

UNIVERSITATEA DE MEDICINA SI FARMACIE CRAIOVA



TEZA DE DOCTORAT

(rezumat)

Evaluarea neinvazivă a fibrozei hepatice la pacienții cu infecție cronică virală C și boală cronică de rinichi tratată prin hemodializă

Coordonator Doctorat:

Prof. Univ. Dr. Vere Cristin

Student-Doctorand

Dr. Caragea Cosmin Daniel

CRAIOVA

2019

Cuprins Selectiv al Tezei de Doctorat

Partea Generală

1. Introducere	3
2. Hepatita cronică virală C (HCV).....	3
3. Fibroza Hepatică.....	4
4. HCV și BCR.....	4

Partea Specială

Planul tezei de doctorat	5
1. Materiale și Metode	5
2. Rezultate și Discuții.....	7
3. Concluzii	10
Bibliografie Selectivă	11

Cuvinte Cheie: *hepatită cronică virală C, boală cronică de rinichi, fibroză hepatică*

PARTEA GENERALĂ

(Stadiul Cunoaşterii)

1. Introducere

Hepatita cronică virală C (HCV) reprezintă o problemă de sănătate globală care afectează aproximativ 120-125 milioane de oameni. Este considerată cauza principală de ciroză și este implicată direct în patogeneza carcinomului hepatocelular. Modul de transmitere este parenteral fapt confirmat în anii 1980 când transmiterea se realiza predominant prin transfuzii de sânge.

O categorie aparte de pacienți în infecția cronică virală C este reprezentată de pacienții cu boală renală cronică (BCR) tratați prin hemodializă. Există o legătură mixtă între infecția cu HCV și BCR. În primul rând, infecția cu HCV poate să producă BCR prin producția și depozitarea de complexe imune circulante (crioglobulinemia mixtă) în matricea renală sau prin dezvoltarea unei glomerulonefrite. Pe de altă parte, boala renală în hemodializă reprezintă un factor pentru infecția cu virus C prin faptul că mulți pacienți primesc transfuzii sau se pot infecta în urma unei infecții nosocomiale în timpul hemodializei sau chiar în urma unui transplant renal. Istoria naturală a pus în evidență faptul că infecția HCV are un impact negativ asupra pacienților hemodializați cu o creștere a incidenței cirozei, carcinomului hepatocelular, accelerând în același timp și progresia BCR și mortalitatea pacienților.

Astfel, prin introducerea noilor agenți antivirali, pacienții cu fibroză avansată sau chiar forma compensată de ciroză beneficiază de îmbunătățirea funcției hepatice și se va putea astfel evita transplantul hepatic. Introducerea mai multor regimuri terapeutice a permis și individualizarea tratamentului pentru fiecare pacient în parte, oferind astfel și opțiuni și pentru pacienții cu BCR tratată prin hemodializă.

2. Hepatita cronică virală C (HCV)

Odată cu evoluția către ciroză, crește și riscul apariției complicațiilor cu manifestările hipertensiunii portale și a insuficienței hepatice. Cele mai întâlnite manifestări clinice sunt icterul, ascita (cu peritonita bacteriană spontană), hemoragiile variceale și encefalopatia hepatică. Gradul

de severitate al cirozei poate fi calculat prin scorurile “Model for End Stage Liver Disease” (MELD) și “Child-Turcotte-Pugh” (CTP).

Într-un timp relativ scurt, noile regimuri Interferon-free a HCV au atins o rată de 90% a răspunsului virusologic susținut (RVS) la pacienții cu genotip 1, a scăzut incidența efectelor adverse, s-a redus durata tratamentului și s-au dovedit eficiența în cazul grupurilor care erau dificil de tratat anterior. Tolerabilitatea a fost îmbunătățită prin înlăturarea interferonului și limitarea ribavirinei. În locul lor, DAA din diferite categorii (inhibitori de proteaze NS3/4A, inhibitori NS5A sau inhibitori de polimerază NS5B) au fost combinați astfel încât să parcurgă mai multe etape din ciclul vieții virusului.

3. Fibroza Hepatică

Fibroza apare ca un rezultat aparent static când degradarea nu este suficientă. Principalul mecanism ce duce la fibroză hepatică este activarea cronică a reacției de vindecare a rănilor. Procesul de vindecare al rănilor este caracterizat în mod normal de o cascadă ordonată de evenimente biologice ce implică celule și factori solubili, țintiți spre rezolvarea unei singure injurii tisulare. În termeni generali, aceste evenimente și efectori sunt dispuși într-o secvență logică cu activarea pasului următor precedat de rezoluția fazei anterioare.

Deși o regresie s-a observat la modele animale cu ciroză, această posibilitate nu este substanțială pe deplin la oameni. Dovezi ale regresiei fibrozei sau cirozei au fost raportate în boli hepatice cronice de diferite etiologii, inclusiv hepatita virală, hepatita autoimună, steatohepatita alcoolică și nonalcoolică. Totuși, când aceste rezultate au fost examinate de către anatomopatologi cu experiența în patologia ficatului, s-a căzut de acord doar pentru regresia unui grad variabil de fibroză dar, nu pentru o reversie a cirozei în majoritatea cazurilor. De-a lungul acestor ani, nu există dovezi convingătoare că anormalitățile vascularizării intrahepatice regresează la ficatul uman cirotic

4. HCV și BCR

Boala cronică de rinichi (BCR) este definită ca o boală renală cu o rată de filtrare glomerulară redusă, excreție urinară de albumină crescută sau ambele și este o problemă de sănătate publică în creștere. Afectează un număr mare de persoane la nivel mondial și evoluează către stadiul final de boală renală când este necesară hemodializa. Cele mai cunoscute cauze a BCR sunt diabetul și hipertensiunea. BCR este un factor de risc independent pentru boală cardiovasculară, disfuncție cognitivă, spitalizare și mortalitate generală.

Boala renală legată de HCV este în mare parte asimptomatică la pacienții cu dializă pe termen lung. Infecția HCV este înalt prevelentă printre pacienții cu ESRD aflați sub hemodializă (HD), și rămâne cauza principală de boală hepatică a acestei populații, deși în anii recentți prevalența a fost redusă prin aproape o treime. Prevalența variază între aceste regiuni, cu o proporție mai înaltă de pacienți infectați în țările în dezvoltare (aproximativ 75-80%) față de regiunile dezvoltate (aproximativ 3,4%).

PARTEA SPECIALĂ

Planul tezei de doctorat

Lucrarea de față a avut ca scop evaluarea pacienților cunoscuți cu boală renală cronică tratați prin hemodializă și care asociază infecția cronică virală C atât din punct de vedere ale caracteristicilor generale și evolutive ale bolii hepatice, dar și renale. Utilizarea a diferite tehnici moderne, atât imagistice cât și biologice în completarea investigațiilor bolii hepatice a permis astfel o monitorizarea adecvată a pacienților atât pentru a beneficia de o terapiei antivirale, dar și de evalua modul în care aceasta va influența prognosticul și evoluția pacienților cu boală renală cronică.

Obiective:

- Evaluarea caracteristicilor pacienților cu HCV și BCR avansată ce urmează hemodializă;
- Utilizarea elastografiei impulsionale ca metodă principală în evaluarea fibrozei hepatice;
- Implementarea unor markeri biologici în evaluarea infecției cu HCV la pacienții cu BCR;
- Urmărirea efectului tratamentului antiviral la pacienții cu HCV în cadrul BCR.

1. Materiale și Metode

Studiul a avut o abordare multidisciplinară și a implicat Clinica de Gastroenterologie și Clinica de Nefrologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova, respectiv Clinica Regională de Nefrologie a Spitalului Județean Olt. Au fost incluși 252 de pacienți diagnosticați cu infecție cronică virală C (HCV) pe parcursul a patru ani (ianuarie 2014 – decembrie 2018). Dintre aceștia 39 au fost diagnosticați în Clinicile de Nefrologie, fiind cunoscuți cu BCR în tratament cu hemodializă.

Evaluarea fibrozei hepatice

Fibroza hepatică a fost măsurată prin utilizarea dispozitivului Fibroscan (EchoSens, Paris, Franța), în conformitate cu ghidurile naționale românești privind elastografia publicate în 2014. Procedurile au fost efectuate de un singur operator cu experiență din cadrul Clinicii de Gastroenterologie a Universității de Medicină și Farmacie din Craiova, România și au fost selectați pacienți la care s-a folosit doar transductorul standard M cu o frecvență de 3.5 MHz. Rigiditatea țesuturilor a fost exprimată în kilopascali (kPa), iar pacienții au fost grupați în stadii de fibroză. Măsurătorile au fost efectuate pentru fiecare pacient în decubit dorsal cu brațul drept deasupra capului pentru a lărgi spațiul intercostal și a permite sondei să aibă un acces mai bun la nivelul lobului drept al ficatului. Au fost efectuate măsurători, fiind luate în considerare 10 valori consecutive cu un IQR cu o rată de succes de peste 60%.

O primă etapă pentru evaluarea fibrozei hepatice a constat în efectuarea procedurii pe lotul de 39 de pacienți cu BCR, înainte și după efectuarea hemodializei pentru a putea stabili dacă există influențe majore ale procesului de hemofiltrare asupra fibrozei hepatice. Două măsurători au fost efectuate, una înainte de hemodializă pacienții fiind nemâncați și următoarea imediat după procedură. Rezultatele au fost analizate statistic folosind SPSS Statistics 20.0 (Chicago IL, America).

Durata și cantitatea de fluid îndepărtată la fiecare pacient a fost măsurată în cadrul sesiunii de dializă.

Următoarea etapă de evaluare a fibrozei prin elastografie impulsională a presupus evaluarea fibrozei hepatice la pacienții cu BCR și hemodializă ce asociau infecția HCV și un lot separat de pacienți, fără afecțiune renală cronică. Au fost comparați parametri biologici întâlniți și au fost calculate anumite scoruri de evaluare a fibrozei hepatice și comparate cu metoda de referință utilizată – Fibroscan.

De asemenea a fost utilizat și un biomarker pentru evaluarea fibrozei hepatice și anume acidul hialuronic cu valori de referință considerate normale <50 ng/ml, care au fost comparate cu elastografia impulsională. Pentru a se identifica valoarea acidului hialuronic s-a realizat o analiză cantitativă pe baza unui anticorp legat de enzimă (ELISA – acid hialuronic) și detecție colorimetrică cu ajutorul unui kit disponibil prin achiziție publică.

A fost determinată viremia (ARN-VHC) la fiecare pacient în parte, pentru a putea realiza o mai bună evaluare anterior inițierii terapiei. Răspunsul la tratament a fost considerat o valoare interpretată la 3 luni de la finalul tratamentului ca și “viremie nedetectabilă”.

Terapie antivirală

Conform ghidurilor naționale de tratament pentru infecția virală cronică C, am urmărit eficacitatea tratamentului antiviral la toți pacienții cu hemodializă, indiferent de valoarea fibrozei hepatice și a viremiei înregistrate, și am evaluat eficacitatea acestuia prin elastografie impulsională și valorile acidului hialuronic.

Tratamentul a presupus utilizarea combinației ombitasvirum + paritaprevirum + ritonavirum cu 2 comprimate administrate dimineața cu alimente și un comprimat de dasabuvirum 1 comprimat dimineața și un comprimat seara cu alimente. Durata tratamentului a fost de 12 săptămâni, timp în care pacientul a fost monitorizat. S-a considerat răspuns virusologic susținut (RVS) la tratament rezultatul viremiei de la 3 luni după finalizarea terapiei, moment în care pacienții au fost supuși unei noi proceduri de evaluare a fibrozei prin Fibroscan și acid hialuronic.

2. Rezultate și Discuții

Infecția cronică virală C se asociază cu o rată crescută de morbiditate și mortalitate consecutiv afectării hepatice. Interesul public la nivel mondial este în creștere, deoarece infecția cu HCV poate evolua către ciroză hepatică și CHC, dar este binecunoscut faptul că se pot asocia și fenomene extraintestinale fie autoimune, metabolice, renale, cardiovasculare, neurologice sau limfoproliferative. HCV nu doar se asociază cu BCR dar și accelerează deteriorarea renală cu evoluția către stadiul final ce va necesita hemofiltrare. Mai mult decât atât infecția cu HCV va crește morbiditatea și mortalitatea pacienților ce vor necesita transplantare.

Evaluarea severității afectării hepatice la pacienții cu HCV prin determinarea stadiului de fibroză hepatică reprezintă unul din obiectivele majore ale răspunsului la terapiile antivirale, dar și permite individualizarea tratamentului prin alegerea precisă a medicamentului și durata de administrare a acestuia. Cu toate acestea, o bună evaluare a fibrozei hepatice la pacienții cu BCR, în special la cei aflați în stadiul de hemodializă poate fi considerată o provocare.

Studiul de față a avut un caracter prospectiv și a propus evaluarea pacienților cu infecție HCV și BCR tratați prin hemodializă, cu scopul de a evidenția particularitățile individuale ale pacienților atât din punct de vedere al evaluării evoluției bolii hepatice cât și a terapiei propuse și implicit al prognosticului în timp a bolii.

EI a reprezentat metoda de referință în studiul de față ce a permis evaluarea neinvazivă a afecțiunii hepatice. S-a putut astfel mări numărul de pacienți care pot fi incluși în studiu, fiind eliminată reticența față de biopsia hepatică, tehnică ce se poate asocia cu efecte adverse. Opțiunea utilizării acestei tehnici a oferit premisele evaluării afectării hepatice de virusul C, o bună apreciere a severității bolii pentru includerea în tratament și a permis reevaluarea bolii la finalul tratamentului pentru a vedea dacă prognosticul poate fi influențat sub terapie antivirală actuală.

Am observat că cele mai mari modificări s-au înregistrat în cazul pacienților cu nivel redus al fibrozei de la F0 la F2 comparativ cu cei fibroză avansată. Am identificat faptul că anumiți pacienți nu au prezentat boală hepatică ci doar prezintă infecția virală C și imediat după dializă valorile exprimate în kPa date de EI au fost mai mici. Acest lucru se poate datora faptului că în BCR în stadiul de hemodializă după retragerea a peste 2,5 l de fluid, o descreștere a EI a fost observată. Cu toate acestea în stadiile F3 și F4 nu am observat rezultate semnificative, fapt ce se poate datora unei boli hepatice avansate preexistente.

O altă etapă importantă în evaluarea pacienților cu infecție HCV a reprezentat utilizarea valorilor plasmatiche ale acidului hialuronic. Aceasta a avut scopul de a oferi o nouă metodă relativ ușoară de a exprima existența unei boli hepatice la pacienții cu infecție HCV pentru a putea astfel lărgi orizontul testelor neinvazive. Particularitatea majoră în această situație o reprezintă faptul că valorile plasmatiche ale acidului hialuronic pot fi influențate de asocierea cu insuficiența renală cronică. Acest aspect s-ar datora unei situații inflamatorii cauzată chiar de procesul dializă. Testarea acidului hialuronic pe lotul de pacienți cu infecție HCV și hemodializă a evidențiat valori crescute ale acestuia cu precădere la pacienții identificați cu fibroză avansată, validând astfel testul pentru identificarea pacienților.

Utilizarea acidului hialuronic în combinație cu alte tehnici neinvazive cu scopul de a evalua fibroza hepatică poate reprezenta o opțiune importantă pentru stabilirea evoluției bolii. Astfel prin faptul că acidul hialuronic este sintetizat la nivelul ficatului de către celulele stelate și degradat de celulele sinusoidale endoteliale va reflecta poate oferi o nouă perspectivă pentru a diferenția diferite stadii ale fibrozei hepatice.

Tratamentul pacienților cu HCV și BCR cu un RFG >30 ml/min este similar cu cel al pacienților cu funcție renală normală. Astfel, acești pacienți nu necesită modificări în alegerea medicamentelor, a dozelor sau a duratei de administrare. În general, pacienții sunt tratați cu AAD

care conțin sofosbuvir și un inhibitor NS5A cu o durată a tratamentului de 12 săptămâni fie că e vorba de stadiul de ciroză hepatică sau doar un stadiu de fibroză.

Infecția cu HCV a devenit o afecțiune ce poate fi vindecată, fapt confirmat și în acest studiu, care a evidențiat o viremie nedetectabilă la toți pacienții ce au urmat tratament. Aceștia au urmat tratament cu o combinație de ombitasvirum + paritaprevirum + ritonavirum 2 comprimate administrate dimineața și un comprimat de dasabuvirum 1 comprimat dimineața și un comprimat seara. Alegerea a fost realizată atât prin prisma considerațiilor economice, prin faptul că tratamentul era integral decontat de către instituțiile statului, dar și studiile clinice care au confirmat eficiența acestui regim terapeutic. Toți pacienții au urmat tratament timp de 3 luni, iar de subliniat este și faptul că nu s-a administrat concomitent și rabavirină, eficiența fiind maximă la 3 luni de la finalizare cu răspuns virusologic susținut.

Un aspect important ce a fost propus în studiu a fost măsurarea fibrozei înainte și după acțiunea AAD asupra infecției cu HCV. Un răspuns virusologic la finalul tratamentului are un impact major asupra prognosticului, dar efectul asupra bolii hepatice propriu zise nu a fost pe deplin elucidat. Astfel se reduce riscul de apariția în timp al evoluției către ciroză hepatică și implicit CHC. Mai multe studii ce au folosit metode neinvazive au sugerat o reducere în elasticitatea hepatică în timpul terapiei cu interferon și ribavirină, cu o îmbunătățire la pacienții cu răspuns virusologic susținut în timp. Markerii utilizați de evaluare a fibrozei hepatice, de la EI și teste biologice s-au dovedit influențate la finalul terapiei antivirale. Este de menționat că această scădere a valorilor s-a înregistrat nu numai la pacienții cu fibroză hepatică, dar și la cei aflați în stadiul de ciroză. În principiu, faptul că valorile EI nu înseamnă neapărat o regresie a fibrozei și reprezintă mai degrabă o scădere a inflamației cel puțin în prima lună după confirmarea răspunsului virusologic susținut. Cu toate acestea faptul că și acidul hialuronic a prezentat valori mai mici la finalul tratamentului aduce în discuție probabilitatea acestui fenomen de regresie a fibrozei, cu toate că pentru validarea va fi nevoie de un lot pacienți mult mai mare.

3. Concluzii

- Hepatita cronică virală C reprezintă o problemă de sănătate globală și este considerată cauza principală de ciroză fiind implicată direct în patogeneza carcinomului hepatocelular;
- Evoluția către ciroză hepatică presupune instalarea fibrozei hepatice, iar evaluarea acesteia reprezintă un obiectiv important în abordarea infecției HCV atât prin stadializarea bolii cât și pentru atitudine terapeutică ulterioară;
- Studiul de față a avut un caracter prospectiv și a propus evaluarea pacienților cu infecție HCV și BCR tratați prin hemodializă, cu scopul de a evidenția particularitățile individuale ale pacienților atât din punct de vedere al evaluării evoluției bolii hepatice cât și a terapiei propuse și implicit al prognosticului în timp a bolii;
- Relația dintre HCV și BCR subliniază necesitatea de colaborare multidisciplinară între nefrolog și gastroenterolog pentru a elimina infecția HCV în cazul acestor pacienți și implicit a oferi o urmărire proprie pe termen lung. Avantajele majore au apărut prin introducerea medicației AAD;
- Studiul evidențiază necesitatea introducerii acestui tratament la pacienții cu BCR în stadiul de hemodializă pentru a putea preveni eventuale complicații pe viitor. De asemenea este necesar obținerea unui RVS pentru a obține beneficii majore asupra manifestărilor hepatice și extrahepatice legate de infecția HCV;
- Eradicare infecției VHC la pacienții cu BCR reprezintă o provocare și va necesita o abordare multidisciplinară pentru a oferi atât pacientului cât și clinicianului acces direct la această terapie și a putea preveni în timp reinfecția;
- Cu fiecare apariție a unui medicament AAD, opțiunile de management se extind. Pacienții care au avut parte de eșecul terapiei anterioare vor putea beneficia de noile combinații de medicamente. Deși anticorpii anti-HCV prezenți în infecția cronică nu sunt funcționali, procesul imun care permite unui număr considerabil de pacienți să obțină o remisiune spontană după o infecție acută poate fi valorificat prin crearea unui vaccin pentru hepatita C.
- Prin acest studiu s-a încercat abordarea unei entități aparte de pacienți cu infecție cronică virală C prin asocierea cu boala cronică de rinichi în stadiul avansat tratată prin hemodializă și astfel a oferit astfel atât o nouă abordare asupra acestor pacienți din punct de vedere al diagnosticului bolii hepatice, monitorizării dar și al rezultatului terapiei antivirale.

Bibliografie Selectivă

1. Gao, B., W.I. Jeong, and Z. Tian, *Liver: An organ with predominant innate immunity*. Hepatology, 2008. **47**(2): p. 729-36.
2. Szabo, G., P. Mandrekar, and A. Dolganiuc, *Innate immune response and hepatic inflammation*. Semin Liver Dis, 2007. **27**(4): p. 339-50.
3. Paik, Y.H., R.F. Schwabe, R. Bataller, M.P. Russo, C. Jobin, and D.A. Brenner, *Toll-like receptor 4 mediates inflammatory signaling by bacterial lipopolysaccharide in human hepatic stellate cells*. Hepatology, 2003. **37**(5): p. 1043-55.
4. Seki, E., S. De Minicis, C.H. Osterreicher, J. Kluwe, Y. Osawa, D.A. Brenner, and R.F. Schwabe, *TLR4 enhances TGF-beta signaling and hepatic fibrosis*. Nat Med, 2007. **13**(11): p. 1324-32.
5. Guo, J., J. Loke, F. Zheng, F. Hong, S. Yea, M. Fukata, M. Tarocchi, O.T. Abar, H. Huang, J.J. Sninsky, and S.L. Friedman, *Functional linkage of cirrhosis-predictive single nucleotide polymorphisms of Toll-like receptor 4 to hepatic stellate cell responses*. Hepatology, 2009. **49**(3): p. 960-8.
6. Huang, H., M.L. Shiffman, S. Friedman, R. Venkatesh, N. Bzowej, O.T. Abar, C.M. Rowland, J.J. Catanese, D.U. Leong, J.J. Sninsky, T.J. Layden, T.L. Wright, T. White, and R.C. Cheung, *A 7 gene signature identifies the risk of developing cirrhosis in patients with chronic hepatitis C*. Hepatology, 2007. **46**(2): p. 297-306.
7. Watanabe, A., A. Hashmi, D.A. Gomes, T. Town, A. Badou, R.A. Flavell, and W.Z. Mehal, *Apoptotic hepatocyte DNA inhibits hepatic stellate cell chemotaxis via toll-like receptor 9*. Hepatology, 2007. **46**(5): p. 1509-18.
8. Gabele, E., M. Muhlbauer, C. Dorn, T.S. Weiss, M. Froh, B. Schnabl, R. Wiest, J. Scholmerich, F. Obermeier, and C. Hellerbrand, *Role of TLR9 in hepatic stellate cells and experimental liver fibrosis*. Biochem Biophys Res Commun, 2008. **376**(2): p. 271-6.
9. Marra, F., *Chemokines in liver inflammation and fibrosis*. Front Biosci, 2002. **7**: p. d1899-914.