

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

**ȘCOALA DOCTORALĂ**

**DOMENIUL MEDICINĂ**



*Evaluarea dinamicii biomarkerilor fibrozei hepatice și a profilului  
metabolic la pacienții cu ciroză hepatică cu VHC care au înregistrat SVR sub  
regimuri terapeutice Interferon-free*

**REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT**

**Conducător de doctorat:**

**PROF. UNIV. DR. ARAMĂ VICTORIA**

**Student-doctorand:**

**LEUȘTEAN (căs. ȘARAN) ANCA**

2024

## CUPRINS

<b>LISTA CU LUCRĂRILE ȘTIINȚIFICE PUBLICATE.....</b>	<b>6</b>
<b>LISTA CU ABREVIERI ȘI SIMBOLURI .....</b>	<b>10</b>
<b>INTRODUCERE .....</b>	<b>12</b>
<b>PARTEA GENERALĂ.....</b>	<b>14</b>
<b>1. Noțiuni generale despre infecția cu VHC și dinamica fibrozei hepatice asociată infecției cu VHC.....</b>	<b>15</b>
1.1. Epidemiologia infecției cu VHC.....	15
1.2. Aspecte clinico-evolutive în infecția cu VHC .....	16
1.2.1. Hepatita acută .....	16
1.2.2. Hepatita cronică .....	17
1.2.3. Ciroza hepatică și carcinomul hepatocelular .....	17
1.2.4. Manifestări extrahepatice asociate infecției cu VHC .....	18
1.2.5. Managementul infecției cu VHC .....	19
1.3. Fibrogeneza asociată infecției cu VHC .....	27
1.4. Regresia fibrozei – mecanisme și consecințe clinice.....	29
<b>2. Metode de evaluare a fibrozei hepatice.....</b>	<b>31</b>
2.1. Puncția biopsie hepatică.....	31
2.2. Metode non-invazive .....	31
2.2.1. Metode non-invazive bazate pe biomarkeri ai fibrozei .....	32
2.2.1.1. Markerii serici direcți ai fibrozei .....	32
2.2.1.2. Markerii serici indirecti ai fibrozei .....	34
2.2.2. Metode non-invazive bazate pe tehnici imagistice.....	36
<b>CONTRIBUȚII PERSONALE .....</b>	<b>37</b>

<b>3. Ipoteza de lucru și obiectivele studiului .....</b>	<b>38</b>
<b>4. Metodologia generală a cercetării.....</b>	<b>40</b>
4.1. Planul studiului .....	40
4.2. Criterii de includere .....	42
4.3. Criterii de excludere.....	42
4.4. Colectarea datelor și prelucrarea statistică.....	42
4.5. Descrierea lotului .....	43
4.6. Parametri biologici la inițierea terapiei antivirale: analiză comparativă între cele două loturi.....	47
4.7. Evoluția în dinamică a parametrilor biologici pe parcursul celor 7 ani de monitorizare: analiză comparativă între lotul pacienților cirofici vs non-cirofici .....	48
<b>5. Studiul 1: Evaluarea regresiei fibrozei prin APRI și FIB-4 la pacienții cu ciroză hepatică vs hepatită cronică cu VHC, după obținerea RVS sub terapie antivirală cu DAA .....</b>	<b>58</b>
5.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice .....	58
5.2. Pacienți și metode .....	58
5.3. Rezultate .....	59
5.4. Discuții.....	68
5.5. Concluzii.....	70
<b>6. Studiul 2: Evaluarea regresiei fibrozei prin <i>FibroTest</i> la pacienți cu ciroză hepatică vs hepatită cronică cu VHC, după obținerea RVS sub terapie antivirală cu DAA.....</b>	<b>71</b>
6.1. Ipoteza de lucru și obiective specifice .....	71
6.2. Pacienți și metode .....	71
6.3. Rezultate .....	72

6.4	Discuții.....	88
6.5	Concluzii .....	94
<b>7.</b>	<b>Studiul 3: Evaluarea dinamicii profilului metabolic la pacienții cu ciroză cu VHC vs pacienți cu hepatită cronică cu VHC, care au obținut RVS după terapia antivirală cu DAA .....</b>	<b>96</b>
7.1.	Ipoteza de lucru și obiective specifice .....	96
7.2.	Pacienți și metode .....	96
7.3.	Rezultate .....	97
7.4.	Discuții.....	105
7.5.	Concluzii.....	106
<b>8.</b>	<b>Concluzii și contribuții personale .....</b>	<b>108</b>
	<b>Bibliografie.....</b>	<b>118</b>

## REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

### ***Evaluarea dinamicii biomarkerilor fibrozei hepatice și a profilului metabolic la pacienții cu ciroză hepatică cu VHC care au înregistrat SVR sub regimuri terapeutice Interferon-free***

Teza de doctorat „*Evaluarea dinamicii biomarkerilor fibrozei hepatice și a profilului metabolic la pacienții cu ciroză hepatică cu VHC care au înregistrat SVR sub regimuri terapeutice Interferon-free*” este împărțită în două părți, una generală - care conține două capitole în care sunt abordate date din literatura de specialitate privind subiectul prezentei cercetări doctorale, și o parte de contribuții personale - structurată în șase subcapitole în care sunt detaliate obiectivele cercetării doctorale, metodologia specifică studiului, rezultatele, concluziile și implicațiile practice ale prezentei cercetări doctorale.

#### **PARTEA GENERALĂ**

##### **CAPITOLUL 1: Noțiuni generale despre infecția cu VHC și dinamica fibrozei hepatice asociată infecției cu VHC**

Capitolul 1 al cercetării doctorale conține date generale din literatura de specialitate referitoare la epidemiologia infecției cu VHC [1], la aspectele clinice și manifestările asociate infecției cu VHC [2], dar și date despre managementul infecției cronice cu VHC [3]. Cea de-a doua parte a acestui capitol o reprezintă o sinteză a datelor referitoare la mecanismele și consecințele clinice ale fibrogenezei și ale regresiei fibrozei în cadrul infecției cu VHC [4,5].

##### **CAPITOLUL 2: Metode de evaluare a fibrozei hepatice**

Evaluarea fibrozei hepatice reprezintă o măsură importantă în conduita de îngrijire a unui pacient cu afectare hepatică cronică și este necesară pentru a evalua prognosticul. În faze avansate ale patologiei hepatice pot apărea complicații precum ascita, hipertensiunea portală și evoluția către carcinom hepatocelular. În practica clinică curentă există variate metode de evaluare a gradului de fibroză hepatică, acestea fiind descrise în detaliu în cadrul capitolului 2

al cercetării doctorale. Acest capitol conține date din literatura de specialitate referitoare la puncția biopsie hepatică (PBH) (considerată încă metodă de referință pentru evaluarea gradului de fibroză hepatică însă care nu mai este utilizată în mod curent) [6], dar și o sinteză referitoare la metodele non-invazive pentru evaluarea fibrozei hepatice utilizate pe scară largă în practica clinică curentă. Sunt descriși o serie de biomarkeri serici direcți, scoruri de fibroză utilizate în stadializarea gradului de fibroză, dar și metode imagistice de evaluare a gradului de fibroză hepatică [7,8].

## **CERCETĂRI PERSONALE**

### **CAPITOLUL 3: Ipoteza de lucru și obiectivele cercetării**

Evaluarea fibrozei hepatice reprezintă un element important în algoritmul de monitorizare al unui pacient cu hepatopatie cronică VHC, după obținerea RVS sub DAA. Această conduită este absolut necesară în cazul pacienților cu grade avansate de fibroză (F3 sau F4), deoarece în urma terapiei antivirale cu DAA, pacientul este considerat vindecat din punct de vedere virusologic, însă modificările histologice și funcționale hepatice persistă, iar complicații precum ascita, hipertensiunea portală și evoluția către carcinom hepatocelular pot să apară în aceste faze avansate ale bolii, inclusiv după obținerea RVS.

Marea majoritate a studiilor din literatura de specialitate utilizează scoruri de fibroză precum APRI [9] sau FIB-4 [10] pentru a evalua dinamica gradului de afectare hepatică, într-un procent mai mic din studii folosesc *FibroTest*. O altă metodă de evaluare a dinamicii gradului de fibroză o reprezintă cea imagistică, cel mai frecvent elastografia tranzitorie (TE).

Acest studiu își propune să evalueze dinamica gradului de fibroză hepatică pe o perioadă de până la 7 ani de la terminarea terapiei antivirale cu DAA la un lot de pacienți cu ciroză hepatică cu VHC comparativ cu un lot de pacienți cu hepatită cronică cu VHC.

**Obiectivele** acestei cercetări doctorale vor fi incluse în 3 studii distincte și vor urmări:

**1.** Evaluarea dinamicii scorurilor de fibroză APRI și FIB-4 la pacienții cu ciroză hepatică VHC, clasa Child A, care au înregistrat SVR sub regimuri terapeutice interferon-free - studiu comparativ cu un lot de pacienți cu hepatită cronică cu VHC care au înregistrat SVR sub DAA

**2.** Evaluarea dinamicii fibrozei hepatice prin *FibroMax* la pacienții cu ciroză hepatică VHC, clasa Child A, care au înregistrat SVR sub regimuri terapeutice interferon-free - comparativ cu un lot de pacienți cu hepatită cronică cu VHC, care au înregistrat SVR sub DAA

3. Evaluarea în dinamică a profilului metabolic post-SVR la pacienții cu ciroză hepatică cu VHC clasa Child A, care au înregistrat SVR sub regimuri terapeutice interferon-free - comparativ cu un lot de pacienți cu hepatită cronică cu VHC.

#### **CAPITOLUL 4: Metodologia generală a cercetării**

Acest capitol cuprinde date despre planul studiului: descrierea celor două loturi de pacienți înrolați în cercetarea doctorală (pacienți cu ciroză și pacienți cu hepatită cronică cu VHC), criteriile de includere și excludere și planul de evaluare și monitorizare a acestor pacienți în dinamică.

Acest studiu este unul prospectiv, comparativ, între 2 loturi de pacienți, care au fost înrolați în perioada noiembrie 2015 – ianuarie 2020 și ulterior au fost monitorizați până în iunie 2024. În cele două loturi de pacienți au fost incluși astfel:

- *Lot 1:* 170 de pacienți cu ciroză hepatică cu VHC (*FibroMax* F3-F4 și F4) clasa Child A aflați în monitorizare la Institutul Național de Boli Infecțioase “Profesor Doctor Matei Balș” (INBIMB) București
- *Lot 2:* 99 de pacienți cu hepatită cronică VHC (F1-F3) aflați în monitorizare la INBIMB

Evaluarea pacienților a cuprins mai multe etape (vizite de monitorizare): la inițierea terapiei antivirale, la 6 luni de la finalul tratamentului (EOT – end of treatment), la 1 an de la EOT, la 2 ani de la EOT, la 3 ani de la EOT și la 7 ani de la EOT.

Datele utilizate în studiu au fost colectate și centralizate în programul Excel (Microsoft) iar prelucrarea statistică a datelor obținute a fost efectuată în programul IBM-SPSS Statistics® versiunea 22.

#### **CAPITOLUL 5: Studiul 1: Evaluarea regresiei fibrozei prin APRI și FIB-4 la pacienți cirofici vs non-cirofici, după obținerea RVS sub terapie antivirală cu DAA**

În acest prim studiu a fost efectuată evaluarea regresiei fibrozei hepatice în cadrul celor două loturi de pacienți utilizând scorurile de fibroză APRI și FIB-4. Ulterior a fost efectuată o comparație cu datele obținute în literatura de specialitate.

##### **Rezultatele obținute:**

Pacienții din cele două loturi au fost analizați comparativ la momentul inițierii terapiei antivirale cu DAA din punct de vedere al scorurilor APRI și FIB-4 și s-a înregistrat o diferență

semnificativă statistic între mediana scorurilor pacienților cu ciroză și mediana pacienților cu hepatită cronică,  $p < 0,001$  pentru ambele scoruri. Astfel, în cazul scorului APRI, la momentul inițierii terapiei antivirale, mediana pentru pacienții cu ciroză hepatică a fost de 1,15 comparativ cu lotul pacienților cu hepatită cronică – 0,75. În cazul scorului FIB-4, se observă o mediană de 3,41 pentru pacienții cu ciroză, comparativ cu 2,28 în cazul pacienților cu hepatită cronică.

În cazul scorului APRI, literatura de specialitate descrie că o valoare de  $\geq 1$  are o sensibilitate de 76% și o specificitate de 72%; iar atunci când se ia în considerare o valoare de  $\geq 2$ , acest scor are o sensibilitate de 46% și o specificitate de 91% [9]. În prezenta cercetare doctorală, un scor APRI de  $\geq 1$  a înregistrat o sensibilitate de 59% și o specificitate de 65% în comparație cu *FibroTest*, aceasta fiind metoda de referință propusă de protocolul național în vigoare pentru stadializarea gradului de fibroză și încadrarea pacientului în vederea inițierii terapiei antivirale cu DAA. Atunci când se ia în considerare valoarea-prag APRI  $\geq 2$ , sensibilitatea este de 31%, cu o specificitate de 87%. A fost calculată aria de sub curbă (AUROC), iar în cadrul acestui studiu aceasta a avut o valoare de 0,666 (95% CI 0,6-0,732), o valoare-prag optimă de 0,867 iar pentru acest scor, sensibilitatea obținută a fost de 68%, cu o specificitate de 57%. Această AUROC arată că APRI oferă rezultate satisfăcătoare în comparație cu *FibroTest*.

Analizând studiile anterioare care au utilizat scorul FIB-4, rezultatele au arătat că atunci când acesta are o valoare de  $< 1,45$ , valoarea predictivă negativă în a exclude ciroza hepatică este de 94.7%, cu o sensibilitate de 74.3% și o specificitate de 80.1%. În cazul în care FIB-4 are o valoare de  $\geq 3,25$ , valoare predictivă pozitivă este de 82.1% în a confirma ciroza hepatică, cu o sensibilitate de 37.56% și o specificitate de 98.2% [11]. În studiul de față s-a efectuat curbă ROC pentru scorul FIB-4 în comparație cu scorul *FibroTest*, înregistrând o valoare AUROC de 0,678, ceea ce înseamnă un rezultat satisfăcător în a diferenția ciroza hepatică de gradele inferioare de fibroză hepatică. Pentru valoarea prag prestabilită de peste 3,25, FIB-4 a înregistrat o sensibilitate de 52% și o specificitate de 73% în a detecta ciroza hepatică. Ținând cont de curba ROC obținută în acest studiu comparativ cu *FibroTest*, s-a observat o valoare prag optimă de 2,32, care are o sensibilitate de 71% și o specificitate de 53% în discriminarea cirozei hepatice față de alte grade de fibroză.

Pentru fiecare lot de pacienți a fost analizată ulterior dinamica scorurilor APRI și dinamica scorurilor FIB-4 pe durata celor 7 ani de monitorizare. Scorurile APRI prezintă o

scădere marcată la vizita de la 6 luni post-EOT, diferența rămânând semnificativă statistic până la finalul perioadei de monitorizare de la 7 ani post-EOT pentru ambele loturi de pacienți ( $p < 0,001$ ).

O statistică similară scorului APRI a fost efectuată și în cazul scorului FIB-4, atât pentru lotul pacienților cu ciroză hepatică dar și pentru cei cu hepatită cronică cu VHC. În cazul lotului 1, peste 50% din pacienți prezentau la inițierea terapiei antivirale scoruri FIB-4 de peste 3,25, proporție care a scăzut la următoarele vizite, doar un sfert din pacienți prezentând în continuare valori ale FIB-4 compatibile cu ciroza hepatică. Aceeași dinamică de scădere a fost observată și în cazul lotului 2 de pacienți cu hepatită cronică cu VHC. Există un număr redus de pacienți care au fost evaluați la ultimele 2 vizite în cazul lotului 2, astfel încât datele nu pot fi interpretate ca relevante statistic.

Scorul APRI prezintă corelații semnificative statistic cu scorul FIB-4 la toate vizitele de monitorizare ( $p < 0,001$  pentru fiecare vizită). S-au studiat corelațiile scorului APRI cu scorul *FibroTest* și s-a observat că există corelații semnificative statistic cu excepția vizitei de la 1 an post-EOT ( $p = 0,002$ ,  $p = 0,032$ ,  $p = 0,169$ ,  $p = 0,030$ ,  $p = 0,031$ ,  $p = 0,003$ ).

Scorul FIB-4 prezintă corelații semnificative statistic cu scorul *FibroTest* cu excepția ultimei vizite de monitorizare, cea de la 7 ani post-EOT ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,001$ ,  $p = 0,015$ ,  $p = 0,012$ ,  $p = 0,005$ ,  $p = 0,103$ ).

În cadrul lotului pacienților non-cirofici, nici alfafetoproteina, nici scorul APRI și nici scorul FIB-4 nu se mai corelează statistic cu scorul *FibroTest*, fapt ce sugerează că aceste scoruri pot discrimina în mod corect ciroza hepatică de celelalte grade de fibroză, însă nu pot diferenția corect între F1-F3.

## **CAPITOLUL 6: Studiul 2: Evaluarea regresiei fibrozei prin *FibroTest* la pacienți cirofici vs non-cirofici, după obținerea RVS sub terapie antivirală cu DAA**

**Obiectivul principal** al acestui studiu este reprezentat de monitorizarea dinamicii fibrozei hepatice prin *FibroMax* la pacienții cu ciroză hepatică VHC, clasa Child A, care au înregistrat SVR sub regimuri terapeutice cu DAA - comparativ cu un lot de pacienți cu hepatită cronică cu VHC care au obținut RVS sub DAA.

## Rezultate:

A fost efectuată o analiză separată pe pacienții cu ciroză și pacienții cu hepatită cronică la momentul inițierii terapiei antivirale și ulterior la 6 luni de la EOT, pentru a constata dacă se înregistrează diferențe semnificative statistic între cele două vizite de monitorizare. Rezultatele au arătat că între cele două momente de evaluare există o diferență semnificativă statistic ( $p < 0,001$  pentru lotul 1 și  $p = 0,03$  pentru lotul 2).

O diferență semnificativă statistic a fost înregistrată între grupele de vârstă  $< 65$  de ani și  $\geq 65$  de ani ( $p < 0,001$ ). Astfel, pacienții mai tineri au o scădere mai mare a scorului *FibroTest* decât cei cu vârsta peste 65 de ani. Vârșnicii pot avea o afectare hepatică și în cadrul altor patologii, cum ar fi steatoza hepatică asociată disfuncției metabolice (MAFLD). În lotul pacienților cu hepatită cronică, nu există diferențe semnificative statistic nici între pacienții de peste 65 de ani, comparativ cu cei sub 65 de ani.

Pentru îndeplinirea obiectivului acestui studiu, au fost analizate rezultatele obținute pentru fiecare vizită de monitorizare, atât pentru *FibroTest*, cât și pentru *ActiTest*, pentru lotul 1 și pentru lotul 2. A fost efectuată analiză statistică pentru identificarea diferențelor între rezultatele obținute la vizitele de monitorizare, dar mai ales între rezultatele de la momentul inițierii terapiei antivirale și cele de la finalul perioadei de monitorizare.

În ceea ce privește *FibroTest*-ul, în cazul pacienților cu ciroză hepatică se observă că există o diferență semnificativă statistic între rezultatele obținute la momentul inițierii terapiei antivirale și cele de la 6 luni post-EOT ( $p < 0,001$ ); între 1 an și 2 ani post-EOT ( $p = 0,04$ ), între 2 și 3 ani post-EOT ( $p = 0,018$ ). Ulterior de la 3 la 7 ani post-EOT nu se mai înregistrează diferențe semnificative statistic între vizite ( $p = 0,733$ ). Analizând întreaga perioadă de monitorizare, există o diferență semnificativă statistic ( $p < 0,001$ ) între vizita de la baseline și cea de la 7 ani post-EOT.

Analizând *ActiTest*, există o diferență netă între momentul inițierii terapiei antivirale cu DAA și vizita de la 6 luni post-EOT ( $p < 0,001$ ), care poate fi explicată prin obținerea RVS și eliminarea factorului agresor hepatic, ceea ce conduce la reducerea marcată a activității necro-inflamatorii de la nivel hepatic.

A fost analizată comparativ pentru fiecare vizită ponderea gradelor de fibroză hepatică la pacienții din loturile studiate. Se observă astfel că la momentul inițierii terapiei antivirale 89% din pacienți aveau grad de fibroză F4, iar 11% aveau F3-F4, fiind toți catalogați drept pacienți

cu ciroză hepatică. La vizita de la 6 luni post-EOT, se observă o scădere a procentului pacienților catalogați ca ciroză hepatică (43% - F4 și 3% - F3-F4), cu decelarea gradelor de fibroză intermediară (29% - F3, 17% - F2, 7% - F1-F2 și F0-F1 - 1 pacient).

La 1 an post-EOT, se menține similară distribuția pacienților după grade de fibroză comparativ cu cea descrisă la vizita de la 6 luni post-EOT.

La evaluarea de la 2 ani post EOT se remarcă scăderea ponderii pacienților cu F4 (de la 38% la 30%), cu creșterea ponderii pacienților cu F2 (21%), iar la 3 ani de la EOT distribuția pacienților este: F4 - 25% din pacienți, F3-F4 - 7% din pacienți, F3 - 39% din pacienți, F2 - 14% din pacienți, F1-F2 - 11% din pacienți, F1 - 4% din pacienți.

La ultima vizită de monitorizare, au fost efectuate 16 teste *FibroTest* care arată că doar 1 pacient mai prezenta F4, 10 pacienți înregistrau F3 (63%), 3 pacienți F2 și 2 pacienți F1-F2.

Și în cazul lotului de pacienți cu hepatită cronică cu VHC a fost analizată dinamica *FibroTest* și *ActiTest*. În cazul *FibroTest*, s-a înregistrat o diferență semnificativă statistic între vizita de la inițierea DAA și vizita de la 6 luni post-EOT ( $p=0,03$ ), însă această diferență nu s-a păstrat până la finalul perioadei de monitorizare, valoarea medie a *FibroTest* la vizita de la 1 an post-EOT fiind similară cu cea de la baseline. O limitare a studiului rezultă din faptul că la ultimele 2 vizite de monitorizare există un număr redus de pacienți (8 pacienți - pentru vizita 5 și 6 pacienți pentru vizita 6), astfel încât analiza statistică nu a putut fi efectuată pe acest număr de pacienți. Pentru *ActiTest*, diferența semnificativă statistic înregistrată între vizitele de la inițierea DAA și cea de la 6 luni post-EOT se menține și pe parcursul perioadei de monitorizare ( $p<0,001$ ).

Analiza detaliată pe grade de fibroză la fiecare vizită de monitorizare a arătat că:

- la vizita de la inițierea DAA distribuția pacienților cu hepatită cronică cu VHC în funcție de gradul de fibrză la *FibroTest* a fost: F3 - 71% din pacienți, F2-F3 - 1% din pacienți, F2 - 15% din pacienți, F1-F2 - 10% din pacienți, F1 - 1% din pacienți și F0 - 2% din pacienți,
- la vizita de la 6 luni post-EOT – distribuția pacienților cu hepatită cronică cu VHC în funcție de gradul de fibroză la *FibroTest* a fost: F4 - 5% din pacienți, F3-F4 - 2% din pacienți, F3 - 29% din pacienți, F2 - 36% din pacienți, F1-F2 - 24% din pacienți, F1 - 5% din pacienți.

Ulterior, se observă că se menține proporția pacienților care prezintă grade avansate de fibroză hepatică. La ultimele 2 vizite de monitorizare au fost evaluați un număr foarte redus de pacienți (8, respectiv 6 pacienți).

În anul 2014, Poynard et al propune o stadializare a gradelor de fibroză hepatică în funcție de rezultatele *FibroTest* și TE, iar stadiul de ciroză hepatică a fost împărțit în 3 sub-stadii: F4.1:  $>0,74 - \leq 0,85$ ; F4.2:  $>0,85 - \leq 0,95$  și F4.3:  $>0,95 - 1$  [12].

La inițierea terapiei antivirale a fost înregistrat un număr redus de pacienți în substadiul F4.3 (16 pacienți), dintre care niciunul nu a mai avut acest stadiu la evaluările ulterioare, obținând o regresie a fibrozei în cadrul stadiului de ciroză hepatică, iar 2 pacienți chiar au prezentat regresia la stadii inferioare de fibroză hepatică. Pacienții din sub-stadiul F4.2 au prezentat în proporții egale, fie menținerea aceluiași grad de fibroză, fie regresia la F4.1 sau regresia din stadiul de ciroză hepatică. Cea mai evidentă regresie a fost înregistrată la pacienții aflați în sub-stadiul F4.1: 78% din pacienți au înregistrat regresia din stadiul de ciroză hepatică.

Un procent de 20,3% din pacienți au menținut același grad de fibroză hepatică, 78,1% din pacienți au înregistrat regresia din stadiul de ciroză, iar 1 pacient a prezentat creșterea gradului de fibroză hepatică la F4.2.

Analizând comparativ lotul pacienților fără ciroză hepatică, se observă încă de la evaluarea de la 6 luni post-EOT că există pacienți care prezintă creșteri ale gradului de fibroză hepatică (7 pacienți din cei 45 evaluați la 6 luni post-EOT, 8 pacienți din cei 32 de pacienți la la 1 an post-EOT și 5 pacienți din cei 16 pacienți la 2 ani post-EOT). La evaluările de la 3 ani și 7 ani post-EOT au fost analizați prin *FibroTest* un număr redus de pacienți, însă chiar și în aceste condiții se remarcă o creștere a gradului de fibroză cu 1 grad la 2 din cei 8 pacienți la 3 ani post-EOT și la 1 pacient din cei 6 pacienți la evaluarea de la 7 ani post-EOT

### **CAPITOLUL 7: Studiul 3: Evaluarea dinamicii profilului metabolic la pacienții cu ciroză cu VHC vs pacienți cu hepatită cronică cu VHC, după obținerea RVS sub terapie antivirală cu DAA**

Studiile au arătat că în rândul pacienților cu hepatită cronică cu VHC prevalența steatozei hepatice este de 40-86%, comparativ cu 20-50% întâlnită în alte hepatopatii cronice [13].

Un aspect important în cazul pacienților care au obținut RVS după terapiile antivirale cu DAA îl reprezintă studierea dinamicii steatozei hepatice și a modificărilor metabolice, acestea având un impact la fel de important asupra progresiei bolii ca și fibroza hepatică.

**Obiectivul** acestui studiu este de a evalua în dinamică profilul metabolic post-SVR la pacienții cu ciroză hepatică cu VHC, comparativ cu cei cu hepatită cronică cu VHC, prin determinarea dinamicii *SteatoTest*-ului, a nivelului colesterolului, trigliceridelor și glicemiei.

Acest studiu s-a concentrat pe evaluarea dinamicii scorurilor *SteatoTest* și *NashTest*.

### **Rezultate:**

Este cunoscut faptul că infecția cronică cu VHC este asociată cu hipocolesterolemie, iar obținerea unui RVS duce la apariția hipercolesterolemiei, în comparație cu pacienții netratați sau non-responderi [14]. Aceeași dinamică poate fi observată și în cazul pacienților evaluați în acest studiu, atât în cazul pacienților cu ciroză hepatică cu VHC, dar și a celor cu hepatită cronică cu VHC.

În cazul pacienților cu ciroză hepatică, valoarea medie la inițierea terapiei antivirale a fost de 150,7 mg/dL, iar la finalul perioadei de monitorizare, valoarea medie a ajuns la 186,8 mg/dL, ( $p=0,012$ ). În cazul pacienților cu hepatită cronică cu VHC, există diferențe între vizitele de monitorizare, însă nu sunt la fel de mari ca în cazul pacienților cu ciroză hepatică, acestea neavând semnificație statistică.

În ceea ce privește dinamica valorilor trigliceridelor, nu există diferențe semnificative statistic între valorile obținute la inițierea terapiei antivirale și finalul perioadei de monitorizare de la 7 ani post-EOT în nici unul dintre loturile studiate.

La evaluarea valorilor glicemiei, în cazul pacienților cu ciroză cu VHC, deși între inițiere și 6 luni post-EOT există o diferență semnificativă statistic ( $p=0,018$ ) între valorile glicemiei înregistrându-se o scădere de la o valoare mediană de 104 mg/dL la o valoare de 103 mg/dL, această tendință nu se mai regăsește până la finalul perioadei de monitorizare (mediană de 105 mg/dL). În cazul pacienților cu hepatită cronică cu VHC, nu există diferențe semnificative statistic, chiar dacă au existat variații ale valorilor mediane între vizitele de monitorizare.

În cadrul vizitelor de monitorizare periodice, alături de evaluarea gradului de fibroză hepatică și a activității necro-inflamatorii determinată de infecția virală, *FibroMax* a evaluat și gradul de steatoză hepatică prin calcularea *SteatoTest* precum și activitatea necro-inflamatorie determinată de afecțiuni metabolice calculată prin *NashTest*.

Din evaluarea rezultatelor la fiecare vizită de monitorizare, se observă că există o diferență între momentul inițierii terapiei antivirale și vizita 2, vizita 3, vizita 4 și vizita 5, însă ulterior se observă o creștere semnificativă între vizita 5 și vizita 6 de monitorizare, astfel încât între momentul inițierii DAA și finalul monitorizării nu mai există o diferență semnificativă statistic în ceea ce privește valoarea medie a *SteatoTest* ( $p=0,138$ ). Acest rezultat ar putea fi influențat și de numărul mai redus de pacienți evaluați la 7 ani post-EOT.

După vizita de la 2 ani post-EOT niciun pacient nu a mai înregistrat grade de steatoza de S2-S3 sau S3, iar la vizita de la 7 ani post-EOT, niciun pacient nu a mai înregistrat grade de steatoză hepatică S2 sau mai mult. Din cei 35 de pacienți (23%) cu steatoză S3 la inițiere, la 6 luni s-au înregistrat doar 3 pacienți mai aveau acest grad de steatoză, iar la 1 an de la EOT, 3 pacienți aveau steatoză S3.

În cadrul lotului de pacienți cu hepatită cronică cu VHC, valorile medii ale *SteatoTest* au înregistrat diferențe semnificative statistic între vizita de la inițierea terapiei antivirale și vizita de la 6 luni post-EOT ( $p<0,001$ ), diferență care se menține până la finalul perioadei de monitorizare ( $p=0,038$ ). Gradele de steatoză hepatică în lotul pacienților cu hepatită cronică cu VHC au variat la inițierea terapiei cu DAA de la S0 (15% din pacienți) până la S3 (11% din pacienți). Începând cu vizita de monitorizare de la 1 an post-EOT, niciun pacient nu a mai înregistrat grade de steatoză de S2-S3 sau S3, iar la ultima vizită de monitorizare, gradele de steatoză au fost S0 la 67% din pacienți, iar S1 și S2 în proporții egale de 17% din pacienți.

Activitatea necro-inflamatorie cauzată de afecțiuni metabolice (*NashTest*) înregistrează o scădere semnificativă statistic doar în primele 6 luni post-EOT în cazul lotului de pacienți cu ciroză cu VHC, diferență care nu se menține până la finalul perioadei de monitorizare ( $p=0,089$ ).

În cazul pacienților cu hepatită cronică cu VHC, *NashTest* nu a înregistrat nicio diferență semnificativă statistic, nici pe parcursul vizitelor de monitorizare, nici între prima și ultima vizită ( $p=0,175$ ). Există o diferență semnificativă statistic între vizita de la inițierea tratamentului antiviral și vizita de la 2 ani post-EOT ( $p=0,041$ ).

## CAPITOLUL 8: Concluzii și contribuții personale

### Capitolul 5 - Studiul 1: Evaluarea regresiei fibrozei prin APRI și FIB-4 la pacienții cu ciroză hepatică vs hepatită cronică cu VHC, după obținerea RVS sub terapie antivirală cu DAA.

Concluziile acestui studiu au fost:

1. S-a observat o scădere semnificativă statistic a scorului APRI atât la pacienții cu ciroză cât și la cei cu hepatită cronică cu VHC între momentul inițierii terapiei antivirale cu DAA și 6 luni post-EOT. În lotul pacienților cirofici, scorul APRI continuă să prezinte diferențe semnificative statistic până la 3 ani de la EOT, însă ulterior rămâne la valori staționare până la evaluarea de 7 ani. În lotul pacienților cu hepatită cronică cu VHC, diferențele înregistrate între vizitele de monitorizare după 6 luni de la EOT nu mai sunt semnificative statistic.

2. Scorul FIB-4 a înregistrat scăderi persistente și semnificative statistic de-a lungul perioadei de monitorizare atât în cazul lotului de pacienți cu ciroză, cât și în cazul pacienților cu hepatită cronică cu VHC.

3. Atât APRI, cât și FIB-4 se dovedesc a fi instrumente utile, facile, rapide și ieftine pentru diagnosticarea cirozei VHC, însă nu pot diferenția specific alte grade de fibroză, considerând acest lucru o limitare a acestor scoruri.

4. FIB-4 poate fi, de asemenea, util pentru monitorizarea pacienților cu ciroză hepatică după EOT, cu atât mai mult cu cât a fost demonstrat că există o corelație statistică între acest scor și *FibroTest* de-a lungul perioadei de monitorizare în cadrul lotului pacienți cu ciroză hepatică.

### Capitolul 6 - Studiul 2: Evaluarea regresiei fibrozei prin *FibroTest* la pacienți cu ciroză hepatică vs hepatită cronică cu VHC, după obținerea RVS sub terapie antivirală cu DAA

Concluziile acestui studiu au fost:

1. În lotul pacienților cu ciroză hepatică, pe parcursul celor 7 ani de monitorizare după RVS, se observă o regresie a fibrozei hepatice. Acest proces de regresie a fibrozei hepatice pare să fie mai important în primele 6 luni post-EOT, fiind corelat direct cu reducerea semnificativă a activității necro-inflamatorii (evaluată prin *ActiTest*).

2. Evaluarea anuală în dinamică a arătat că reducerea scorurilor *FibroTest* și *ActiTest* continuă până la 3 ani post-EOT, după care rămâne la valori staționare până la evaluarea de 7 ani post-EOT.

3. În pacienților non-cirofici, nu se decelează o scădere semnificativă statistic a scorului *FibroTest*. O limitare a studiului a fost numărul mic de pacienți non-cirofici care au rămas în monitorizare până la 7 ani post-EOT.

4. Scorul *FibroTest* are o sensibilitate mai mare în boala hepatică avansată și la pacienții cirofici față de pacienții cu grade mai reduse de fibroză.

5. Rezultatele acestui studiu subliniază importanța monitorizării pe termen lung a pacienților cu infecție cronică cu VHC care au obținut RVS. În lotul pacienților cu ciroză hepatică la baseline, există atât pacienți care prezintă regresia fibrozei hepatice la grade inferioare (chiar până la F1), dar există și pacienți care mențin același grad avansat de fibroză hepatică (ciroză hepatică). În cadrul lotului pacienților cu hepatită cronică, s-au înregistrat pacienți care au menținut gradul de fibroză de la baseline, pacienți care au prezentat scăderea gradului de fibroză cu 1 sau 2 grade, dar cel mai important, au existat pacienți la care a fost înregistrată creșterea gradului de fibroză hepatică cu un grad.

### **Capitolul 7 - Studiul 3: Evaluarea dinamicii profilului metabolic la pacienții cu ciroză cu VHC vs pacienți cu hepatită cronică cu VHC, care au obținut RVS după terapia antivirală cu DAA**

Concluziile acestui studiu au fost:

1. În lotul pacienților cu ciroză hepatică cu VHC, din punct de vedere metabolic, la evaluarea scorurilor *SteatoTest* și *NashTest*, se observă o scădere semnificativă statistic în primele 6 luni post-EOT. Deși există diferențe în ceea ce privește gradele obținute la *SteatoTest* și *NashTest* pe parcursul vizitelor de monitorizare, valorile medii obținute nu prezintă semnificație statistică între momentul inițierii și finalul perioadei de monitorizare de 7 ani.

2. În cadrul lotului de pacienți cu hepatită cronică cu VHC, doar evaluarea *SteatoTest* prezintă o diferență semnificativă statistic între inițierea terapiei antivirale cu DAA și primele 6 luni post-EOT. Există o diferență semnificativă statistic a scorului *SteatoTest* între evaluarea de la inițierea DAA și cea de la 7 ani post-EOT.

3. Evaluarea în dinamică a valorilor colesterolului și trigliceridelor, oferă rezultate similar cu cele din literatura de specialitate, punctul forte al acestui studiu fiind perioada mai lungă de monitorizare a acestor pacienți în dinamică.

4. Valorile medii ale colesterolului total au prezentat creșteri semnificative statistic, cu o creștere rapidă în primele 6 luni post-EOT, o creștere mai lentă până la 1 an și menținerea în platou până la finalul perioadei de monitorizare. Atât în lotul pacienților cirofici, dar mai ales în cel al pacienților non-cirofici, ponderea sexului feminin a fost mai mare, fapt ce contribuie la o valoare medie crescută a colesterolului în dinamică.

5. Dinamica valorilor trigliceridelor nu arată diferențe semnificative statistic nici în cazul pacienților cu ciroză hepatică, nici în cazul pacienților cu hepatită cronică cu VHC.

6. Creșterea valorilor colesterolului are un impact major asupra bolilor cardiovasculare, deoarece prin fracțiunea LDL pot fi influențate plăcile aterosclerotice fapt ce va crește riscul de complicații cardio-vasculare importante.

7. Este necesară evaluarea metabolică a pacienților pe termen lung și luarea la timpul potrivit a deciziei de inițiere a terapiei hipolipemiante pentru a preveni complicațiile cardiovasculare. Este necesară o abordare inter și multidisciplinară a pacienților cu ciroză hepatică și hepatită cronică VHC, după obținerea RVS sub terapii antivirale cu DAA, fiind nevoie de o bună colaborare între medicul gastroenterolog/infecționist care a monitorizat terapia antivirală și medicul specialist în diabet și boli de nutriție, medic cardiolog, precum și cu medicul de familie.

Limitele prezentei cercetări doctorale au rezultat în principal din cauza întreruperii monitorizărilor din cauza pandemiei COVID-19, când pacienții nu au mai putut fi evaluați în clinica noastră, existând o pauză în monitorizarea pacienților între 3 ani post-EOT și 7 ani post-EOT, ulterior mulți din pacienți au fost pierduți din evidență.

O problemă rămasă nerezolvată în cadrul monitorizării pacienților cu infecție cronică cu VHC post-SVR o reprezintă colectarea datelor referitoare la numărul pacienților care au prezentat decompensări hepatice, care au dezvoltat carcinom hepato-celular sau care au decedat din cauza afecțiunii hepatice. Această evaluare a complicațiilor la distanță, alături de continuarea monitorizării pacienților în dinamică până la o perioadă de cel puțin 10 ani post-EOT, vor reprezenta viitoare direcții de cercetare post-doctorală.

## **Implicații practice**

Rezultatele obținute în această cercetare doctorală permit imaginarea unui **algoritm de monitorizare al pacienților cu infecție cronică cu VHC care au obținut RVS12 (Tabel 8.1).**

Pacienții cu infecție cronică cu VHC (atât cei cu ciroză hepatică dar și cei cu hepatită cronică cu VHC), vor fi monitorizați atât din punct de vedere al fibrozei hepatice, urmărind regresia sau progresia acesteia cât și din punct de vedere al activității necro-inflamatorii, al scorului steatozei și al profilului metabolic lipidic și glucidic. În funcție de rezultatele acestor evaluări, pacienții vor fi încadrați în mai multe categorii, fiecare categorie urmând să fie monitorizată după un anumit algoritm de monitorizare.

În cazul în care se observă creșteri ale valorilor colesterolului sau trigliceridelor, pacientul trebuie îndrumat către un medic specialist în Nutriție și Boli Metabolice pentru inițierea terapiei hipolipemiante în vederea prevenirii complicațiilor cardiovasculare. În plus, acești pacienți necesită o evaluare cardiologică ținând cont de aportul infecției cronice cu VHC la dezvoltarea bolilor cardiovasculare. Pacienții cunoscuți cu patologie cardiacă pre-existentă ar putea beneficia de evaluări mai frecvente (la fiecare 6 luni). Dacă se observă la evaluarea de rutină creșteri ale valorilor glicemiei sau a hemoglobinei glicozilate, pacientul trebuie îndrumat către un medic specialist în Diabet în vederea inițierii conduitei specifice, complicațiile asociate diabetului zaharat fiind silențioase și cu progresie lentă. Rezultate privind dinamica profilului lipidic a fost detaliată în Capitolul 7.

În ceea ce privește valoarea AFP, atunci când se observă o creștere a valorii acesteia față de valorile determinate anterior, ar trebui efectuată obligatoriu ecografie abdominală într-un prim pas, ulterior în funcție de valoarea AFP și de rezultatul ecografiei abdominale, CT sau IRM cu viză hepatică și cu substanță de contrast capabilă să depisteze leziunile de hepatocarcinom.

Pacienții cu ciroză hepatică Clasa Child A aflați sub monitorizare la medicii infecționiști, în cazul în care vor prezenta variații ale probelor biologice cu progresie către ciroză hepatică clasa Child B sau C, sau în cazul apariției decompensărilor hepatice sau a CHC, vor fi îndrumați către Specialitatea Gastroenterologie pentru conduită terapeutică specifică și monitorizare hepatică continuă.

Tabel 8.1: Algoritm de monitorizare al pacienților cu infecție cronică cu VHC care au obținut RVS12

	Pacienți cu ciroză hepatică sau fibroză F3	Pacienți cu hepatită cronică (fibroză <F3)
<b>Intervalul de timp între 2 evaluări</b>	La fiecare 6 luni	Anual
<b>Probe biologice nespecifice</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemoleucogramă</li> <li>• Frotiu de sânge periferic</li> <li>• Timp de protrombină</li> <li>• Transaminaze</li> <li>• Probe de colestază</li> <li>• Profil lipidic complet</li> <li>• Electroforeza proteinelor</li> <li>• Glicemie și hemoglobină glicozilată</li> <li>• LDH</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hemoleucogramă</li> <li>• Frotiu de sânge periferic</li> <li>• Timp de protrombină</li> <li>• Transaminaze</li> <li>• Probe de colestază</li> <li>• Profil lipidic complet</li> <li>• Electroforeza proteinelor</li> <li>• Glicemie și hemoglobină glicozilată</li> <li>• LDH</li> </ul>
<b>Probe biologice specifice</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AFP</li> <li>• crioglobuline</li> <li>• ARN- VHC (dacă pacientul prezintă factori de risc pentru reinfectare)</li> <li>• Screening pentru co-infecții VHB (AgHBs/AcHBs, IgM și IgG HBc) sau HIV (AcHIV)</li> <li>• <i>FibroTest</i>, APRI, FIB-4</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AFP</li> <li>• crioglobuline</li> <li>• ARN-VHC (dacă pacientul prezintă factori de risc pentru reinfectare)</li> <li>• Screening pentru co-infecții VHB (AgHBs/AcHBs, IgM și IgG HBc) sau HIV (AcHIV)</li> <li>• <i>FibroTest</i>, APRI, FIB-4</li> </ul>
<b>Metode imagistice</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ecografie abdominală</li> <li>• În funcție de valoarea AFP: metode imagistice superioare (CT/IRM)</li> <li>• Elastografie</li> <li>• Endoscopie digestivă superioară - In functie de prezenta/absenta varicelor esofagiene pre-tratament, a numarului de trombocite si a gradului de rigiditate determinat la TE</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ecografie abdominală</li> <li>• În funcție de valoarea AFP: metode imagistice superioare (CT/IRM)</li> <li>• Elastografie</li> </ul>

Rezultate din cadrul acestei cercetări doctorale au făcut obiectul a 3 articole originale, publicate în reviste ISI și BDI, având un factor de impact cumulativ de 4.

### Articole în extenso publicate în reviste ISI:

- **Leuștean, A.**, Popescu, C., Nichita, L., Tilișcan, C. and Aramă, V., 2021. Dynamics of APRI and FIB-4 in HCV cirrhotic patients who achieved SVR after DAA therapy. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 21(1), pp.1-1. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9531> (IF 2,4) articol original, prim autor – Capitolul 5; 8 citări. <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2020.9531>
- **Leuștean, A.**, Olariu, MC., Mihai, N., Tiliscan, C., Molagic, V., Duport-Dodot, I., Stratan, LM., Arama SS., Arama, V., 2024. Regression of liver fibrosis in HCV cirrhotic patients treated with Interferon-free therapies. *Farmacia*, 72(4). <https://doi.org/10.31925/farmacia.2024.4.10> (IF 2022: 1,6) articol original, prim-autor – Capitolul 6. [https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/art-10-Leustean\\_Olariu\\_Arama\\_826-831.pdf](https://farmaciajournal.com/wp-content/uploads/art-10-Leustean_Olariu_Arama_826-831.pdf)

### Articol în extenso publicat în revista CNCSIS B+:

- Duport-Dodot I, Olariu C, Saran A, Tiliscan C, Stratan L, Dodot DM, et al. Evaluation of direct-acting antiviral agents impact on liver biomarkers in patients with type-2 diabetes and hepatitis C virus infection. *Ro J Infect Dis*. 2024;27(2):136-143. [doi:10.37897/RJID.2024.2.7](https://doi.org/10.37897/RJID.2024.2.7) . Articol original, autor corespondent – Capitolul 7 [https://rjid.com.ro/articles/2024.2/RJID\\_2024\\_2\\_Art-07.pdf](https://rjid.com.ro/articles/2024.2/RJID_2024_2_Art-07.pdf)

### Bibliografie selectivă:

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION. *WHO.int*. [Interactiv] [Citat: 3 iulie 2024.] <https://www.who.int/data/gho/data/themes/chronic-viral-hepatitis>.
2. Mauss, S., Berg, T., Rockstroh, J., Sarrazin, C., & Wedemeyer, H. *Hepatology – A clinical textbook* (10th ed.): 59, 2020.
3. Bhattacharya D, Aronsohn A, Price J, Lo Re V; AASLD-IDSAs HCV Guidance Panel. Hepatitis C Guidance 2023 Update: AASLD-IDSAs Recommendations for Testing, Managing, and Treating Hepatitis C Virus Infection. *Clin Infect Dis*, May 25:ciad319, 2023. doi: 10.1093/cid/ciad319. Epub ahead of print. PMID: 37229695.

4. Henderson, Neil C.; Iredale, John P. Liver fibrosis: cellular mechanisms of progression and resolution. *Clinical Science*, 112.5: 265-280, 2007.
5. Povero D, Busletta C, Novo E, di Bonzo LV, Cannito S, Paternostro C, Parola M. Liver fibrosis: a dynamic and potentially reversible process. *Histol Histopathol*, 25: 1075-1091, 2010
6. Baranova et al.: Non-Invasive markers for hepatic fibrosis. *BMC Gastroenterology*, 11:91, 2011.
7. Chou R, Wasson N. Blood tests to diagnose fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection: a systematic review. *Ann Intern Med*, 158: 807-820, 2013.
8. Bradley, C., et al. Short-term changes observed in multiparametric liver MRI following therapy with direct-acting antivirals in chronic hepatitis C virus patients. *European Radiology*, 29: 3100-3107, 2019.
9. Lin ZH, Xin YN, Dong QJ, et al. Performance of the aspartate aminotransferase-to-platelet ratio index for the staging of hepatitis C-related fibrosis: an updated meta-analysis. *Hepatology*, 53:726-36, 2011.
10. Shaheen AA, Myers RP. Systematic Review and Meta-Analysis of the Diagnostic Accuracy of Fibrosis Marker Panels in Patients with HIV/ Hepatitis C Coinfection. *HIV Clin Trials*, 9:43-51, 2008.
11. Vallet-Pichard A, Mallet V, Nalpas B, Verkarre V, Nalpas A, Dhalluin-Venier V, Fontaine H, Pol S. FIB-4: An inexpensive and accurate marker of fibrosis in HCV infection. comparison with liver biopsy and *FibroTest*. *Hepatology*, Jul 1;46(1):32-6, 2007.
12. Poynard, Thierry, et al. "Staging chronic hepatitis C in seven categories using fibrosis biomarker (*FibroTest*<sup>TM</sup>) and transient elastography (*FibroScan*<sup>®</sup>)." *Journal of hepatology* 60.4: 706-714, 2014.
13. Mei, Tingting, et al. "Effects of sustained viral response on lipid in Hepatitis C: a systematic review and meta-analysis." *Lipids in Health and Disease* 23.1: 74, 2024.
14. Shengir, Mohamed, Mohamed Elgara, and Giada Sebastiani. "Metabolic and cardiovascular complications after virological cure in hepatitis C: What awaits beyond." *World Journal of Gastroenterology* 27.17: 1959, 2021.