

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN CRAIOVA  
ȘCOALA DOCTORALĂ**

**TEZĂ DE DOCTORAT**

**FARMACOGENETICA ȘI IMPLICAREA POLIMORFISMELOR GENETICE  
ÎN RĂSPUNSUL LA TERAPIA CU PEGINTERFERON ȘI RIBAVIRINĂ LA  
PACIENȚII CU HEPATITĂ VIRALĂ C**

**~REZUMAT~**

**Conducător de doctorat,  
Prof. Univ. Dr. Tica Andrei**

**Student Doctorand**

**Kamal Adina Maria**

**CRAIOVA  
2017**

## CUPRINS

STADIUL CUNOAȘTERII.....	3
MATERIAL ȘI METODE.....	3
METODE .....	4
Recoltarea probelor și a materialului biologic.....	4
Teste diagnostice.....	4
Determinarea ADN-VHC(viremia) .....	4
Teste hematologice.....	4
Evaluarea fibrozei hepatice .....	5
Analiza genetică .....	5
REZULTATE .....	5
Studiul epidemiologic.....	5
Studiul efectelor adverse și răspunsul la tratament.....	5
Rezultatul studiului polimorfismelor genei IL28B.....	7
Rezultatul studiului polimorfismelor genei rs8099917 .....	8
Rezultatul studiului polimorfismelor genei ITPA .....	8
Rezultatul studiului polimorfismelor genei C20orf194-rs6051702.....	9
CONCLUZII GENERALE .....	10

Cuvinte cheie: Virusul hepatitei C, Răspuns virusologic susținut, polimorfism nuclear

## STADIUL CUNOAȘTERII

Mai mult de 200 de milioane de oameni din întreaga lume au fost infectați cu virusul hepatitei C. (1) Istoria naturală a hepatitei C, diferă în mare măsură; motivele pentru această heterogenitate rămân incomplet înțelese, dar sunt strâns legate de factorii virali, de mediu și cei ce țin de gazdă. Infecția cu VHC cronică poate duce la ciroză și carcinom hepatocelular (HCC).

Virusul hepatitei C este un virus ARN de aproximativ 55 nm în diametru, de formă aproximativ sferică, (2,3) cu o rată mutațională extrem de ridicată, ceea ce are ca rezultat o heterogenitate genomică considerabilă, fenomen favorizat de o rată ridicată a turnover-ului viral. (4) Există aproximativ 7 genotipuri virale descoperite până în momentul acesta, în Europa fiind cel mai prevalent genotipul viral 1b.

Hepatita cronică C este singura infecție virală cronică, care poate fi vindecată prin tratament antiviral. Foarte important, tratamentul antiviral de succes poate preveni complicațiile pe termen scurt și termen lung ale infecției cu VHC, în cazul multor pacienți. (5) Deși infecția cu VHC duce la inflamația hepatică și steatoză, consecința majoră a infecției cu VHC persistent, este dezvoltarea fibrozei hepatice, care poate degenera într-o formă de ciroză hepatică cu risc letal sau carcinom hepatocelular. Fibroza hepatică este rezultatul net al unui proces dinamic complex. Fibroza hepatică apare ca răspuns la toate formele de afectare hepatică, și în acest caz, datorită agresiunii virusului hepatitei C asupra țesutului hepatic.

Până în 2011, golden-standard-ul pentru tratamentul infecției cu VHC era dubla terapie cu Peg-Interferon, administrat o dată pe săptămână subcutanat și Ribavirină administrată oral, dar până în 2016 în cazul României. Mai multe studii cruciale de fază 3, privind tratamentul hepatitei cronice C cu Peg-IFN- $\alpha$ , ribavirină, și fie boceprevir sau telaprevir au dus la aprobarea a 2 inhibitori de protează în 2011. Mai multe tipuri de DAA au fost testate în studii clinice de fază 2 și 3, în asociere cu IFN pegilat și ribavirină. Principalele avantaje ale inhibitorilor de protează de primă generație sunt tolerabilitatea mai bună și utilizarea lor în regimurile cu IFN free. Combinații de noi DAA care vizează diferite etape din ciclul de viață al VHC, au condus la vindecarea infecției cu VHC in vitro (8) și pe modelele animale.

## MATERIAL ȘI METODE

*Crearea bazei de date cu subiecții loturilor experimentale*

Au fost incluși 267 de pacienți diagnosticați cu Hepatită cronică virală C, din cadrul Centrului Medical Renașterea și Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova în perioada 2013-2016. Lotul control a fost reprezentat de pacienții sănătoși, fără dovezi de infecție cu virusul hepatitei C. Studiul a presupus evaluarea eligibilității pacienților, includerea acestora în studiu după semnarea consimțământului informat și monitorizarea lor pe perioada terapiei. Pacienții au primit tratament cu PegInterferon și Ribavirină pentru o perioadă de 48 de săptămâni, fiind evaluați la 4,12,24 și 48 de săptămâni și la 24 de săptămâni de la terminarea terapiei.

## **METODE**

Pacienții incluși au fost evaluați biologic la 1,3,6 luni de la inițierea terapiei și la 6 luni post-terapeutic. Pacienții au primit chestionare pe durata terapiei pentru consemnarea subiectivă a efectelor adverse survenite. De asemenea fiecărui pacient i-a fost completată o fișă de evaluare la fiecare vizită medicală în care au fost consemnate datele evenimentelor survenite de la ultima vizită, cât și modificările observate în timpul vizitei.

### ***Recoltarea probelor și a materialului biologic***

Materialul biologic a fost reprezentat de probe de sânge venos recoltate pe EDTA și menținut la 4°C până în momentul extracției de ADN. În cazul pacienților din lotul control materialul biologic a fost sângele. Probele au fost codificate cu literele KAM și numere acordate în ordinea recoltării.

### ***Teste diagnostice***

S-a realizat prin metoda imunochimică cu detecție prin electrochemiluminiscență (ECLIA) sau teste serologice de depistare a anticorpilor anti VHC prin metoda imunoenzimatică ELISA ( Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

### ***Determinarea ADN-VHC(viremia)***

Determinarea ADN-VHC s-a realizat la inițierea terapiei, la 4 săptămâni de la inițiere, la 12 săptămâni de la inițiere, la 24 de săptămâni de la inițiere, la sfârșitul terapiei și la 6 luni de la încheierea tratamentului

### ***Teste hematologice***

S-a realizat o hemoleucogramă completă la fiecare vizită medicală a subiecților incluși în studiu prin metoda automatizată.

### ***Evaluarea fibrozei hepatice***

Evaluarea fibrozei hepatice s-a realizat prin testul FibroTest®, o alternativă non-invazivă la biopsia hepatică care a fost validată clinic la pacienții cu hepatită cronică B și C, hepatopatie indusă de etanol și steatoză hepatică non-alcoolică. Are la bază un algoritm care combină rezultatele obținute la determinarea unor markeri biochimici serici în scopul evaluării gradului de fibroză și a activității necroinflamatorii.

### ***Analiza genetică***

Pentru izolarea ADN-ului genomic din probele de sânge recoltate pe EDTA și menținut la 4°C s-a utilizat kit-ul Wizard® Genomic DNA Purification Kit (Promega, Madison, WI). În ceea ce privește protocolul de lucru pentru evidențierea polimorfismelor unui singur nucleotid (SNP – single nucleotide polymorphisms) s-a folosit TaqMan® Universal Master Mix și TaqMan® SNP Genotyping Assays (Applied Biosystems, Foster City, CA) specifici pentru fiecare dintre polimorfismele studiate.

### ***Prelucrarea statistică a datelor***

Pentru prelucrarea datelor s-au folosit programul Microsoft Excel (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA), împreună cu suita XLSTAT pentru MS Excel (Addinsoft SARL, Paris, Franța) și programul IBM SPSS Statistics 20.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

## **REZULTATE**

### ***Studiul epidemiologic***

Studiul a inclus un total de 267 de pacienți, diagnosticați cu hepatită virală C și internați în Clinica Medicală II din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova sau care s-au prezentat la consult de specialitate în cadrul Centrului Medical Renașterea. Studiul nostru prospectiv s-a desfășurat pe o perioadă de 4 ani, cu o perioadă de 18 luni de monitorizare pentru fiecare pacient.

Din lotul inițial de pacienți de 312, doar 267 s-au încadrat în criteriile de includere și nu au prezentat nici un criteriu de excludere.

Cea mai mare pondere de hepatite cronice virale C a fost înregistrată în decada V de viață cu un număr de 80 de pacienți (29,96%), urmat de decada IV de vârstă, reprezentând 27,34% (73 de pacienți) din totalul pacienților incluși. Raportul între femei și bărbați a fost de 2:1 fără a exista un factor de risc suplimentar pentru acest grup populațional.

### ***Studiul efectelor adverse și răspunsul la tratament***

Am cercetat în rândul pacienților frecvența apariției efectelor adverse pe perioada tratamentului antiviral. Rezultatele au fost următoarele: 100 (37,45%) de pacienți au

prezentat scădere ponderală pe perioada tratamentului, 78(28,08%) de pacienți au prezentat cefalee, 81(30,33%) de pacienți au prezentat mialgii, 100(37,45%) de pacienți au prezentat febră sau stare pseudogripală, 85 (31,83%) de pacienți au prezentat artralgii, 79(29,58%) de pacienți au prezentat reacții locale la locul de injectare, 110 (41,19%) pacienți au prezentat greață, 126(47.19%) de pacienți au prezentat inapetență, 29 (10,86%) de pacienți au prezentat tulburări de tranzit, 12(4,49%) pacienți au prezentat prurit postexpunere, 16(5,99%) pacienți au prezentat insomnii și iritabilitate, 6(2,24%) pacienți au prezentat depresie, 4(1,49%) pacienți au prezentat dispnee, 15(5,62%) pacienți au prezentat tuse rebelă și 3(1,12%) pacienți au prezentat hipertiroidie, hipotiroidie și dermatită. Deși nu a fost inclus în reprezentarea grafică, a existat un caz de sarcoidoză secundar terapiei cu Interferon ce a avut ca primă prezentare iridociclită.

Din totalul pacienților incluși în studiu, 139(52,06%) de pacienți au prezentat anemie secundară tratamentului, 123(46,07%) de pacienți au prezentat leucopenie, 95(35.58%) de pacienți au prezentat neutropenie și 119(44,56%) de pacienți au prezentat trombocitopenie cu grade variate de gravitate.

Din totalul de pacienți care au răspuns la tratament doar 30,67% de pacienți au necesitat reducerea dozei de Ribavirină, ceea ce demonstrează că reducerea dozelor de Ribavirină afecetează într-un mod negativ răspunsul la tratament.

Datele demonstrează o semnificație statistică puternică a dozei de Ribavirină în ceea ce privește dezvoltarea anemiei cu o valoare a lui  $p$  calculată prin testul Chi pătrat de 0,001.

Rezultatele studiului în funcție de apariția anemiei și obținerea răspunsului virusologic susținut au fost înalt semnificative statistic, demonstrând că pacienții care au prezentat grade variate de anemie au răspuns mai bine la terapia antivirală.

Rezultatele studiului în funcție de răspunsul virusologic susținut au fost următoarele: 149(55,81%) din pacienți au obținut RVS la 24 de săptămâni de la terminarea tratamentului și 118(44,19) pacienți au fost non-responderi. Nu am putut identifica o legătură statistică între sexul pacienților în ceea ce privește răspunsul la tratament. Nici femeile, nici bărbații nu au răspuns mai bine la terapia cu Peg-Interferon și Ribavirină.

Am studiat care au fost tipurile de răspuns la tratament în lotul nostru. Rezultatele sunt următoarele: 113 (42,32%) de pacienți au avut EVR(răspuns virusologic precoce) , 29 (10,86%) au avut breakthrough, 17 (6,37%) pacienți au fost relapseri, 149 (55,81%) au prezentat RVS (răspuns virusologic susținut), 167 (62.55%) au avut RVR(răspuns virusologic rapid) și 58 (21,72%) de pacienți au avut DVR(răspuns virusologic întârziat). Am demonstrat că RVS a fost pozitiv influențat de obținerea răspunsurilor rapide și precoce cu un  $p < 0,01$ .

De asemenea, am demonstrat că pacienții cu încărcătură virală mare la inițierea terapiei au prezentat rate mai scăzute de răspuns virusologic susținut.

Studiind legătura dintre încărcătura virală și apariția unui răspuns virusologic rapid sau timpuriu, am observat că 33 (12,36%) din pacienții care au obținut RVR au avut o încărcătură virală mică  $< 400000\text{UI/mL}$ , și 83 (31,09%) pacienți nu au obținut RVR. Din totalul pacienților cu HVL, 134 (50,19%) de pacienți au obținut RVR și 17(6,37%) pacienți nu au obținut răspuns virusologic rapid. Rezultatele au fost neașteptate, obținând o pondere mai mare de răspuns rapid, pacienții cu HVL. Rezultatele studiului pentru încărcătura virală mare și obținerea EVR au demonstrat următoarele: 75 (28,09%) de pacienți care au obținut EVR au avut LVL și 38(14,23%) au avut HVL; 76 (28,46%) de pacienți fără EVR au avut HVL și 78 (29,21%) au avut LVL. Rezultatele nu au fost semnificative statistic însă se poate observa că o încărcătură virală mare reprezintă un factor predictiv negativ pentru obținerea unui răspuns virusologic timpuriu.

Din totalul pacienților care au obținut răspuns virusologic susținut, 81 (30,34%) de pacienți au avut gradul F1 de fibroză față de 23 (8,61) de pacienți care nu au răspuns, 48 (17,98%) de pacienți au avut gradul F2 de fibroză față de 44(16,48%) de pacienți care nu au răspuns și 20 (7,49%) de pacienți au avut grad F3 față de 51 (19,10%) care nu au răspuns. Rezultatele au fost înalt semnificative statistic, cu un  $p$  calculat  $<0.001$ .

### ***Rezultatul studiului polimorfismelor genei IL28B***

În funcție de răspunsul la tratament rezultatele au fost următoarele: 69(70,41%) de pacienți cu genotip CC au răspuns la tratament în timp de 29(29,59%) nu au răspuns, 76(56,72%) de pacienți cu genotip CT au înregistrat RVS în timp ce 58(43,28%) de pacienți au fost non-responderi, și 4(11,43%) pacienți cu genotip TT au răspuns la tratament în timp ce 31(88,57%) de pacienți au avut viremie detectabilă la sfârșitul tratamentului. Rezultatele studiului au fost înalt semnificative statistic cu un  $p$  calculat de  $<0,001$ , ceea ce demonstrează că pacienții cu genotip CC au șanse mai mari de a răspunde la tratamentul cu PegInterferon și Ribavirină comparativ cu cei cu genotip CT sau TT.

Am realizat de asemenea o analiză descriptivă a ratei de scădere a încărcăturii virale pe durata tratamentului în funcție de polimorfismul genetic. Cea mai rapidă scădere a fost înregistrată pentru polimorfismul genetic CC dar de asemenea pacienții cu acest genotip au fost cei cu încărcătura virală cea mai ridicată.

În continuare am investigat dacă polimorfismul genetic rs12979860 a influențat rata de apariție a răspunsurilor virusologice timpuriu și rapid. Rezultatele nu au

fost semnificative statistic, demonstrând că polimorfismele genei IL28B nu au putere predictivă pentru răspunsul virusologic rapid sau timpuriu pe parcursul dublei terapii.

### ***Rezultatul studiului polimorfismelor genei rs8099917***

Am studiat relația dintre răspunsul la tratament și polimorfismul genetic rs8099917. Rezultatele au fost după cum urmează: 2(0,75%) pacienți cu genotip CC au înregistrat RVS în timp ce 16(5,99%) pacienți au fost non-responderi, 54(20,22%) de pacienți cu genotipul GT au răspuns la tratament în timp ce 47(17,60%) de pacienți nu au răspuns, iar în cazul genotipului TT, 93(34,83%) de pacienți au răspuns la tratament comparativ cu 55(20,60%) de pacienți care au avut viremie detectabilă la sfârșitul tratamentului. Valoarea calculată  $p < 0.001$  demonstrează că rezultatele studiului au fost înalt semnificative, ceea ce demonstrează faptul că pacienții cu genotip TT au șanse mai mari de a răspunde la tratamentul cu PegInterferon și Ribavirină.

Am continuat cu analiza influenței polimorfismului genetic rs8099917 asupra ratei de apariție a răspunsurilor virusologice.

Din pacienții care au obținut răspuns virusologic rapid, 9(3.37%) pacienți au avut genotip GG, 62(23.22%) de pacienți au avut genotip GT și 96(35.96%) sunt pacienți cu genotip TT în timp ce 9(3.37%) pacienți au avut genotip GG, 39(14.61%) de pacienți cu genotip GT și 52(19.48%) de pacienți cu genotip TT, nu au obținut răspuns virusologic rapid. Rezultatele au fost semnificative statistic cu un  $p$  calculat  $< 0.001$  care demonstrează că genotipul TT influențează rata de apariție a RVR.

În ceea ce a privit răspunsul virusologic precoce, 1 (0,37%) pacient cu genotip GG, 48(17,98%) de pacienți cu genotip GT și 64(23,97%) de pacienți cu genotip TT, au obținut EVR în timp ce 17(6,37%) pacienți cu genotip GG, 53(19,85%) de pacienți cu genotip GT și 84(31,46%) pacienți cu genotip TT nu au obținut o scădere mai mare de 2-log a încărcăturii virale la 12 săptămâni de tratament. Am obținut rezultate statistic semnificative cu un  $p$  de 0,04, în ceea ce privește genotipul TT și răspunsul virusologic precoce.

În ceea ce a privit studiul lotului control, am observat că în cazul polimorfismului genetic rs 8099917, majoritatea pacienților au prezentat genotipul CC, iar în cazul polimorfismului rs12979860, proporțiile au fost relativ egale pentru genotipurile CC și TT.

### ***Rezultatul studiului polimorfismelor genei ITPA***

Unul dintre cele mai importante efecte adverse din cadrul dublei terapii a fost indiscutabil, anemia. Am încercat să cercetăm dacă polimorfismul genei ITPA s-a corelat cu apariția anemiei la pacienții în tratament cu PegInterferon și Ribavirină. Rezultatele



obținute au fost statistic semnificative, demonstrând că pacienții purtători ai alelei minore A, sunt protejați împotriva anemiei.

Am cercetat de asemenea dacă polimorfismul nucleotidic unic rs1127354 a influențat în vreo măsură scăderea de peste 2,5g/dl a Hemoglobinei la săptămâna 4.

Luând în considerare rezultatele anterior prezentate, am vrut să investigăm dacă poate fi realizată o corelație cu necesitatea de reducere a dozelor de Ribavirină pe durata tratamentului. Pacienții homozigoți CC s-au dovedit a fi cei mai puțin susceptibili pentru aplicarea acestei măsuri, cu o pondere de 62,55% din pacienți ( $p < 0.001$ ) ce nu au necesitat modificarea dozei de Ribavirină. Studiul a continuat cu investigarea aceluiași parametri în relație cu apariția leucopeniei și neutropeniei. Rezultatele nu au fost concludente, astfel că nu s-a putut demonstra o legătură între apariția acestor efecte adverse hematologice și polimorfismul genei ITPA rs 1127354. În ceea ce a privit trombocitopenia, am investigat relația cu polimorfismele genei ITPA. Am realizat studii de corelație între apariția trombocitopeniei ușoare, moderate, severe și dezvoltarea ei per ansamblu. Nu am reușit să demonstrăm o legătură statistică între parametrii studiați.

Am cercetat de asemenea dacă apariția efectelor adverse este influențată de genotipul rs12979860, genotipul rs8099917, genotipul rs6051702 și . Am descoperit că deși nu poate exista o relație de predicție, unele polimorfisme s-au dovedit că protejează apariția unora dintre efectele adverse cercetate. Ca și în cazul celorlalte polimorfisme am investigat dacă variante genetice ale ITPA rs 1127354 pot fi corelate cu apariția efectelor adverse apărute în cadrul studiului nostru. S-a demonstrat că o pondere foarte mare de pacienți cu genotip CC sunt protejați împotriva dezvoltării depresiei pe durata tratamentului; nici o altă corelație nu a putut fi stabilită.

Rezultatele studiului privind relația dintre răspunsul la tratament și polimorfismul genetic au fost înalt semnificative statistic cu un p calculat de  $< 0,001$ , demonstrând că pacienții cu genotip AA au cele mai mari șanse de a răspunde la tratamentul cu Peginterferon și Ribavirină.

Am cercetat dacă apariția anemiei a fost influențată de vreunul din polimorfismele genetice cercetate. Datele au fost semnificative statistic, demonstrând că alela A predispune la dezvoltarea anemiei pe durata tratamentului cu PegInterferon și Ribavirină ( $p < 0,001$ ).

### ***Rezultatul studiului polimorfismelor genei C20orf194-rs6051702***

În continuare am investigat dacă polimorfismele nucleotidice unice ale genei C20orf194-rs6051702 s-au asociat cu scăderea valorii hemoglobinei la săptămâna 4 de

peste 2,5g/dl. Nu a fost indentificată nici o asociere între alelele AA, AC, CC și scăderea hemoglobinei la săptămâna 4 cu un p calculat prin testul chi pătrat de 0,1, însă genotipul AA s-a dovedit a fi un factor protector. În ceea ce a privit neutropenia, am descoperit că alela A reprezintă un factor protector.

Din totalul pacienților care au prezentat trombocitopenie de diverse grade pe durata tratamentului, 77 (%) de pacienți au avut genotip AA, 46 (%) de pacienți au avut genotip AC și 2 pacienți, genotip CC. Studiul statistic a demonstrat că pacienții homozigoți pentru alela A sunt protejați împotriva dezvoltării trombocitopeniei pe durata tratamentului antiviral.

Am investigat relația dintre polimorfismul nucleotidic unic rs6051702 și scăderea Hemoglobinei de peste 2,5 g/dl la săptămâna 4. Rezultatele obținute au fost semnificative statistic în sensul că alela minoră A are un rol protector pentru anemia dezvoltată la săptămâna 4 de tratament. Cu toate acestea, nu am putut demonstra că alela A își menține rolul protector pe durata întregului tratament.

În ceea ce a privit studiul lotului control, am observat că în cazul polimorfismului genetic rs 1127354, majoritatea pacienților au prezentat genotipul CC, iar genotipul AA nu a fost identificat la nici un pacient, iar în cazul polimorfismului rs6051720, majoritatea pacienților au prezentat genotip AA.

## **CONCLUZII GENERALE**

Lotul studiat a cuprins 267 de pacienți diagnosticați cu hepatită cronică de etiologie virală C, în perioada 2013-2016.

Cea mai mare pondere a pacienților a aparținut decadelor de vârstă 4-6, cu majoritatea lor, încadrați între 49 și 59 de ani.

În ceea ce a privit distribuția lotului studiat în funcție de sex, 68,54% din pacienții incluși în studiu au fost de sex feminin. Raportul femei: bărbați a fost de 2:1.

Majoritatea pacienților au avut ca mediu de proveniență, mediul urban, cu un procent de 69,29% față de 30,71% pacienți provenind din mediul rural.

În ceea ce a privit tratamentul administrat, 145 de pacienți au primit doza de 1000 mg de Ribavirină, 62 de pacienți au primit doza de 800 mg și 60 de pacienți au primit doza de 1200 mg, iar în funcție de tipul de PegInterferon, 172 de pacienți au fost tratați cu Peginterferon alfa 2b și 95 de pacienți au primit tratament cu Peginterferon alfa 2a.

Efectele adverse survenite pe durata studiului au fost variate, cu predominanța

efectelor adverse gastrointestinale și celor de tip pseudogripal cum sunt febra, mialgiile și cefaleea. De asemenea un procent important de pacienți a prezentat artralgiile și reacții locale la locul de injectare.

În ceea ce au privit efectele adverse hematologice, 139 (52,06%) de pacienți au prezentat anemie secundară tratamentului, 123 (46,07%) de pacienți au prezentat leucopenie, 95 (35,58%) de pacienți au prezentat neutropenie și 119 (44,56%) de pacienți au prezentat trombocitopenie cu grade variate de gravitate: 73 de pacienți au prezentat o formă ușoară de trombocitopenie, 37 de pacienți- o formă moderată și doar 9 pacienți au prezentat trombocitopenie severă.

Reducerea dozelor de Ribavirină a influențat în mod negativ obținerea răspunsului virusologic susținut. Astfel că, din cei 149 (55,81%) de pacienți care au răspuns la tratament doar 30,67% din pacienți au necesitat reducerea dozei de Ribavirină, în timp ce 69,33% din pacienți care nu au avut un răspuns favorabil la tratament, au necesitat reducerea dozelor de Ribavirină.

Doza de Ribavirină a influențat apariția anemiei, rezultatele fiind semnificative statistic. Datorită numărului mare de pacienți care au primit doza de 1000 mg, proporțiile s-au păstrat relativ inegale, studiul nostru demonstrând că doza de 1000 mg influențează cel mai puternic apariția anemiei.

Anemia a avut o frecvență mai crescută în rândul femeilor comparativ cu bărbații; 40 de bărbați au dezvoltat anemie pe durata tratamentului și la 99 de femei s-au înregistrat valori scăzute ale Hb pe durata studiului. Cu toate acestea, femeile au tolerat mai bine anemia, având rate mai scăzute de reducere a dozelor de Ribavirină.

Din lotul studiat, 149 (55,81%) de pacienți au obținut RVS la 24 de săptămâni de la terminarea tratamentului și 118 (44,19) pacienți au fost non-responderi.

Obținerea răspunsului virusologic timpuriu și precoce este un factor predictiv pozitiv pentru obținerea RVS. Din 113 pacienți care au obținut EVR, 75 din aceștia au obținut RVS, iar din 167 de pacienți care au obținut RVR, 133 au obținut RVS.

Obținerea răspunsului virusologic susținut a fost puternic influențată de apariția anemiei. 80 (57,55%) de pacienți au prezentat anemie și au răspuns favorabil la tratament, în timp ce 59 (42,45%) din cei ce au prezentat anemie, nu au răspuns favorabil.

Pacienții cu încărcătură virală mică la inițierea terapiei au șanse mai mari de a răspunde la dubla terapie cu Peglnterferon și Ribavirină.

Gradul de fibroză hepatică influențează răspunsul la terapia antivirală. Din totalul pacienților care au obținut răspuns virusologic susținut, 81 (30,34%) de pacienți au avut gradul F1 de fibroză față de 23 (8,61) de pacienți care nu au răspuns, 48 (17,98%) de

pacienți au avut gradul F2 de fibroză față de 44 (16,48%) de pacienți care nu au răspuns și 20 (7,49%) de pacienți au avut grad F3 față de 51 (19,10%) care nu au răspuns. Pacienții cu gradul F1 de fibroză hepatică au răspuns cel mai bine la tratament.

Pacienții cu genotipul CC al genei IL28B, au șanse mai mari de a răspunde la tratament. Din totalul de 149 de pacienți care au obținut RVS, 69 (70,41%) de pacienți au fost homozigoți pentru alela C.

Nu s-a putut demonstra nici o legătură statistică între polimorfismul genei IL28B și apariția anemiei sau a răspunsurilor virusologice rapid și precoce.

Am demonstrat că genotipul CC al genei rs12979860 este protectiv pentru apariția mialgiilor, artralgiilor și trombocitopeniei severe. Sunt necesare studii aprofundate și pe loturile mai mari de pacienți, pentru demonstrarea acestei corelații

În ceea ce a privit polimorfismul genei rs8099917, rezultatele studiului nostru au demonstrat că genotipul TT reprezintă un factor predictiv pozitiv pentru obținerea RVS.

De asemenea, am demonstrat că genotipul TT al genei rs809917 influențează pozitiv apariția răspunsurilor virusologice rapid și timpuriu, cu 96 de pacienți cu genotip TT, 62 de pacienți cu genotip GT și 9 pacienți cu genotip GG care au obținut RVR și 64 de pacienți cu genotip TT, 48 de pacienți cu genotip GT și 1 pacient cu genotip GG care au obținut EVR.

Nu s-a putut demonstra nici o legătură statistică între polimorfismul genei rs8099917 și apariția anemiei.

Am demonstrat că genotipul TT al genei rs8099917 este protectiv pentru apariția cefaleei, artralgiilor, tulburărilor de tranzit, iritabilității și trombocitopeniei moderate. Sunt necesare studii aprofundate și pe loturile mai mari de pacienți, pentru demonstrarea acestei corelații

Am încercat să cercetăm dacă polimorfismul genei ITPA s-a corelat cu apariția anemiei la pacienții în tratament cu PegInterferon și Ribavirină. Rezultatele obținute au fost statistice semnificative, demonstrând că pacienții purtători ai alelei minore A, sunt protejați împotriva anemiei.

În cadrul studiului nostru, s-a demonstrat că genotipul AC, a reprezentat cel mai puternic protector împotriva apariției anemiei. Nu am putut determina dacă variantele genetice ale polimorfismelor rs 1127354 și rs6051702 pot avea valoare predictivă pentru apariția anemiei din cursul terapiei antivirale, la pacienții cu hepatită cronică virală C, din Sud-Vestul României.

Pacienții cu genotip AC al genei rs1127354 sunt cei mai protejați împotriva scăderii de peste 2,5g/dl a Hemoglobinei la săptămâna 4 de tratament. Alela A, a genei 1127354, s-a

dovedit a fi un factor protector pentru scăderea Hemoglobinei la săptămâna 4 de tratament.

S-a demonstrat că o pondere foarte mare de pacienți cu genotip CC sunt protejați împotriva dezvoltării depresiei pe durata tratamentului; nici o altă corelație nu a putut fi stabilită.

În ceea ce au privit polimorfismele nucleotidice unice ale genei C20orf194, datele au demonstrat că pacienți purtători ai genotipurilor AC/CC, au fost protejați împotriva dezvoltării anemiei. Genotipul AA s-a asociat cu rate mai ridicate de apariție a anemiei. În schimb, nu s-au putut demonstra corelații între aceste genotipuri și scăderea la săptămâna 4 a Hemoglobinei de peste 2,5g/dl. Datele obținute au corespuns cu descoperirile noastre anterioare pe un lot mai mic de pacienți.

Genotipul CC al genei ITPA s-a dovedit a avea o putere predictivă negativă pentru obținerea răspunsurilor virusologice precoce și rapid, iar în ceea ce a privit obținerea RVS, nu s-a putut demonstra nici o corelație.

O descoperire surprinzătoare a fost asocierea genotipului AA al genei c20orf194 cu obținerea răspunsului virusologic susținut.

Am descoperit că deși nu poate exista o relație de predicție, unele polimorfisme s-au dovedit că protejează împotriva apariției unora dintre efectele adverse cercetate. Pacienții homozigoți pentru alela A par a fi protejați împotriva apariției trombocitopeniei moderate și severe și a senzației de greață secundară terapiei antivirale.