATAMENT:

În prezent există două opțiuni aprobate de tratament pentru pacienții cu HC-VHB; tratamentul cu AN sau cu Interferon alfa, în prezent se utilizează interferon peghilat alfa (PegINFa)[20]. În ceea ce privește tratamentul cu AN în Europa sunt aprobate multiple molecule printre care lamivudina (LAM), adefovir dipivoxil (ADV), entecavir (ENT), telbivudină (TVB), tenofovir disoproxil fumarat (TDF) și tenofovir alafenamid (TAF). Aceste molecule pot fi clasificate în antivirale cu barieră joasă împotriva rezistenței VHB (LAM, ADV, TBV) și antivirale cu barieră înaltă împotriva rezistenței VHB (ENT, TDF, TAF)[21].

3.4 FACTORII DE PROGNOSTIC PENTRU RĂSPUNSUL LA TRATAMENT:

Antigenul HBs cantitativ și antigenul HBe reprezintă factori predictivi utili ai răspunsului la tratament antiviral pe lângă monitorizarea nivelului seric al ADN-VHB. În orice caz relația dintre dinamicile cantitative ale acestor markeri și rolul lor în predicția anumitor rezultate pe parcursul terapiei cu AN rămân încă neclare. Un alt factor predictiv important este reprezentat de genotipul viral, un studiu realizat pe pacienți cu HC-VHC aflați în tratament antiviral cu TDF a demonstrat că eliminarea AgHBs în cazul pacienților cu HC-VHB și AgHBe(+) tratați cu TDF sau cei cu VHB genotip A sau D care prezintă un declin precoce al AgHBs au șanse mai mari să elimine AgHBs.

CAPITOLUL 4

ANTIGENUL HBs

4.1 STRUCTURA ANTIGENULUI HBs:

Virionul VHB este acoperit de trei proteine virale de suprafață, proteina S de dimensiuni mici (SS), proteina S de dimensiuni medii (MS) și proteina S de dimensiuni mari (MS)[22]. Aceste proteine de suprafață sunt înrudite și prezintă un domeniu C-terminal comun reprezentat de domeniul S care reprezintă proteina SS. Proteina S este reprezentată de regiunea S, proteina M conține regiunea S și regiunea preS2, iar proteina L conține regiunile S, preS1 și preS2.

Proteina SS reprezintă principalul component al particulei virale anvelopate și este exprimat și secretat în cantități mult mai mari decât proteinele MS și LS la nivelul particulei virale mature. Proteina SS este compusă din 226 aminoacizi (aa), iar regiunea dintre aa 99 și aa 169 este denumită regiune hidrofilă majoră (RHM)[23].

Cea mai mare cantitate de AgHBs prezentă în plasma pacienților infectați cu VHB este reprezentată de particule sferice cu dimensiunea de 22 nm formate din aproximativ 100 de monomeri ai AgHBs[24]. Studiile inițiale au subliniat faptul că AgHBs are o structură complexă cu epitopi distribuiți discontinuu. Posibilitatea existenței multiplelor conformații antigenice nu a putut fi exclusă ținând cont de structura antigenică a acestuia.

4.2 ROLURILE ANTIGENULUI HBs:

În ultimii ani studiul AgHBs a redevenit un important subiect al cercetării, acest lucru se datorează observației conform căreia nivelul seric al AgHBs ar putea reflecta activitatea transcripțională a cccADN-ului VHB din interiorul hepatocitelor infectate[25]. Mai multe studii care au evaluat cinetica AgHBs seric la pacienții cu HC-VHB netratați sau tratați cu PegINFa și AN au fost realizate în această perioadă. În 2011 o metaanaliză a numeroase studii cheie realizate pe cinetica AgHBs la care au participat autori importanți din domeniu, a ajuns la concluzia că există încă numeroase întrebări fără răspuns care reprezintă impedimente în utilizarea cuantificării AgHBs în practica clinică[26].

În urma descoperirii de noi potențiale ținte terapeutice în infecția VHB eliminarea AgHBs este acum considerată obiectivul principal al vindecării funcționale a VHB[27]. În urma acestor descoperiri cinetica AgHBs seric aproape că a devenit un test de rutină în cadrul studiilor clinice care se adresează noilor terapii anti-VHB. În ultimii ani numeroase studii efectuate în centre din toată lumea au adus numeroase contribuții la înțelegerea rolului AgHBs[28]. Aceste studii au aprofundat nivelul de cunoaștere al virusologiei moleculare și încurajează utilizarea clinică a nivelului seric al AgHBs în monitorizarea evoluției naturale a bolii și în predicția răspunsului la tratamentul anti-VHB [28].

AgHBs este produs în exces în timpul infecției cu VHB sub formă de particule subvirale non-infecțioase care nu conțin AND viral, aceste particule depășesc numeric cu mult virionii VHB și se pare că funcționează ca diversivoli pentru sistemul imun și facilitează infecția prin intermediul virionilor ce conțin ADN viral[29]. Aceste proprietăți sunt exploatate de vaccinul actual care utilizează eficient AgHBs recombinant ca și antigen capabil să inducă un răspuns imun cu durată lungă[29].

Rolul AgHBs în carcinogeneză:

Până în prezent efectul carcinogen al VHB în apariția CHC a fost intens studiat. Carcinogeneza asociată VHB este un proces multifactorial - pe de o parte include mecanismul direct asociat proteinelor virale și mecanisme indirecte datorate inflamației cronice și integrării ADN-ului VHB în cel al hepatocitelor[30]. În ceea ce privește mecanismul direct asociat proteinelor virale s-a dovedit faptul că gena HBx[31] și gena PreS2 se comportă ca promotori ai carcinogenezei. Proteina PreS2 este codificată la nivelul AgHBs și activează protein kinaza mitogen-activată care reprezintă o moleculă semnal în proliferarea celulară[32], mai mult decât atât proteina PreS2 se acumulează la nivelul reticulului endoplasmatic (RE) hepatocitar și provoacă leziuni la nivelul ADN-ului hepatocitar[33]. Aceste mecanisme sunt elemente importante ale carcinogenezei.

4.3 VALOAREA PREDICTIVĂ A CINETICII AgHBs:

Descoperiri în ceea ce privește semnificația clinică a dinamicii AgHBs cantitativ la pacienții cu hepatită acută sau cronică VHB au fost raportate de multiple surse. Pe lângă faptul că AgHBs reprezintă un marker al activității replicative a VHB, s-a constatat că acesta poate contribui la imunopatogeneza infecției persistente cu VHB. Mai mult decât atât AgHBs ar putea deveni o potențială țintă pentru viitoare terapii imune din moment ce răspunsul imun celular și umoral împotriva AgHBs ar putea controla replicarea și ciclul de viață al VHB[34].

Determinarea AgHBs reprezintă un test serologic standard în diagnosticul infecției VHB. Nivelul seric al AgHBs se corelează cu activitatea transcripțională a cccADN-ului intrahepatic în cazul pacienților cu HC-VHB și AgHBe(+) dar nu și în cazul celor cu AgHBe(-)[35]. O scădere a nivelului seric al AgHBs se corelează cu o scădere a nivelului total de ADN-VHB, al cccADN-ului și eliminarea AgHBe sau seroconversia în sistem Hbe la pacienții cu AgHBe(+) tratați cu PegINFa[36]. Nivelul absolut al AgHBs și declinul nivelului AgHBs de la debutul terapiei până la 3 sau 6 luni de tratament cu PegINFa poate prezice răspunsul la tratament în cazul pacienților cu AgHBe(+) și respectiv AgHBe(-).

Declinul nivelului seric al AgHBs cantitativ este mai puțin pronunțat în cazul terapiei cu AN față de terapia cu PegINFa. Scăderea rapidă a nivelului seric al AgHBs definită ca $\geq 0.5 \log_{10}$ IU/mL la 6 luni de tratament sau $\geq 1.0 \log_{10}$ IU/ml la 12 luni de tratament cu telbivudină și $\geq 1.0 \log_{10}$ IU/mL la 6 luni de tratament cu tenofovir se asociază cu eliminarea AgHBs în cazul pacienților AgHBe(+)[37]. În orice caz câteva aspecte cruciale rămân încă incerte. În primul rând cinetica precoce a nivelurilor AgHBs cantitativ în prima fază a terapiei cu AN nu este complet cunoscută. În al doilea rând nu se cunosc nivelurile optime și intervalele de timp ideale pentru a defini clar declinul nivelului AgHBs pe parcursul terapiei cu AN. Al treilea aspect important este reprezentat de corelația dintre declinul precoce al nivelului AgHBs și rezultatele terapiei pe termen lung cu AN, subiect încă supus controverselor[38].

În prezent AgHBs cantitativ este unul dintre principalii markeri serologici în HC-VHB, acesta este extrem de util pentru o monitorizare precisă atât a progresiei bolii cât și în stabilirea prognosticului în ceea ce privește potențialul răspuns la diverse tipuri de tratament antiviral. În acest context câteva studii au observat existența unor corelații între nivelul AgHBs seric și gradul de fibroză hepatică[39]. AgHBs cantitativ reprezintă un marker VHB asociat cu gradul leziunilor hepatice, iar nivelurile acestuia se corelează cu progresia bolii hepatice mai ales în cazul pacienților cu AgHBe(-). Studiile au arătat ca pacienții cu valori ale AgHBs cantitativ > 1000 UI/ml comparativ cu cei care au valori < 1000 IU/ml au o probabilitate de 0,15 ori mai scăzută de fibroză hepatică. Pacienții cu niveluri serice scăzute ale AgHBs cantitativ asociază o probabilitate mai mare de a prezenta fibroză hepatică[40]. S-a observat că producția de AgHBs nu reflectă doar activitatea transcripțională a cccADN-ului, dar și cantitatea de ADN viral integrat în hepatocite. În contrast s-a demonstrat că prezența mutațiilor la nivelul regiunii pre-S/S duce la scăderea producției de AgHBs. Pacienții cu boală hepatică mai avansată și ciroză hepatică prezentau mai frecvent infecții cu tulpini VHB cu mutații la nivelul regiunii pre-S/S, acest lucru ar putea explica nivelul seric scăzut al AgHBs în cazul acestor pacienți[39]. Un alt studiu[41] a arătat că există o corelație semnificativă între gradul de fibroză hepatică și nivelul seric al AgHBs în cazul pacienților cu HC-VHB și AgHBe(+) pe când în cazul pacienților cu AgHBe(-) nivelul AgHBs nu se corelează cu modificările histologice hepatice.

PARTEA SPECIALĂ – CONTRIBUȚIE PERSONALĂ

CAPITOLUL 1

1.2 OBIECTIVELE STUDIULUI

Obiectivul principal al studiului este reprezentat de identificarea corelațiilor dintre cinetica AgHBs cantitativ și alți markeri biologici ai funcției hepatice, dar și impactul acestora asupra evoluției pe termen lung a HC-VHB la pacienții aflați în tratament antiviral.

Obiective secundare:

- Determinarea valorii predictive a cineticii AgHBs în anticiparea răspunsului sau eșecului terapeutic.
- Stabilirea relației dintre titrul AgHBs și gradul de fibroză hepatică.
- Evaluarea relației dintre titrul AgHBs și riscul de apariție al complicațiilor.
- Compararea eficienței strategiilor terapeutice disponibile.
- Îmbunătățirea strategiilor terapeutice actuale prin identificarea unor markeri precoce de predicție ai răspunsului la tratament conform cărora să se poată lua decizii informate cu privire la momentul optim al inițierii, întreruperii sau schimbării schemei terapeutice.

1.3. MATERIALE ȘI METODE:

1.3.1 PROIECTUL STUDIULUI:

Acesta este un studiu de cohortă, prospectiv, în cadrul căruia au fost inițial înrolați 534 de pacienți cu HC-VHB naivi și tratați cu diverse scheme terapeutice. În urma evaluării inițiale, aplicării criteriilor de includere și de excludere și a altor criterii de selecție (indicație terapeutică, aderența la tratament, opțiunea pacienților de a participa la studiu, prezentarea la un număr minim de vizite de studiu) au fost selectați 208 pacienți care au fost urmăriți de la diagnostic pe o perioadă de 3 ani de la inițierea tratamentului antiviral. Studiul clinic s-a desfășurat în clinica de Medicină Internă a Institutului Clinic Fudeni în perioada noiembrie 2014 – decembrie 2018.

LOTURILE DE PACIENȚI:

Au fost înrolați în studiu 534 de pacienți cu HC-VHB. Dintre aceștia au fost considerați eligibili 208 pacienți. Dintre cei 208 pacienți eligibili 128(61,54%) au fost de sex masculin, iar 80(38,46%) de sex feminin (Figura 1.1.). Vârstele pacienților incluși în studiu au fost cuprinse între 17 și 80 de ani, mediana vârstei fiind de 42 de ani (Figura 1.2.).

La înrolarea în studiu 111 pacienți (53,4%) prezentau AgHBe (-) iar 97(46,6%) dintre aceștia erau Hbe(+), dintre cei 111 pacienți Hbe(-), 94 (84,6%) prezentau anticorpi anti-Hbe, iar 17 (15,3%) nu prezentau anticorpi anti-Hbe.

Pacienții au fost împărțiți în 2 loturi în funcție de tratamentul urmat. De asemenea a existat un lot de control format din pacienți naivi terapeutic care nu aveau indicație de tratament antiviral în perioada în care s-a desfășurat studiul. Cele 2 loturi de studiu au fost formate după cum urmează (Figura 1.4.):

- Lotul 1: pacienți cu HC-VHB naivi sau tratați anterior care aveau indicație de tratament cu AN și la care s-a inițiat terapia cu ENT.
- Lotul 2: Pacienți cu HC-VHB naivi sau tratați anterior care aveau indicație de tratament cu AN și la care s-a inițiat terapia cu TDF.

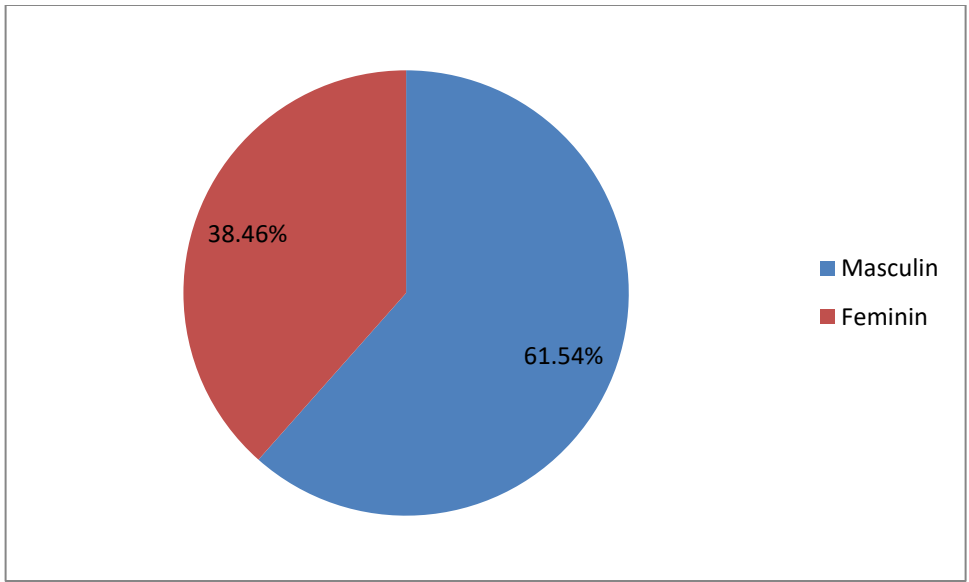


Figura 1.1. Repartiția pe sexe a lotului de pacienți.

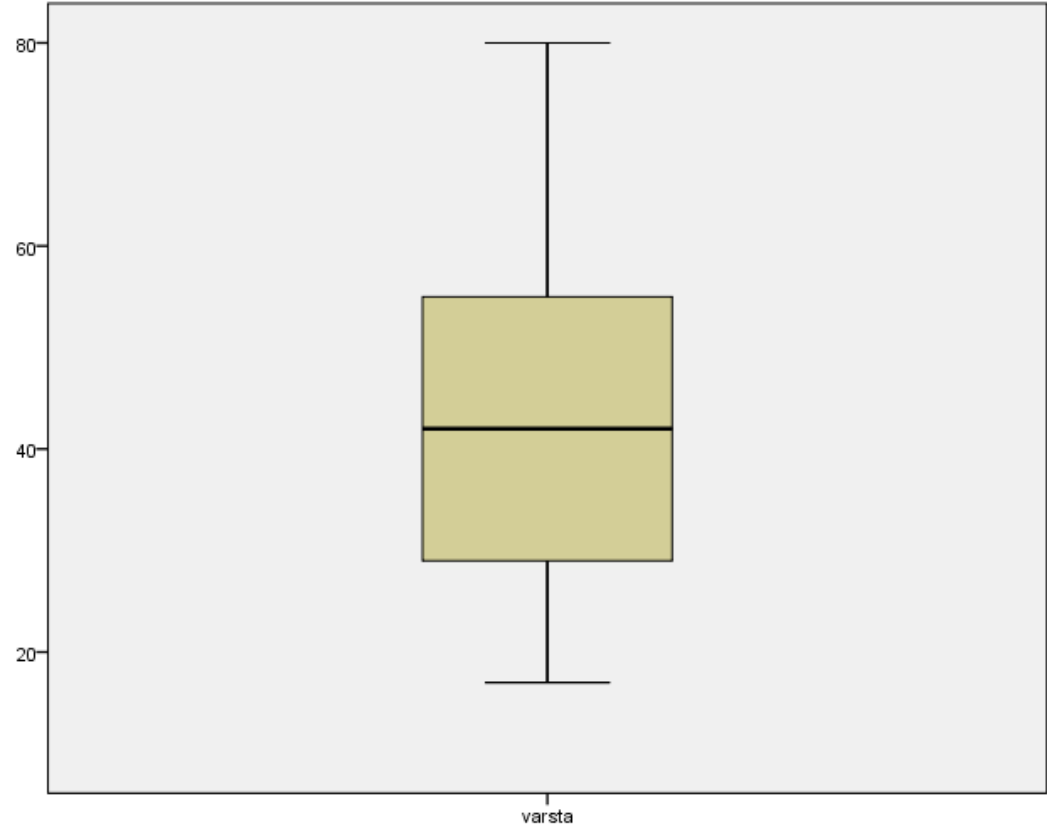


Figura 1.2. Repartiția lotului de pacienți în funcție de vârstă.

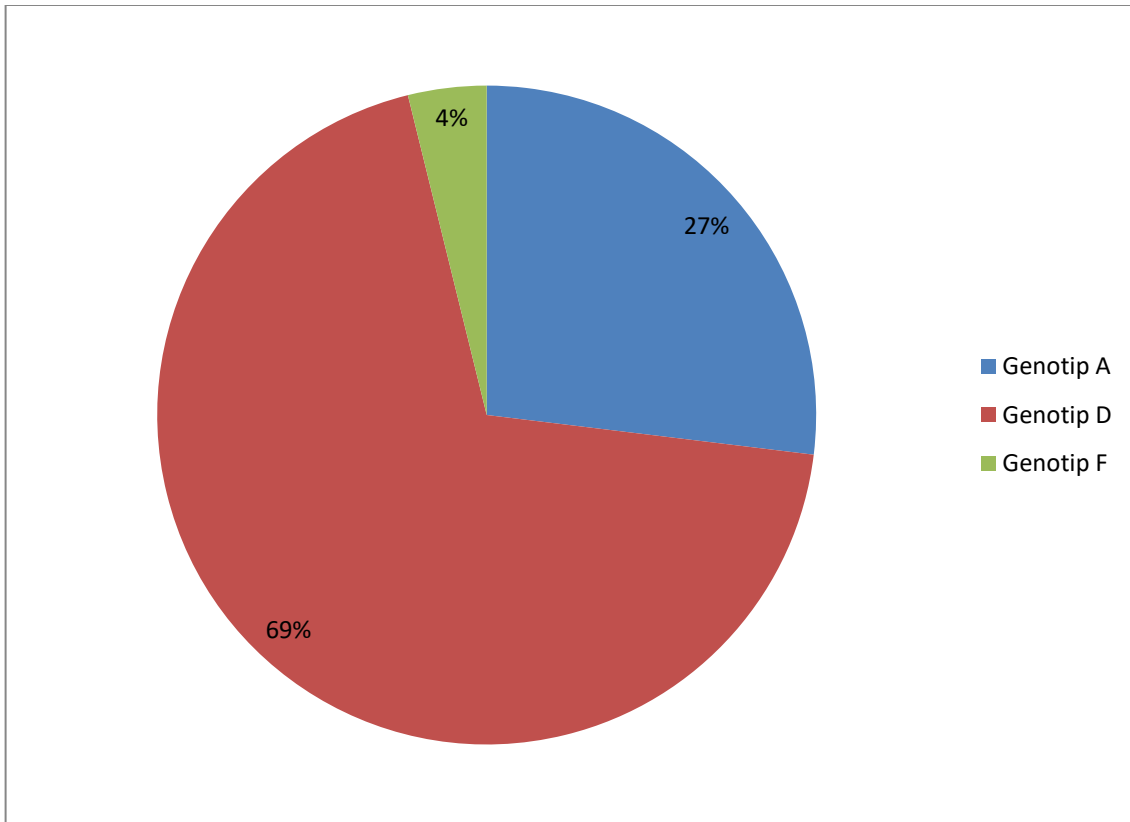


Figura 1.3. Repartiția în funcție de genotipul viral pentru pacienții la care s-a efectuat genotipare VHB.

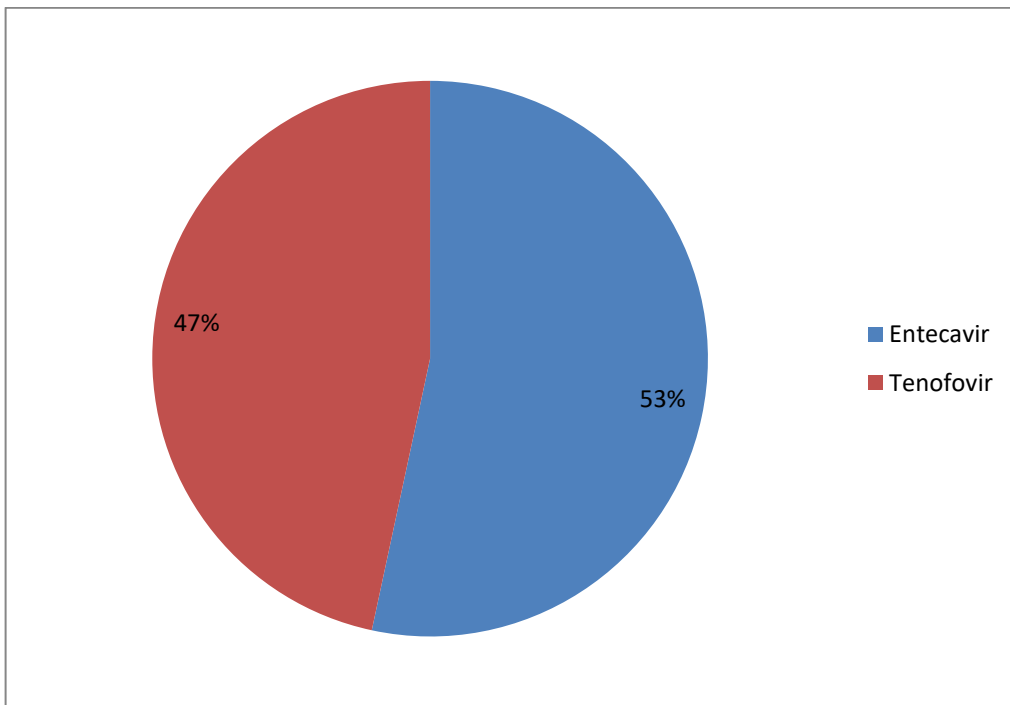


Figura 1.4. Impărțirea pacienților în loturi în funcție de regimul terapeutic utilizat.

1.3.4 DATELE CLINICE ALE PACIENȚILOR LA INCLUDEREA ÎN STUDIU:

La includerea în studiu, pacienții din cele 2 loturi ale studiului prezentau următoarele caracteristici:

Toți pacienții prezentau infecție cronică cu VHB și valori ale ADN-VHB > 2000 UI/ml, și aveau indicație de tratament antiviral conform recomandărilor CNAS.

Pacienții nu prezentau comorbidități semnificative din punct de vedere clinic, acestea constituiau criteriile de excludere din studiu.

91 de pacienți (44,71%) prezentau steatoză hepatică (Ecografic).

71 de pacienți (34,13%), prezentau hipertensiune arterială (HTA).

47 de pacienți (22,59%) erau obezi, conform IMC.

89 de pacienți (42,78%) prezentau dislipidemii (coelsterol seric >200 mg/dl și/sau trigliceride serice >150 mg/dl).

14 pacienți (6,73%) prezentau Diabet zaharat tip II. Niciunul dintre pacienți nu necesita insulinoterapie.

98 de pacienți (47,11%) prezentau fibroză hepatică grad I (FI), 67 pacienți (32,21%) prezentau fibroză hepatică grad II (FII), iar 43 de pacienți (20,67%) prezentau fibroză hepatică grad III (FIII) (Figura 1.7.).

Tabelul 1.4. Datele clinice ale pacienților la includerea în studiu.

Parametrul	Numar Pacienți
Hipertensiune arterială	71 (34,13%)
Obezitate	47 (22,59%)
Diabet zaharat	14 (6,73%)
Fibroză hepatică	208 - FI (47,12%) FII (32,21%) FIII (20,67%)
Disfuncție renală importantă (eRFG < 60 ml/min/1,73m ²)	0
Steatoză hepatică (Ecografic)	91 (44,71%)
Dislipidemii	89 (42,78%)

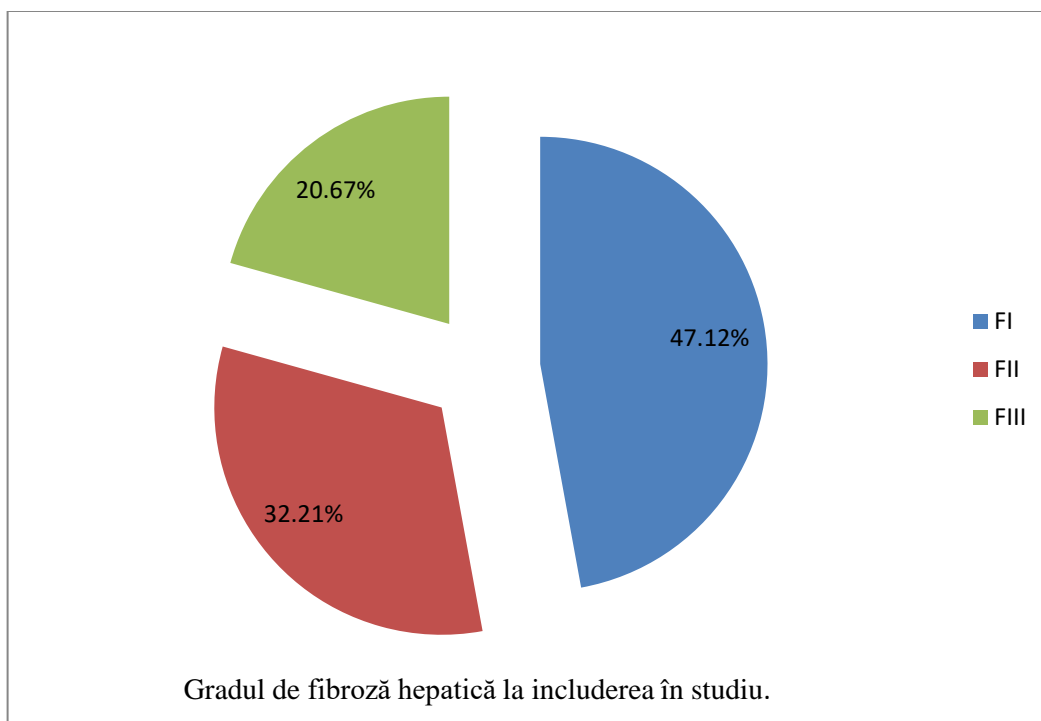


Figura 1.7. Gradul de fibroză hepatică la includerea în studiu.

1.4 Analiza statistică a datelor:

În cadrul studiului efectuat, analiza statistică a fost realizată cu ajutorul programului SPSS 21 (Statistical Package for the Social Sciences) (IBM Corporation, SUA). Analiza datelor statistice s-a efectuat pe un eșantion de 208 pacienți, studiul fiind unul prospectiv.

Prelucrarea statistică a inclus analiza descriptivă a variabilelor (mediana, medie, minimul, maximul, abaterea standard) s-a aplicat Testul Mann-Whitney atunci când au fost comparate două eșantioane independente și Testul Wilcoxon în compararea a două eșantioane perechi. Pentru mai mult de două eșantioane independente am utilizat Testul Kruskal-Wallis, iar pentru mai mult de două eșantioane perechi, am utilizat Testul Friedman.

Calcululele au vizat nu numai testarea semnificației diferențelor aceluiași parametru între diverse etape, dar și relațiile între diverse variabile la un moment dat, prin analiza de corelație utilizând Testului Spearman.

Mediana reprezintă parametrul care prin poziția pe care o ocupă, se află la mijlocul seriei de date, aceasta reprezintă punctul central al seriei. Abaterea standard reprezintă cea mai

cunoscută și cea mai larg utilizată măsură a variabilității datelor. În cazurile în care mediana nu a coincis cu media, pentru analiza statistică s-au utilizat următorii 2 coeficienți: coeficientul de asimetrie și respectiv coeficientul de boltire, aceștia ne arată măsura în care distribuția analizată se distinge de o distribuție normală. Skewness sau coeficientul de asimetrie (de oblicitate) - ne arată în ce măsură media se distanțează de mediană și implicit, în ce măsură curba de distribuție normală a datelor se depărtează de mijloc, orientându-se spre stânga sau spre dreapta. Kurtosis sau coeficientul de boltire - se referă la înălțimea curbei, comparativ cu cea normală. Valorile pozitive prezintă distribuții „înalte”, leptokurbice, iar cele negative prezintă distribuții „plate”, platikurbice.

Coeficientul de corelație Spearman (ρ) reprezintă principala alternativă a coeficientului de corelație Pearson în situațiile în care datele nu îndeplinesc condițiile solicitate pentru calculul coeficientului Pearson. Coeficientul de corelație Spearman a fost folosit pentru măsurarea valorilor a două variabile prezente în același eșantion pentru a determina dacă între acestea există o relație și care este intensitatea acesteia. Corelația a fost considerată pozitivă în situațiile în care creșterea valorilor unei variabile determină creșterea valorilor celeilalte variabile și negativă în situațiile în care creșterea valorilor unei variabile determină scăderea valorilor pentru cea de-a doua variabilă. Tipul corelației se exprimă în funcție de semnul coeficientului de corelație Spearman (Spearman's ρ), iar intensitatea legăturii dintre cele două variabile se exprimă în funcție de valoarea acestuia.

Coeficientul de corelație a rangurilor Spearman prezintă același domeniu de variație (-1/+1) și se interpretează similar ca și coeficientul de corelație pentru date parametrice Pearson. O valoare care se apropie de +1 indică o corelație pozitivă semnificativă; o valoare care se apropie de -1 ne indică o corelație negativă semnificativă, iar o valoare apropiată de zero indică faptul că între cele două variabile nu există corelație.

CAPITOLUL 2

2.1 REZULTATE

2.1.1 DINAMICA ANTIGENULUI HB_s CANTITATIV PE PARCURSUL TRATAMENTULUI

Dinamica valorilor antigenului HB_s cantitativ sub tratament antiviral poate evolua după mai multe tipare. Se poate observa o scădere rapidă a titrului AgHB_s, care se corelează frecvent cu un raspuns favorabil la tratament și o probabilitate mare de eliminare a AgHB_s și de seroconversie, în alte situații scăderea valorilor AgHB_s se produce lent sub tratament antiviral, fapt ce se corelează de obicei cu o probabilitate mai mică de eliminare a AgHB_s. Menținerea valorilor AgHB_s la valori constante sau creșterea acestora cu o rată rapidă sau lentă sub tratament antiviral de cele mai multe ori reprezintă un factor de prognosic rezervat cu o probabilitate mică de eliminare a AgHB_s.

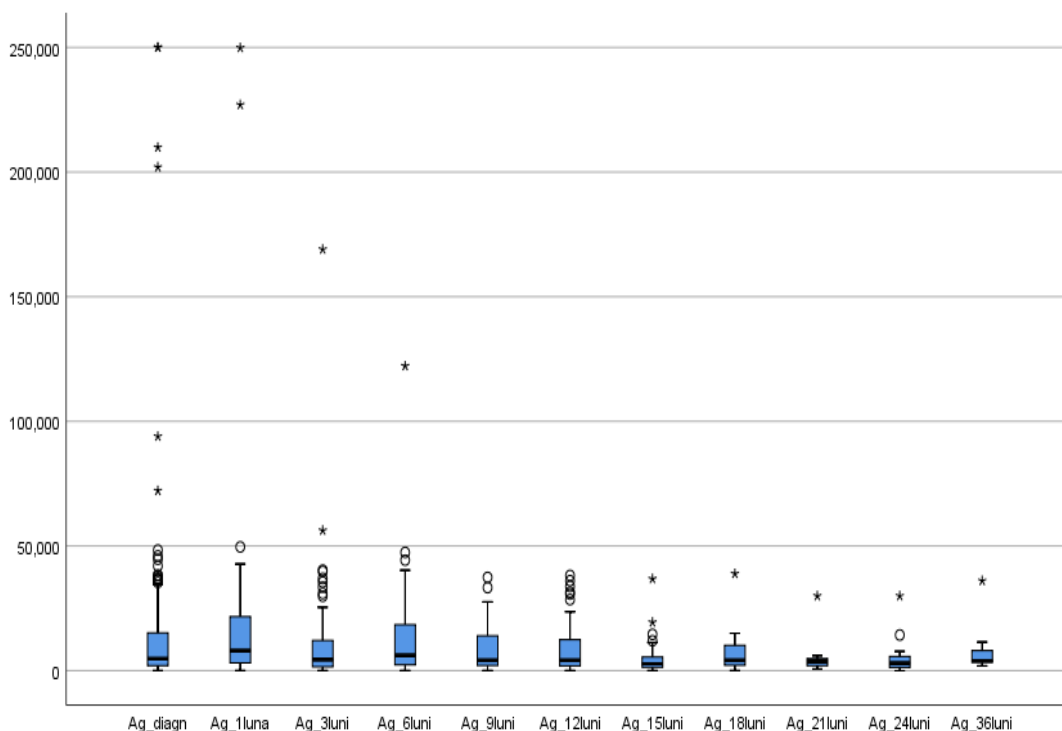


Figura 2.1. Valorile AgHB_s cantitativ pe parcursul perioadei de tratament.

În ceea ce privește tipul de tratament utilizat, nu s-au observat diferențe semnificative cu privire la cinetica antigenului HBs cantitativ între lotul de pacienți tratați cu Entecavir față de cei tratați cu Tenofovir (Figura 2.3).

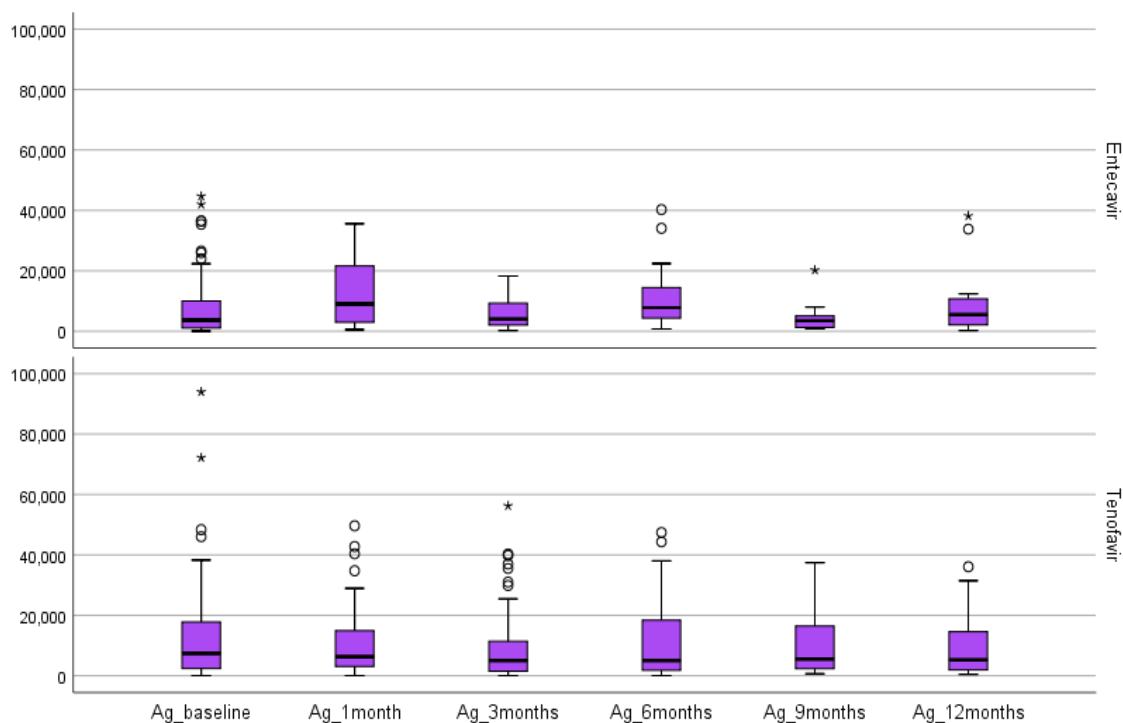


Figura 2.3. Cinetica antigenului HBs cantitativ la pacienții tratați cu Entecavir și Tenofovir.

Se observă o scădere semnificativă a valorilor AgHBs cantitativ pe tot parcursul perioadei de studiu, însă în primele 12 luni se observă o scădere rapidă, ulterior spre finalul perioadei de urmărire scăderea devine lentă. La nivel de mediană se observă o scădere semnificativă ce se menține constantă pe toată perioada de urmărire (Figura 2.4). Eliminarea completă a AgHBs cantitativ sau seroconversia în sistem HBs s-a constatat la un număr redus de pacienți. S-a observat faptul că după primele 12 luni de tratament rata de declin a nivelurilor AgHBs cantitativ s-a diminuat mai ales în cazul pacienților care prezentau valori ridicate ale AgHbs cantitativ la momentul introducerii acestora în studiu. Mai mult decât atât s-a observat că la unii pacienți cu valori înalte ale AgHBs cantitativ la includerea în studiu, după o perioadă de 18 luni de tratament au existat situații în care s-au înregistrat creșteri ale valorilor AgHBs cantitativ.

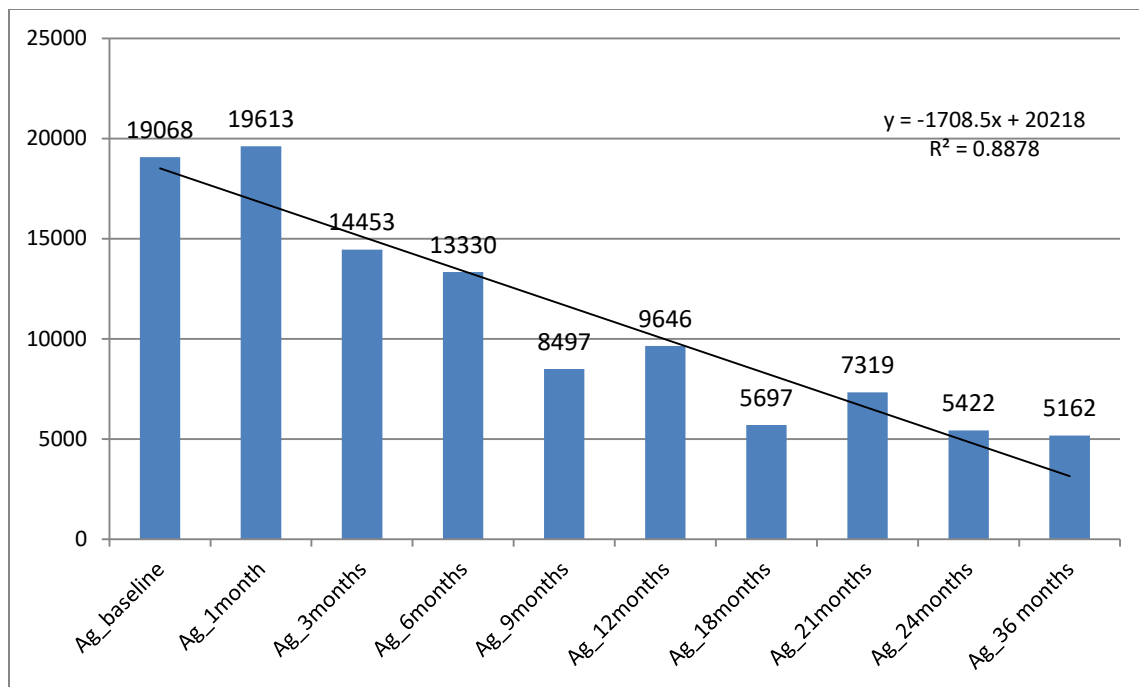


Figura 2.4. Evoluția valorii medii a AgHBs cantitativ pe parcursul perioadei de tratament.

2.1.3 CORELAȚII

La fiecare vizită de studiu s-au determinat corelațiile Pearson și Spearman între valorile AgHBs cantitativ și markerii funcției hepatice (AST, ALT, Bilirubina totală, Albumina, Colesterol total, INR), valorile AFP pentru a determina dacă există corelații între valorile AgHBs cantitativ și riscul de apariție a carcinomului hepatocelular.

În urma analizei rezultatelor calculelor statistice, atât pe etape cât și la nivel de mediană putem afirma că nivelul seric al AgHBs cantitativ se corelează moderat spre slab pozitiv cu valorile albuminei serice, semnificativ statistic. Nivelul seric al AgHBs cantitativ se corelează slab pozitiv cu valorile serice ale ALT semnificativ statistic. Nivelul seric al AgHBs cantitativ se corelează negativ, semnificativ statistic cu valorile colesterolului total. Nivelurile serice ale AgHBs cantitativ se corelează slab negativ cu nivelurile serice ale AFP nesemnificativ statistic. De asemenea putem să afirmăm că nivelurile AgHBs cantitativ nu se corelează semnificativ statistic cu nivelurile serice ale AST, bilirubinei totale, trombocitelor și ale INR.

După perioada de urmărire de 48 de luni nu s-a constatat apariția niciunui caz de CHC și niciunul dintre pacienți nu a dezvoltat ciroză hepatică, gradul maxim de fibroză hepatică (măsurat prin elastografie) a rămas F3 cu mențiunea că la un procent important de pacienți (38%) s-a observat regresia gradului de fibroză hepatică, în special în rândul pacienților cu F1 și F2 unde s-a observat regresia susținută a gradului de fibroză hepatică (masurată prin elastografie) la F0 respectiv F1. Astfel încât dacă la inițierea terapiei cu AN 98 de pacienți (47%) prezentau fibroza hepatică gradul I, 67 de pacienți (32%) prezentau fibroză hepatică gradul II și 43 de pacienți (21%) prezentau fibroză hepatică grad III, la sfârșitul celor 48 de luni de urmărire s-a observat o distribuție net diferită a gradului de fibroză hepatică (Figura 2.5.), 37 de pacienți (18%) prezentau fibroză hepatică gradul III, 51 de pacienți (25%) prezentau fibroză hepatică gradul II, 78 de pacienți (37%) prezentau fibroză hepatică gradul I și 42 de pacienți (20%) nu mai prezentau fibroză hepatică (F0). În ceea ce privește gradul de corelație între nivelul seric al AgHBs cantitativ și gradul de fibroză hepatică este dificil deoarece datele din literatură sugerează că un nivel scăzut al AgHBs cantitativ poate reflecta un grad înalt de fibroză hepatică în cazul pacienților AgHBe(+).

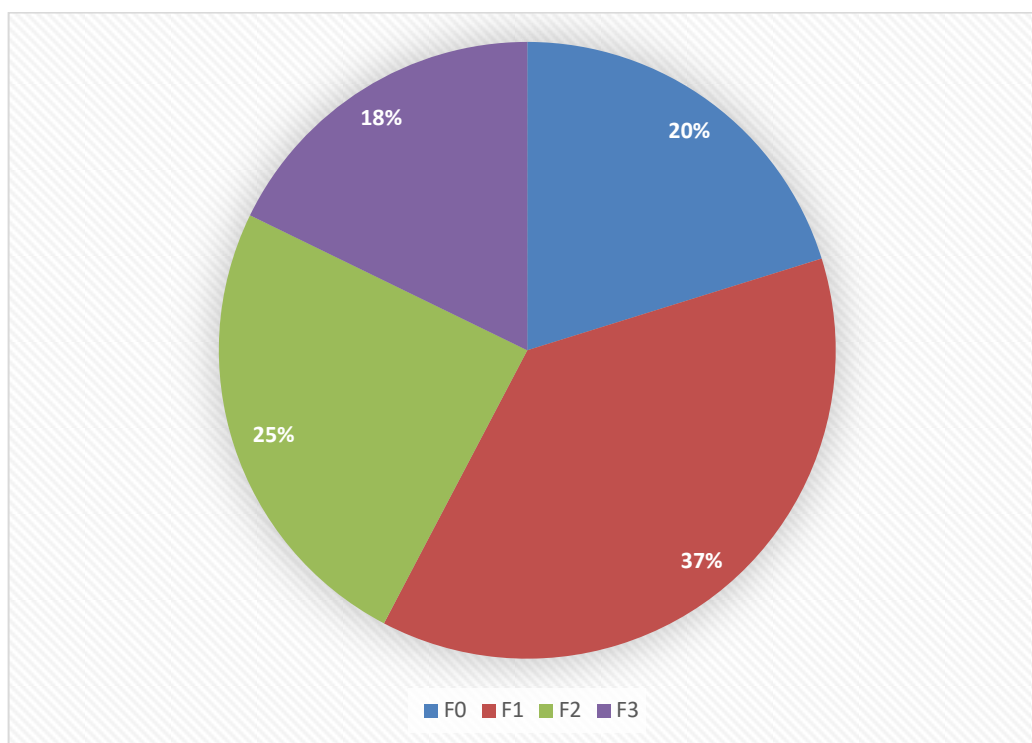


Figura 2.5. Repartiția în funcție de gradul de fibroză hepatică la finalul perioadei de urmărire.

2.2 DISCUȚII

În cadrul studiului nostru la toți pacienții tratați cu Entecavir sau Tenofovir s-a obținut supresia eficientă a ADN-ului VHB pe termen lung, toți pacienții prezentau valori nedetectabile ale ADN-ului VHB și la niciunul dintre aceștia nu s-a înregistrat reparația acestuia pe întreaga perioadă de urmărire. În ceea ce privește eliminarea AgHBe, majoritatea pacienților cu agHBe pozitiv au eliminat AgHBe cu sau fără seroconversie în sistem HBe, mai mult decât atât cele mai importante rate de declin ale AgHBs cantitativ s-au obținut la pacienții HBe pozitivi care au eliminat AgHBe.

Răspunsul biochimic susținut a reprezentat regula, după eliminarea AND VHB-ului valorile ALT au ajuns să se încadreze în limitele normale indiferent de valorile AgHBs.

Eliminarea AgHBs cu sau fără apariția seroconversiei în sistem HBs a reprezentat un eveniment rar întâlnit, doar 3 dintre pacienții tratați cu analogi nucleot(z)idici (1,44%) au eliminat complet AgHBs cantitativ. Este vorba de 3 pacienți care prezentau valori reduse ale AgHBs cantitativ la înrolarea în studiu și au prezentat o scădere rapidă a titrului AgHBs cantitativ. La sfârșitul perioadei de urmărire mai existau 5 pacienți (2,4%) cu valori reduse ale AgHBs cantitativ (<200 UI/ml) care de asemenea au înregistrat scăderi rapide ale valorilor AgHBs. Acești pacienți conform tiparului evolutiv prezintă o probabilitate înaltă de a elimina complet AgHBs cantitativ în următorii 1-2 ani.

În cadrul studiului nostru la toți pacienții tratați cu Entecavir sau Tenofovir s-a obținut supresia eficientă a ADN-ului VHB pe termen lung, toți pacienții prezentau valori nedetectabile ale ADN-ului VHB și la niciunul dintre aceștia nu s-a înregistrat reparația acestuia pe întreaga perioadă de urmărire. În ceea ce privește eliminarea AgHBe, majoritatea pacienților cu agHBe pozitiv au eliminat AgHBe cu sau fără seroconversie în sistem HBe, mai mult decât atât cele mai importante rate de declin ale AgHBs cantitativ s-au obținut la pacienții HBe pozitivi care au eliminat AgHBe.

Răspunsul biochimic susținut a reprezentat regula, după eliminarea AND VHB-ului valorile ALT au ajuns să se încadreze în limitele normale indiferent de valorile AgHBs.

Eliminarea AgHBs cu sau fără apariția seroconversiei în sistem HBs a reprezentat un eveniment rar întâlnit, doar 3 dintre pacienții tratați cu analogi nucleot(z)idici (1,44%) au eliminat complet AgHBs cantitativ. Este vorba de 3 pacienți care prezentau valori reduse ale

AgHBs cantitativ la înrolarea în studiu și au prezentat o scădere rapidă a titrului AgHBs cantitativ. La sfârșitul perioadei de urmărire mai existau 5 pacienți (2,4%) cu valori reduse ale AgHBs cantitativ (<200 UI/ml) care de asemenea au înregistrat scăderi rapide ale valorilor AgHBs. Acești pacienți conform tiparului evolutiv prezintă o probabilitate înaltă de a elimina complet AgHBs cantitativ în următorii 1-2 ani.

O slabă corelație negativă semnificativă statistic a fost identificată între valorile AgHBs și ale colesterolului total ($r = -0,16$, $p = 0,05$). Cu toate că acest studiu nu poate preciza cu exactitate mecanismele prin care steatoza hepatică afectează ciclul de replicare al VHB se pare că un rol important îl joacă factorii metabolici ai gazdei. O rată mai înaltă de eliminare a AgHBs a fost raportată în rândul populației cu obezitate sau cu un IMC superior. Ținând cont de faptul că dintre cei trei pacienți care au eliminat AgHBs 2 prezentau steatoză hepatică iar dintre aceștia unul era supraponderal și dislipidemic putem afirma că în studiul nostru prezența steatozei hepatice, hipercolesterolemia și o valoare a IMC ≥ 25 ar putea reprezenta factori favorizanți pentru eliminarea AgHBs cu sau fără seroconversie în sistem HBs.

2.3 CONCLUZII

În scopul atingerii obiectivelor cercetării și verificării ipotezelor, am utilizat datele obținute de la un număr de 208 pacienți cu HC-VHB aflați în tratament cu Entecavir sau Tenofovir pe o perioadă de 48 de luni în clinica de Medicină Internă a I.C. Fundeni. Au fost urmărite valorile AgHBs cantitativ și valorile altor markeri hepatici (ALT, AST, bilirubina totală, albumina, colesterol total, INR, număr de trombocite, grad de fibroză hepatică) la intervalele stabilite la inițierea studiului și s-au stabilit corelații între valorile acestora. Pentru stabilirea corelațiilor dintre aceste variabile am utilizat coeficientul de corelație Pearson în situațiile în care datele nu au îndeplinit condițiile solicitate pentru calculul coeficientului Pearson alternativa a fost reprezentată de coeficientul de corelație Spearman (ρ).

S-au identificat corelații pozitive semnificative statistic între valorile AgHBs cantitativ și ale ALT ($r = 0,28$, $p = 0,005$), între valorile AgHBs cantitativ și ale albuminei serice ($r = 0,27$, $p = 0,04$). Corelația pozitivă dintre valorile AgHBs cantitativ și valorile albuminei serice poate fi

consecința activității receptorilor PAR de la nivelul domeniului preS2 al AgHBs. Activitatea PAR poate reprezenta un marker distinct în evaluarea statusului replicativ al VHB.

Între valorile AgHBs și ale colesterolului total s-a identificat o corelație slab negativă semnificativă statistic ($r = -0,16$, $p = 0,05$). S-a constatat că profilul lipidic al pacienților cu HC-VHB diferă de profilul lipidic al populației generale, valorile colesterolului total, ale trigliceridelor și ale LDL colesterolului tind să fie mai joase în cazul pacienților cu HC-VHB. S-a observat că în cazul pacienților supraponderali, cu dislipidemie sau cu steatoză hepatică, valorile AgHBs cantitativ tind să fie mai joase față de populația care nu prezintă aceste particularități, mai mult decât în cazul pacienților supraponderali, dislipidemici sau cu steatoză hepatică rata de declin a AgHBs cantitativ și rata de eliminare a acestuia au fost superioare față de pacienții cu un profil lipidic normal și fără steatoză hepatică.

Între valorile AgHBs cantitativ și cele ale AFP s-a identificat o corelație slab negativă, ne semnificativă statistic ($r = -0,17$, $p = 0,8$). Această corelație poate fi pusă pe seama faptului că un nivel înalt al AFP poate să reflecte un sindrom de citoliză hepatică extensivă mediată imun care să ducă la declinul nivelului seric al AgHBs.

Nu s-au identificat corelații semnificative statistic între valorile AgHBs cantitativ și ale AST ($r = 0,17$, $p = 0,08$), între valorile AgHBs cantitativ și ale bilirubinei totale ($r = -0,15$, $p = 0,7$), între valorile AgHBs și ale INR ($r = -0,03$, $p = 0,9$) și nici între valorile AgHBs cantitativ și ale trombocitelor ($r = 0,07$, $p = 0,8$).

Un alt scop important al studiului a fost acela de a determina valoarea predictivă a cineticii AgHBs cantitativ în anticiparea răspunsului sau eșecului terapeutic. S-a observat o rată mai înaltă de declin a AgHBs cantitativ în cazul pacienților HBe(+) comparativ cu pacienții Hbe(-). După eliminarea AgHBe cu sau fără seroconversie în sistem HBe rata de declin a nivelurilor serice ale AgHBs cantitativ devine comparabilă cu cea a pacienților HBe(-) la inițierea terapiei antivirale cu ENT sau TDF. Principalii factori care au prezis eliminarea AgHBs cantitativ cu sau fără seroconversie în sistem HBs au fost reprezentați de:

1. Valorile scăzute ale AgHBs (< 200 UI/ml), prezic eliminarea AgHBs în 12-24 de luni de tratament antiviral.
2. Rata rapidă de declin a nivelului seric al AgHBs cantitativ ($\geq 0,5$ log în 6 luni de tratament) a reprezentat un alt factor important de predicție al eliminării AgHBs.

3. Declinul rapid al valorilor AgHBs cantitativ în primele 12 luni de tratament se asociază cu un raspuns terapeutic superior. Pacienții la care se înregistrează un declin rapid al valorilor AgHBs cantitativ în primele 12 luni de tratament tind să evolueze spre eliminarea AgHBs, pe când pacienții care în această perioadă înregistrează un declin lent al valorilor AgHBs tind ulterior să evolueze în platou.
4. Creșterea nivelului AgHBs cantitativ sau evoluția acestuia în platou la pacienții aflați în tratament antiviral cu ENT și TDF se asociază cu o probabilitate foarte joasă de eliminare a AgHBs, însă dacă la acești pacienți se mențin răspunsul virusologic (ADN-VHB nedetectabil) și răspunsul biochimic (valori serice normale ale ALT) rata de apariție a complicațiilor (CHC, CH, progresia gradului de fibroză hepatică) este comparabilă cu cea a pacienților la care s-au înregistrat scăderi semnificative ale valorilor AgHBs cantitativ.

În ceea ce privește relația dintre titrul AgHBs și gradul de fibroză hepatică s-a observat că pacienții cu un grad semnificativ de fibroză hepatică $\geq F2$ prezintă valori mai joase ale AgHBs cantitativ față de pacienții cu F0 și FI ($p=0,05$). În cadrul studiului nu s-au calculat corelații între gradul de steatoză hepatică și valorile AgHBs cantitativ, însă ținând cont de faptul că gradul de fibroză hepatică a fost determinat prin elastografie (metoda fibroscan) și că atât din specificațiile metodei cât și din experiența personală (aproximativ 10000 de evaluări fibroscan) se cunoaște faptul că un grad semnificativ de steatoză hepatică sau un BMI > 25 reprezintă elemente care supraapreciază gradul de fibroză hepatică determinat prin această metodă considerăm necesară efectuarea unui studiu care să stabilească relația dintre gradul de steatoză hepatică și titrul AgHBs cantitativ.

S-a observat că după cele 48 de luni de tratament antiviral gradul de fibroză hepatică a scăzut semnificativ ($p=0,001$), în special în cazul pacienților cu fibroză hepatică $\leq F2$. Astfel încât dacă la inițierea terapiei cu AN (Figura 15) 98 de pacienți (47%) prezentau fibroză hepatică gradul I, 67 de pacienți (32%) prezentau fibroză hepatică gradul II și 43 de pacienți (21%) prezentau fibroză hepatică grad III, la sfârșitul celor 48 de luni de urmărire s-a observat o distribuție net diferită a gradului de fibroză hepatică (Figura 32), 37 de pacienți (18%) prezentau fibroză hepatică gradul III, 51 de pacienți (25%) prezentau fibroză hepatică gradul II, 78 de pacienți (37%) prezentau fibroză hepatică gradul I și 42 de pacienți (20%) nu mai prezentau

fibroză hepatică (F0). Ținând cont de faptul că regresia gradului de fibroză hepatică s-a produs mai rapid decât declinul nivelurilor serice ale AgHBs cantitativ nu putem afirma că există o relație directă între declinul titrului AgHBs și regresia fibrozei hepatice. Se pare că un rol mai important în regresia fibrozei hepatice este atribuit răspunsului virusologic (ADN-VHB nedetectabil) și răspunsului biochimic (normalizarea valorilor ALT).

Pe parcursul studiului a fost evaluat riscul de apariție al principalelor complicații ale HC-VHB respectiv CH și CHC prin monitorizarea nivelurilor serice ale AFP, albuminei serice, numărului de trombocite, INR, gradului de fibroză hepatică (fibrosan), evaluări imagistice periodice (ecografie abdominală la fiecare vizită, CT cu substanță de contrast în situațiile în care evaluarea ecografică nu a fost relevantă). Pe parcursul perioadei de studiu nu s-au înregistrat cazuri noi de CH sau CHC în rândul pacienților urmăriți. Mai mult decât atât s-au identificat corelații slab negative între valorile AFP și ale AgHBs cantitativ ($r = -0,17$, $p = 0,08$) și corelații pozitive între valorile albuminei serice și ale AgHBs cantitativ ($r = 0,27$, $p = 0,04$). De asemenea nu au fost raportate reacții adverse la tratamentul antiviral.

A fost comparată evoluția pacienților din cele două loturi de studiu respectiv pacienții tratați cu Entecavir și Tenofovir. Nu s-au identificat diferențe semnificative în ceea ce privește cinetica AgHBs cantitativ între cele 2 loturi de pacienți (Figura 30). De asemenea nu au fost raportate cazuri de rezistență la tratament pentru niciunul dintre regimurile terapeutice. Menționăm că pacienții non-complianți au fost excluși din studiu.

Cu toate că eliminarea AgHBs cu sau fără seroconversie în sistem HBs în cazul pacienților tratați cu AN reprezintă un eveniment rar întâlnit și că declinul nivelului seric al AgHBs cantitativ este un proces foarte lent care poate dura decade, rezultatele studiului nostru dovedesc că terapia cu AN pe termen lung scade riscul de apariție al complicațiilor (CH și CHC), induce regresia gradului de fibroză hepatică și pentru anumite categorii de pacienți accelerează rata de eliminare a AgHBs cantitativ comparativ cu pacienții netratați. Astfel suntem îndreptățiți să afirmăm că terapia cu AN pe termen lung sau pe viață în cazul unor pacienți este complet justificată dacă nu există reacții adverse la tratament. Mai mult decât atât în cazul pacienților cu niveluri scăzute ale AgHBs cantitativ (<200 UI/ml), categorie de pacienți la care conform unor autori se poate lua în calcul oprirea terapiei antivirale cu AN considerăm că este deosebit de important ca terapia cu AN să continue deoarece conform rezultatelor studiului nostru la acești pacienți există o probabilitate înaltă de eliminare a AgHBs în următoarele 12-24 luni.

Valoarea pragului de semnificație statistică în analiza bivariată dintre nivelurile serice ale AgHBs cantitativ și valorile serice ale ALT, albuminei serice, colesterolului seric total, AFP ne indică existența unor corelații semnificative statistic între acestea. Putem concluziona astfel că în eșantionul studiat, valorile AgHBs cantitativ se corelează moderat spre slab pozitiv cu valorile ALT și cele ale albuminei și slab negativ cu valorile colesterolului total și ale AFP. Rezultatele au demonstrat că nu există corelații semnificative statistic între valorile AgHBs cantitativ și cele ale ALT, bilirubinei totale, INR și ale trombocitelor.

Durata de urmărire a pacienților a fost de 48 de luni, analiza statistică a arătat o rată medie lentă, dar constantă de declin a nivelurilor AgHBs cantitativ și a identificat anumite particularități care pot prezice eliminarea AgHBs cantitativ. Nu s-au identificat diferențe semnificative în ceea ce privește cinetica AgHBs cantitativ între loturile de pacienți tratați cu ENT și respectiv TDF. Faptul că în decursul celor 48 de luni de urmărire nu au fost raportate complicații ale HC-VHB ne indică faptul că terapia prelungită cu AN cu barieră genetică înaltă scade rata de apariție a CH și CHC. Mai mult decât atât regresia semnificativă a gradului de fibroză hepatică la pacienții tratați cu AN ne îndreptățește să afirmăm că prelungirea tratamentului antiviral este complet justificată pe o perioadă nedefinită.

Corelația negativă dintre nivelul AgHBs cantitativ și cel al colesterolului total împreună cu rezultatele promițătoare obținute în cazul pacienților cu steatoză hepatică și BMI >25 subliniază importanța efectuării unor studii viitoare care să stabilească o legătură directă și semnificativă statistic între profilul lipidic și steatoza hepatică și mecanismele imune implicate în eliminarea AgHBs.

Bibliografie selectivă:

1. World Health Organization. Global Hepatitis Report 2017. Geneva (CH): WHO, 2017.
2. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
3. World Health Organization. Hepatitis B vaccines: WHO position paper (July 2017) [Internet] Geneva (CH): WHO, c2019. [cited 2019 Feb 11]. Available from: https://www.who.int/immunization/policy/position_papers/hepatitis_b/en/.
4. Hepatitis B: The Virus and Disease; T. Jake Liang; Hepatology. 2009 May; 49(5 Suppl): S13–S21. doi: 10.1002/hep.22881.
5. The Structural Biology of Hepatitis B Virus: Form and Function; Balasubramanian Venkatakrishnan and Adam Zlotnick; Annu Rev Virol. 2016 Sep 29; 3(1): 429–451.
6. Characterization of hepatitis B virus with complex structural variations; Kei Fujiwara, Kentaro Matsuura, Kayoko Matsunami, Etsuko Iio & Shunsuke Nojiri BMC Microbiology volume 18, Article number: 202 (2018)
7. Littlejohn M, Locarnini S, Yuen L. Origins and evolution of hepatitis B virus and hepatitis D virus. Cold Spring Harb Perspect Med. 2016;6:a021360.
8. Raimondi S, Maisonneuve P, Bruno S, Mondelli MU. Is response to antiviral treatment influenced by hepatitis B virus genotype? J Hepatol. 2010;52:441–9.
9. Kato H, Orito E, Gish RG, Bzowej N, Newsom M, Sugauchi F, Suzuki S, Ueda R, Miyakawa Y, Mizokami M. Hepatitis B e antigen in sera from individuals infected with hepatitis B virus of genotype G. Hepatology. 2002;35:922–9.
10. Fujiwara K, Matsunami K, Iio E, Nojiri S, Joh T. Novel non-canonical genetic rearrangements termed “complex structural variations” in HBV genome. Virus Res. 2017;238:84–93.
11. Sonneveld MJ, Hansen BE, Piratvisuth T, Jia JD, Zeuzem S, Gane E, Liaw YF, Xie Q, Heathcote EJ, Chan HL, Janssen HL. Response-guided peginterferon therapy in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B using serum hepatitis B surface antigen levels. Hepatology. 2013;58:872–80.
12. Hepatitis B virus large surface protein: function and fame; Yuri Churin, Martin Roderfeld, and Elke Roeb; Hepatobiliary Surg Nutr. 2015 Feb; 4(1): 1–10. doi: 10.3978/j.issn.2304-3881.2014.12.08
13. Levrero M, Pollicino T, Petersen J, et al. Control of cccDNA function in hepatitis B virus infection. J Hepatol 2009;51:581-92. [PubMed] [Google Scholar]
14. Glebe D, Bremer CM. The molecular virology of hepatitis B virus. Semin Liver Dis 2013;33:103-12. [PubMed] [Google Scholar]
15. Glebe D, Urban S. Viral and cellular determinants involved in hepadnaviral entry. World J Gastroenterol 2007;13:22-38. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar].
16. Gerlich WH. Medical virology of hepatitis B: how it began and where we are now. Virol J 2013;10:239. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
17. Bruss V. Hepatitis B virus morphogenesis. World J Gastroenterol 2007;13:65-73. [PMC free article][PubMed] [Google Scholar]
18. Vanlandschoot P, Leroux-Roels G. Viral apoptotic mimicry: an immune evasion strategy developed by the hepatitis B virus? Trends Immunol 2003;24:144-7. [PubMed] [Google Scholar]

19. European Association for the Study of the Liver ↑ EASL 2017 Clinical Practice Guidelines on the management of hepatitis B virus infection
20. Terrault NA, Bzowej NH, Chang K-M, Hwang JP, Jonas MM, Murad MH, et al. AASLD guidelines for treatment of chronic hepatitis B. *Hepatology* 2016;63:261–283.
21. Lok AS, McMahon BJ, Brown RS, Wong JB, Ahmed AT, Farah W, et al. Antiviral therapy for chronic hepatitis B viral infection in adults: A systematic review and meta-analysis. *Hepatology* 2016;63:284–306.
22. Jaoude GA, Sureau C. Role of the antigenic loop of the hepatitis B virus envelope proteins in infectivity of hepatitis delta virus. *Journal of virology*. 2005;79(16):10460–6. pmid:16051838
23. Carman WF. The clinical significance of surface antigen variants of hepatitis B virus. *Journal of viral hepatitis*. 1997;4 Suppl 1:11–20.
24. Paul F. Coleman; Detecting Hepatitis B Surface Antigen Mutants; *Emerging Infectious Diseases Journal* Volume 12, Number 2—February 2006
25. Chan HL, Wong VW, Tse AM, Tse CH, Chim AM, Chan HY, et al. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2007;5:1462–1468.
26. Chan HL, Thompson A, Martinot-Peignoux M, Piratvisuth T, Cornberg M, Brunetto MR, et al. Hepatitis B surface antigen quantification: why and how to use it in 2011 - a core group report. *J Hepatol* 2011;55:1121–1131.
27. Locarnini S, Hatzakis A, Chen DS, Lok A. Strategies to control hepatitis B: Public policy, epidemiology, vaccine and drugs. *J Hepatol* 2015;62:S76–S86
28. Markus Cornberg¹, Vincent Wai-Sun Wong², Stephen Locarnini³, Maurizia Brunetto⁴, Harry L.A. Janssen⁵, Henry Lik-Yuen Chan^{2,†}; The role of quantitative hepatitis B surface antigen revisited; *EASL Journal of hepatology* 16 august 2016; p j 398–411
29. Ma Q, Wang Y. Comprehensive analysis of the prevalence of hepatitis B virus escape mutations in the major hydrophilic region of surface antigen. *J Med Virol*. 2012; 84(2) : 198 -206 [DOI][PubMed]
30. K. Koike, T. Tsutsumi, H. Fujie, Y. Shintani, and K. Moriya, “Molecular mechanism of viral hepatocarcinogenesis,” *Oncology*, vol. 62, supplement 1, pp. 29–37, 2002.
31. D. Cougot, C. Neuveut, and M. A. Buendia, “HBV-induced carcinogenesis,” *Journal of Clinical Virology*, vol. 34, supplement 1, pp. S75–S78, 2005.
32. H. L. Y. Chan and J. J. Y. Sung, “Hepatocellular carcinoma and hepatitis B virus,” *Seminars in Liver Disease*, vol. 26, no. 2, pp. 153–161, 2006.
33. J. H. Hung, I. J. Su, H. Y. Lei et al., “Endoplasmic reticulum stress stimulates the expression of cyclooxygenase-2 through activation of NF-κB and pp38 mitogen-activated protein kinase,” *Journal of Biological Chemistry*, vol. 279, no. 45, pp. 46384–46392, 2004.
34. Buti M, Rodríguez Frías F, Esteban R: Quantification of hepatitis B virus HBsAg: clinical implications. *Med Clin (Barc)*. 2012; 138(11):483-8.
35. Thompson, A. J. et al. Serum hepatitis B surface antigen and hepatitis B e antigen titers: disease phase influences correlation with viral load and intrahepatic hepatitis B virus markers. *Hepatology* 51, 1933–1944, doi: 10.1002/hep.23571 (2010).
36. Chan, H. L. et al. Serum hepatitis B surface antigen quantitation can reflect hepatitis B virus in the liver and predict treatment response. *Clin Gastroenterol Hepatol* 5, 1462–1468, doi: 10.1016/j.cgh.2007.09.005 (2007).

37. Sonneveld, M. J. et al. Response-guided peginterferon therapy in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B using serum hepatitis B surface antigen levels. *Hepatology* 58, 872–880, doi: 10.1002/hep.26436 (2013).
38. Peng, C.-Y. et al. Early hepatitis B surface antigen decline predicts treatment response to entecavir in patients with chronic hepatitis B. *Sci. Rep.* 7, 42879; doi: 10.1038/srep42879 (2017).
39. Samant H, Joshi A et al. Correlation of Quantitative HBsAg with Quantitative HBV DNA in Different Phases of Chronic Hepatitis B (CHB) Patients. *J Liver Res Disord Ther.* 2016; 1(3). <https://doi.org/10.15406/jlrdt.2016.01.00014>
40. Cornberg M, Wong VW, Locarnini S, Brunetto M, Janssen HL, Chan HL. The role of quantitative hepatitis B surface antigen revisited. *J Hepatol.* 2017; 66:398-411.
41. Martinot-Peignoux M, Carvalho RJ, Cardoso AC, Lapalus M, Lada O, Asselah T, Krause F, Marcellin P. Hepatitis B surface antigen serum level is associated with fibrosis severity in treatment-naïve, e antigen positive patients. *Hepatol.* 2013; 58(6):1089-95.