

**UNIVERSITATEA „LUCIAN BLAGA” SIBIU**

**EVALUAREA FIBROZEI HEPATICE ÎN HEPATITA  
CRONICĂ VIRALĂ C.**

**Rezumatul tezei de doctorat**

**CONDUCĂTOR ȘTIINȚIFIC:  
Prof. Univ. Dr. MIRCEA DEAC**

**DOCTORAND:  
MARIA CORINA BECA**

**SIBIU  
2012**

## CUPRINS

Introducere .....	5
<b>I. PARTE GENERALĂ</b>	
1. Hepatita cronică virală C .....	7
2. Virusul hepatitic C .....	8
I.2.1. Variabilitatea genetică a VHC .....	8
I.2.2. Replicarea VHC .....	9
I.2.3. Proteina core a VHC.....	10
3. Istoria naturală a infecției cu VHC .....	10
4. Transmiterea infecției cu VHC .....	11
5. Patogeneza infecției virale C .....	12
5.1. Mecanisme patogenetice .....	12
5.1.1. Citopatogenicitatea directă.....	12
5.1.2.. Mecanismele imune .....	13
5.2. Mecanismele persistenței virale și progresia infecției .....	14
6. Morfopatologie .....	15
7. Tablou clinic .....	17
8. Teste diagnostice.....	19
9. Tratamentul infecției virale C .....	20
10. Fibroza hepatică .....	22
10.1.Compoziția, structura și distribuția matricei extracelulare în ficatul normal .....	23
10.2. Matricea extracelulară în bolile hepatice.....	24
10.3. Celula hepatică stelată.....	24
10.4Mecanismele generale ce reglează fibroza hepatică .....	25
11. Modalități de evaluare a fibrozei hepatice .....	36
11.1 Evaluarea morfologică- puncția biopsie hepatică .....	36

11.2	Markeri neinvazivi ai fibrozei hepatice .....	45
	Generalități.....	45
	Scorul APRI.....	48
	Indexul Forns .....	50
	Fibrotest .....	50
	Fibroscan-elastografia hepatică .....	52
	Indexul Fib-4.....	56
	Fibroindex.....	56
	Elastografia RMN .....	57
12.	Concluzii.....	58

## **II. CERCETĂRI PERSONALE**

1.	Ipoteza de lucru.....	59
2.	Material si metodă.....	59
3.	Analiza statistică .....	64
4.	Rezultate .....	65
4.1.	Fibroza hepatică.....	66
4.2.	Date demografice.....	66
4.2.1.	Repartiția pe genuri.....	67
4.2.2.	Vârsta .....	69
4.2.3.	Corelații între repartiția pe grupe de vârstă și datele demografice. ....	70
4.2.4.	Mediul de viață .....	71
4.2.5.	Corelații mediul de viață-grupele de vârstă .....	72
4.2.6.	Tipul de activitate` .....	73
4.3.	Sursa de infecție.....	74
4.3.1.	Corelații modalitatea de infectare- date demografice .....	75
4.3.2.	Corelații sursa de infecție- gradele de fibroză .....	79
4.4.	Steatoza hepatică.....	79
4.4.1.	Corelații steatoza hepatică-date demografice .....	81
4.4.2.	Corelații steatoză – distribuția pe genuri .....	84
4.5.	Prezența diabetului zaharat .....	85

4.5.1. Corelația diabet zaharat-fibroză.....	85
4.5.2. Corelații diabet-date demografice.....	86
4.5.3. Corelația diabet-steatoză.....	89
4.6. Asocierea obezității.....	90
4.7. Activitatea necroinflamatorie în lotul global.....	96
4.8. Raportul între gradele de fibroză și valoarea constantelor biologice.....	105
4.9. Markeri neinvazivi ai fibrozei hepatice.....	120
4.9.1. Analiza lotului global.....	120
4.9.2. Analiza loturilor cu ALT crescut și ALT normal.....	128
4.9.3. Analiza comparativă a rezultatelor lotului 2. Determinare suplimentară Fibrotest.....	141
4.9.4. Marker nou.....	161
5. Concluzii.....	165
<b>III. BIBLIOGRAFIE .....</b>	<b>169</b>

## **SINTEZA PĂRȚII GENERALE**

Infecția virală C este o problemă de sănătate publică la nivel mondial, implicând costuri în continuă creștere și programe ample de sănătate.

Infecția virală C este cauza a 70 % din hepatitele cronice, 40% din cirozele hepatice decompensate, 60 % din cazurile de carcinom hepatocelular și 40-50% din indicațiile de transplant hepatic.

Din datele epidemiologice ale OMS se apreciază că infecția virală C afectează 3% din populația globului, însumând peste 170 milioane de persoane, 2 milioane fiind situate în Europa.

Prevalența globală a infecției VHC este cuprinsă între 0,1 și 25% cu o medie de 3%. Se consideră că subiecții cu ARN VHC pozitiv reprezintă între 80 și 90% dintre cei depistați cu Ac anti VHC pozitivi. În România infecția VHC este responsabilă de 64% din hepatitele cronice și 55,8% din cirozele hepatice. Genotipul 1 este cel care predomină.

În marea majoritate a cazurilor virusul determină fibroză cu progresie lentă ce ajunge la ciroză în medie în 30 de ani. Dintre pacienții cu ciroză un procent de 2-3 % vor dezvolta anual hepatocarcinom, iar 1-3 % dintre ei boală hepatică decompensată.

### **Modalități de evaluare a fibrozei hepatice**

#### **1. Evaluarea morfologică- puncția biopsie hepatică**

În era unor progrese tehnologice și a dezvoltării testelor moleculare, biopsia hepatică continuă să fie “standardul de aur” pentru evaluarea bolilor hepatice.

Fragmentul hepatic obținut prin biopsie este supus examenului macroscopic, microscopiei optice, examinării la microscopul electronic, tehnicilor de imunohistochimie, colorațiilor speciale, studiilor de hibridizare ADN, examenului microbiologic.

Biopsia hepatică este de valoare indubitabilă în evaluarea hepatitelor virale C. Aceasta confirmă diagnosticul de hepatită cronică virală C, dar poate releva și alte condiții patologice ca steatohepatita (alcoolică sau nonalcoolică), sindroame de

încărcare cu fier sugestive pentru hemocromatoză, sau poate demonstra prezența globulelor sugestive pentru deficitul de alfa 1 antitripsină.

De asemenea poate evidenția displazia hepatocelulară sau prezența hepatocarcinomului.

## **2. Markerii neinvazivi ai fibrozei hepatice**

Având în vedere că procesul de fibroză hepatică este cel mai important în evaluarea progresiei hepatitei virale C și că acesta este guvernat de o serie de mediatori s-a încercat găsirea unor metode de apreciere neinvazivă a fibrozei hepatice, care să fie lipsite de riscuri și repetitive în diferite stadii de boală și tratament.

S-au luat în studiu următorii markeri serologici:

-SCORUL APRI

-INDEXUL FORNS

-INDEXUL FIB-4

- Fibro Test,

- FIBROINDEX

## **SINTEZA PĂRȚII SPECIALE**

### **Material si metodă**

S-au luat în studiu 184 de pacienți, diagnosticați cu hepatită cronică virală C, care au fost internați în perioada ianuarie 2002- martie 2009, în Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu și Spitalul Militar de Urgență Sibiu.

### **Criterii de includere**

Stabilirea diagnosticului de hepatită cronică virală C s-a făcut pe criteriile clinice, ecografice, biologice- modificări ale enzimelor hepatice persistente peste 6 luni (chiar dacă acestea au fost minime), prezența anticorpilor anti VHC.

### **Criterii de excludere**

Criteriile de excludere au fost constituite din alte cauze posibile de boală hepatică, coinfecție HIV, comorbidități ce ar fi putut modifica histologia hepatică și valorile markerilor serologici studiați: consumul de alcool mai mare de 20 g/zi, hemoliza, sindromul Gilbert, afecțiuni hematologice. Legat de biopsia hepatică au dus la excludere lipsa acordului pacienților pentru efectuarea biopsiei hepatice și prezența contraindicațiilor de puncție.

Puncțiile s-au efectuat cu ace tip Menghini de 1,6 mm (16 gauge), prin abord transtoracic, cu anestezie locală prealabilă, în apnee post expiratorie.

Examenul histopatologic al fragmentelor hepatice obținute a fost efectuat în Laboratorul de Anatomopatologie al Spitalului Clinic Județean de Urgență Sibiu.

Fragmentele hepatice au fost fixate în formol și incluse în parafină. S-au făcut colorații hematoxilină-eozină, tricrom Masson și Perls.

Rezultatul examenului histopatologic a fost cuantificat pe baza scorului Ishak, pentru necesitatea analizei unitare a cazurilor și pentru inițierea tratamentului antiviral.

La un sublot de 30 de pacienți din cei 184, (**LOTUL 2**), în plus față de markerii serologici determinați în lotul global, s-a evaluat Fibrotest (Laboratoarele Bioclinica Timișoara). Din acest motiv, pentru compararea datelor, a fost necesară exprimarea rezultatului examenului histopatologic conform grilei METAVIR, făcându-se reexaminarea fragmentelor cu aplicarea acestei grile de scorificare, cu compararea ulterioară a rezultatelor.

La lotul global de 184 de subiecți (**LOTUL 1**) s-au determinat valorile mai multor markeri serologici pentru cuantificarea fibrozei hepatice: scorurile APRI, FORNS, FIB-4, FIBROINDEX și s-a făcut compararea rezultatelor biopsiilor cu cele ale markerilor.

Calcularea valorilor scorului s-a făcut utilizând valorile de cut-off și formulele utilizate în cercetările originale publicate.

La un sublot de 30 de subiecți (**LOTUL 2**), pe lângă calcularea valorilor APRI, FORNS, FIB-4, FIBROINDEX s-a determinat și FIBROTEST, datele comparându-se cu rezultatele obținute la analiza fragmentului bioptic.

Rezultatele au fost obținute conform protocolului Biopredictive validat în Laboratoarele Bioclinica Timișoara.

Analiza datelor obținute s-a făcut atât pentru lotul global (**1**), de 184 de subiecți, cât și pe două subloturi obținute în funcție de valorile ALT: cu ALT normal (**LOTUL 3**) și ALT crescut (**LOTUL 4**), cu compararea rezultatelor obținute pentru fiecare lot separat.

## **Rezultate**

În prima parte a lucrării am analizat datele legate de lotul global de 184 de pacienți (**LOTUL 1**), la care s-au comparat datele obținute din biopsia hepatică cu cele obținute din calculul APRI, FORNS, FIB-4, FIBROINDEX.

### **1. Fibroza hepatică**

S-a considerat semnificativ nivelul de fibroză  $\geq 3$ , obținut pe grila Ishak. În lotul global de 184 de subiecți valorile indicelui de fibroză pe grila Ishak au avut următoarea repartiție: lotul a fost constituit din 88 (47,82%) pacienți cu fibroză ne semnificativă, 96 (52,17%) pacienți cu fibroză semnificativă din care 3 subiecți cu ciroză (1,6%).

### **2. Date demografice**

Lotul a fost compus din 121 femei, (65,8%) și 63 de bărbați, (34,2%).

În cadrul lotului media de vârstă a subgrupului de gen feminin a fost semnificativ mai crescută ( $p=0,040$ ) față de subgrupul de gen masculin, fapt ce nu se mai regăsește în analiza detaliată pe lotul cu indice de fibroză (Ishak)  $<3$  sau  $\geq 3$ .

Acest fapt ar putea fi explicat de evoluția generală mai severă a hepatitei virale C la sexul masculin, ceea ce ar putea determina boală simptomatică mai devreme decât la sexul feminin, ducând la prezentarea într-un serviciu medical și investigare.

Așa cum era de așteptat vârstele medii ale subiecților cu fibroză  $<3$  sunt mai mici decât ale subiecților cu fibroză  $>3$ , fiind necesară o anumită perioadă de evoluție pentru dezvoltarea fibrozei semnificative.

Pacienții luați în studiu au provenit din mediul rural în proporție de 24,5% (45 subiecți) și din mediul urban în proporție de 75,5% (139 subiecți). Nu am regăsit date semnificative în literatură privind acest fapt, posibil datorită diferențelor mai mici între urban/rural în țările dezvoltate.

Nu s-au asociat semnificativ grupele de vârstă cu mediul de proveniență, nici cu tipul de activitate prestată.

Având în vedere durata mare a infecției până în momentul diagnosticului, sursa infecției a putut fi stabilită la un număr mic de pacienți, la un mare număr rămânând necunoscută.

Astfel, din cei 184 de pacienți, 37 (20,1%) au suferit transfuzii de sânge, sursa de infecție cea mai probabilă fiind aceasta, 30 de subiecți (16,3%) dintre ei au fost supuși



tratamentelor stomatologice mai frecvent decât ceilalți, un număr de 19 subiecți (10,3%) au fost cadre medicale, cauza cea mai probabilă a infecției fiind expunerea profesională. Cu toate informațiile solicitate, la 98 de pacienți din lot (53,3%) sursa de infecție nu a putut fi stabilită. De menționat că nu s-a putut evidenția o posibilă cauză de contagiune intrafamiliară în lotul studiat.

Între vârstele celor 4 grupe nu a existat diferență semnificativă,  $p=0,764$ .

Nu s-au înregistrat asocieri semnificative între diferitele surse de infecție și mediul de viață al subiecților în lotul global sau cel cu fibroză semnificativă. În lotul cu fibroză  $<3$  numărul de subiecți din mediu urban a fost semnificativ mai mare. Acest fapt ar putea fi datorat adresabilității mai crescute la medic în mediul urban, deci diagnosticare într-un stadiu mai precoce de boală.

Există o corelație semnificativă între tipul de activitate și modalitățile de infecție atât în lotul global ( $p=0,000$ ) cât și în subploturile cu grade de fibroză diferite ( $p=0,017$ , respectiv  $p=0,007$ ). La bolnavii care prestează munca fizică numărul de infecții cu sursa necunoscută a fost semnificativ mai mare decât la cei care prestează munca intelectuală. Cazurile de infecție de cauză profesională au apărut mai puțin frecvent în situațiile de profesii bazate pe munca fizică, acestea fiind mai puțin expuse la contaminare cu VHC.

### **3. Steatoza hepatică**

Steatoza a fost prezentă la 42 dintre cei 184 din subiecții luați în studiu (22,82%), la limita inferioară a datelor furnizate de literatură.

Se observă ca nu există o corelație semnificativă între grupele de vârstă și prezența steatozei, deși datele din literatură arată corelații semnificative cu vârstele mai înaintate, privind prezența steatozei hepatice și, de aici, răspunsul la tratamentul antiviral.

În lotul studiat s-a analizat influența genului subiecților asupra prezenței steatozei. S-a asociat semnificativ prezența steatozei hepatice și genul feminin la nivelul lotului global, cu valoare  $p=0,040$ .

Nu s-au înregistrat corelații semnificative între prezența steatozei și gradele de fibroză.

### **4. Prezența diabetului zaharat**

În lotul studiat diabetul zaharat a fost absent la 151 de subiecți (82,1%) și prezent la 33 de subiecți (17,9%), în proporție mult mai mică decât datele din literatură

Prezența diabetului zaharat și cea a fibrozei hepatice nu s-au asociat semnificativ în studiul nostru.

Nu s-au constatat corelații semnificative între prezența diabetului zaharat și repartiția pe genuri în lotul studiat, atât în lotul global cât și în loturile diferențiate în funcție de valoarea fibrozei: ( $<3$ ;  $\geq 3$ ),  $p=0,495$ ;  $0,634$ ; respectiv  $0,192$ .

### **Corelația diabet-steatoză**

În studiul nostru se poate observa existența unei corelații semnificative între prezența diabetului zaharat și a steatozei hepatice la nivelul lotului global ( $p=0,05$ ), fără ca aceasta să se mențină în analiza loturilor diferențiate prin absența sau prezența fibrozei hepatice  $\geq 3$  ( $p=0,087$  respectiv  $0,377$ )

### **5. Asocierea obezității**

S-a studiat, la nivelul lotului nostru, prezența obezității, corelația acesteia cu indicele de fibroză, activitatea necroinflamatorie, prezența steatozei, a diabetului zaharat și relația cu valorile testelor funcționale hepatice. Din cele două analize se observă lipsa unei concordanțe exacte a obezității cu gradul de fibroză determinat pe grila Ishak ( $p=0,407$ ) dar există o relație strânsă între absența sau prezența unui grad semnificativ de fibroză și absența sau prezența obezității ( $p=0,036$ ).

Spre deosebire de datele din literatură nu au existat, în studiul nostru corelații între prezența obezității și a steatozei hepatice, nici cu diabetul zaharat în lotul global. A fost constatată, însă, corelație strânsă între obezitate și steatoză în lotul fără fibroză semnificativă, în virtutea capacității de a condiționa steatoza, fără afectare fibrotică ( $p=0,040$ ). De asemenea în lotul fără steatoză prezența obezității influențează semnificativ apariția fibrozei ( $p=0,006$ ). Prezența obezității s-a asociat cu gradele de activitate necroinflamatorie ( $p=0,015$ ).

### **6. Activitatea necroinflamatorie în lotul global. (ANI)**

Deși activitatea necroinflamatorie nu a reprezentat subiectul principal al acestui studiu, este un element important în caracterizarea afectării hepatice și în aprecierea necesității tratamentului antiviral, existând diverse studii care să valideze modalități de apreciere noninvazivă a acesteia.

Cea mai mare parte a pacienților au prezentat o activitate necroinflamatorie moderată, în jurul valorii de 7 pe grila de scorificare ISHAK.

Nu s-au înregistrat corelații semnificative între valorile ANI și grupele de vârstă selectate, între valorile ANI și distribuția cazurilor pe genuri.

Valorile ANI și nivelul fibrozei hepatice se corelează semnificativ ( $p=0,007$ ). Acest rezultat era previzibil având în vedere evoluția paralelă a parametrilor de afectare hepatică. Corelația între distribuția ANI și a fibrozei hepatice se menține și în loturile cu fibroză  $<3$  sau  $\geq 3$ . ( $p=0,001$ ).

S-au înregistrat corelații semnificative între valorile ANI și prezența steatozei hepatice ( $p=0,025$ ).

### **7. Raportul între gradele de fibroză și valoarea constantelor biologice.**

Pentru fiecare din loturile studiate s-a făcut determinarea unor constante biologice necesare în calcularea valorii markerilor serologici aleși.

În lotul global s-au asociat semnificativ: variația numărului de trombocite (scăzut, normal) și indicele de fibroză apreciat de scorul ISHAK ( $p=0,031$ ), de asemenea valoarea numerică a trombocitelor cu indicele de fibroză ( $p=0,000$ )

În lotul bolnavilor fără diabet zaharat s-a constatat o corelație semnificativă între nivelul fibrozei și valorile nr. trombocite ( $p=0,002$ ). Această corelație nu s-a menținut în lotul subiecților cu diabet zaharat dar a reapărut în lotul subiecților fără steatoză ( $p=0,002$ ). Nu s-a asociat cu fibroza în lotul cu steatoză hepatică. De remarcat importanța determinării numărului de trombocite, de altfel o analiză uzuală efectuată la toți bolnavii, indiferent de afecțiune, în aprecierea inițială a posibilului grad de afectare hepatică.

Este bine cunoscută importanța valorii AST, a raportului acesteia față de valorile normale, în aprecierea evoluției bolii hepatice.

În aprecierea corelației dintre evoluția acestui parametru și fibroza hepatică s-au obținut următoarele rezultate: valoarea medie a AST în loturi s-a corelat semnificativ cu fibroza hepatică la nivelul lotului global ( $p=0,005$ ). S-au înregistrat corelații semnificative în lotul bolnavilor fără și cu diabet zaharat ( $p=0,000$ , respectiv  $0,038$ ), s-a obținut rezultat semnificativ în lotul cu steatoză hepatică absentă ( $p=0,012$ ).

S-a analizat importanța ALT în lotul global și în legătură cu prezența sau absența diabetului sau a steatozei hepatice.

În lotul global și în cele diferențiate de prezența diabetului zaharat valoarea ALT s-a asociat semnificativ cu prezența fibrozei hepatice ( $p=0,047$ ;  $0,004$ ; respectiv  $0,035$ ).

Nu s-au obținut date care să ateste corelația semnificativă între valoarea ALT în loturile diferențiate în funcție de prezența sau absența steatozei.

În studiul nostru nu s-a înregistrat o corelație semnificativă între valorile colesterolului seric nici în lotul global nici în loturile diferențiate de absența sau prezența diabetului zaharat, de absența sau prezența steatozei hepatice.

Valorile gammaglutamil transpeptidazei poate fi, după studii recente, un marker precoce al stressului oxidativ, posibil al stressului cardiovascular.

În studiul nostru s-au asociat semnificativ indicele de fibroză hepatică decelat bioptic și valoarea GGT, în lotul global ( $p=0,027$ ), în loturile cu diabet zaharat absent ( $p=0,000$ ) și cu steatoză hepatică absentă ( $p=0,000$ ).

### 8. Markeri neinvazivi ai fibrozei hepatice

S-au calculat valorile markerilor, în lotul general (1) și loturile cu ALT normal (3) și ALT crescut (lot 4), utilizând formulele originale publicate. S-au obținut următoarele rezultate:

#### Tabelul nr. I. Performanța markerilor noninvazivi pentru diagnosticarea fibrozei semnificative (ISHACK $\geq 3$ ), lot global

##### 184 pacienti /108 Fibroindex

Valoare Cut-off		APRI			FORNS		FIB-4		FIBROINDEX	
		0,5	1,5	2	4,2	6,9	1,45	3,25	1,25	2,25
Cazuri clasificate (%)		58% (n=107)			59 % (n=108)		70 % (n=128)		69 % (n=51)	
Cazuri neclasificate	total (%)	42% (n=77)			41% (n=76)		30% (n=56)		31% (n=57)	
	pozitivi (%)	68% (n=52)			61% (n=46)		63% (n=52)		70% (n=52)	
Sensibilitate		0,80	0,26	0,21	0,89	0,42	0,65	0,28	0,75	0,13
Specificitate		0,53	0,82	0,87	0,53	0,88	0,65	0,89	0,55	0,93
PPV		0,65	0,61	0,65	0,67	0,78	0,67	0,73	0,71	0,73
NPV		0,71	0,50	0,50	0,82	0,58	0,63	0,53	0,60	0,42
LR+		1,70	1,44	1,62	1,89	3,5	1,86	2,55	1,67	1,86
LR-		0,38	0,90	0,91	0,21	0,66	0,69	0,81	0,45	0,94
Acuratețe		0,67	0,53	0,53	0,72	0,64	0,65	0,57	0,67	0,45
AUROC (95% CI)		0,685 (0,607 ÷ 0,763)			0,765 (0,696 ÷ 0,834)		0,691 (0,614 ÷ 0,768)		0,655 (0,547 ÷ 0,763)	

Calcularea scorului **APRI** cu valori de cut-off de 0,5 și 1,5 a dus la clasificarea a 58 % dintre subiecți. Având în vedere că 42% dintre pacienți nu au putut fi clasificați și adăugând ratele de eroare atât în lotul cu APRI <0,5 cât și cel cu APRI >1,5, se poate constata ca biopsia hepatică ar putea fi evitată la 30 % dintre subiecți, valori mai reduse față de alte studii.

Prin calculul scorului **Forns** se apreciază că în acest fel ar fi putut fi evitate 37% dintre biopsiile hepatice.

În analiza celor 4 markeri s-a observat că scorul Forns a fost cel care a dat valoarea cea mai mare a NPV pentru absența fibrozei semnificative, a PPV pentru prezența fibrozei semnificative și cea mai mare valoare a AUROC (0,765), urmat de FIB-4 (0,691).

În literatura de specialitate se consideră că există diferențe între semnificația valorilor markerilor serologici în funcție de valoarea alaninaminotransferazei (ALT), deși valorile transaminazelor s-a considerat că nu se corelează cu amploarea modificărilor histologice.

Am făcut o analiză separată a lotului luat în studiu în funcție de aceasta.

Lotul a fost compus din 142 de subiecți cu ALT crescut și 42 de subiecți cu ALT normal. S-a analizat corelația cu datele demografice, constantele biologice, datele histologice.

S-au obținut următoarele rezultate:

**Tabelul nr. II : Corelații date demografice, histologice în lotul cu ALT crescut și normal**

		ALT crescut (142)	ALT normal (42)	p
Masculin (%)		50 (35,2)	13 (31,0)	0,607
Urban (%)		108 (76,1)	31 (73,8)	0,767
Sursa infecției (%)	N	75 (52,8)	23 (54,8)	0,135
	P	11 (7,7)	8 (19,0)	
	S	26 (18,3)	4 (9,5)	
	T	30 (21,1)	7 (16,7)	
ACTIVITATE FIZICA (F) (%)		107 (75,4)	32 (76,2)	0,911
Vârsta (medie ± dev.standard)		49.50±10.12	44.90±9.68	<b>0,009**</b>
Trombocite scăzute (%)		34 (23,9)	3 (7,1)	<b>0,009</b>
TROMBOCITE (medie ± dev.standard)		196112.68±60961.46	226690.48±66761.13	<b>0,010*</b>
TRx10 9/l (medie ± dev.standard)		196.11±60.96	226.69±66.76	<b>0,010*</b>
AST (medie ± dev.standard)		77.11±47.31	26.14±12.73	<b>0,000**</b>
AST/LSN (medie ± dev.standard)		2.1538±1.3778	.7338±.3470	<b>0,000**</b>
GAMAGLOB (medie ± dev.standard)		1.50±.43	1.21±.20	<b>0,000**</b>

COLESTEROL (medie ± dev.standard)		176.39±39.76	180.64±37.47	0,527
GGT (medie ± dev.standard)		81.56±117.95	41.00±38.45	<b>0,001*</b>
SPLINA DIAM (medie ± dev.standard)		10.98±1.39	10.63±1.34	0,214
		ALT crescut (142)	ALT normal (42)	p
Fibroza ISHAK (%)	0	4 (2.8)	6 (14.3%)	<b>0,000**</b>
	1	1 (.7%)	4 (9.5%)	
	2	47 (33.1%)	26 (61.9%)	
	3	73 (51.4%)	6 (14.3%)	
	4	14 (9.9%)		
	5	3 (2.1%)		
ANI (medie ± dev.standard)		6.97±1.90	6.24±1.71	<b>0,020*</b>

**ALT= alaninaminotransferaza, AST= aspartataminotrasferaza, GGT= gamaglutamiltransferaza.**

Se observă că există corelație semnificativă statistic între mai multe caracteristici ale celor două loturi: vârsta medie a subiecților ( $p=0,009$ ), cu număr semnificativ mai mare al subiecților cu vârstă mai mare în lotul cu ALT crescut (posibil boală mai severă odată cu înaintarea în vârstă); valoarea numărului de trombocite ( $p=0,010$ ), cu proporția de subiecți cu număr scăzut de trombocite ( $p=0,010$ ), cu tendința la scădere odată cu avansarea bolii; sau cu valoarea numerică a AST ( $p=0,000$ ), ce evoluează concordant cu valoarea ALT, cu tendință de depășire a valorii ALT când boala evoluează spre ciroză hepatică. Nivelul gammaglobulinelor a fost semnificativ mai crescut în lotul cu ALT crescut ( $p=0,000$ ), de asemenea nivelul GGT a fost semnificativ crescut în lotul cu ALT crescut ( $p=0,001$ ).

Există, de asemenea, o corelație semnificativă statistic între valorile fibrozei hepatice și repartitia în funcție de valoarea ALT. Cu cât fibroza este mai crescută, cu atât numărul de subiecți cu ALT crescut este mai mare. ( $p=0,00$ )

S-a constatat o corelație semnificativă între valoarea activității necroinflamatorii (ANI) și nivelul ALT.

Nu au fost decelate corelații semnificative între cele două loturi privind repartitia pe genuri, tip de activitate, mediu de proveniență, sursă de infecție.

Pentru fiecare din loturile obținute s-au determinat valorile markerilor analizați și în lotul global: APRI, Forns, FIB-4, Fibroindex. Rezultatele sunt următoarele:

**Tabelul nr III: Performanța markerilor noninvazivi pentru diagnosticarea fibrozei (ISHACK > 3) în grupul pacienților cu ALT crescut**

Valoare Cut-off		APRI			FORNS		FIB4		FIBROINDEX	
		0,5	1,5	2	4,2	6,9	1,45	3,25	1,25	2,25
Cazuri clasificate (%)		51,4 (n=73)			55,6 (n=79)		65,5(n=93)		42,7 (n=38)	
Cauri neclasificate	total (%)	48,6 (n=69)			44,4 (n=63)		34,5 (n=49)		57,3 (n=51)	
	pozitivi (%)	72,5 (n=50)			66,7 (n=42)		67,3 (n=33)		74,5 (n=38)	
Sensibilitate		0,83	0,28	0,22	0,89	0,42	0,65	0,28	0,74	0,13
Specificitate		0,35	0,71	0,80	0,40	0,80	0,50	0,80	0,40	0,89
PPV		0,69	0,62	0,67	0,72	0,79	0,69	0,72	0,74	0,73
NPV		0,55	0,36	0,37	0,68	0,45	0,45	0,40	0,41	0,31
LR+		1,27	0,97	1,16	1,49	2,20	1,31	1,51	1,25	1,16
LR-		0,48	1,01	0,96	0,27	0,72	0,69	0,88	0,63	0,98
Acuratețe		0,65	0,44	0,44	0,71	0,56	0,60	0,48	0,64	0,36
AUROC (95% CI)		0,566 (0,465 ÷ 0,667)			0,705 (0,615÷0,795)		0,596 (0,497÷0,695)		0,544 (0,410÷0,678)	

**Tabel nr. IV: Performanța markerilor noninvazivi pentru diagnosticarea fibrozei (ISHACK > 3) în grupul pacienților cu ALT normal**

Valoare Cut-off		APRI			FORNS		FIB4		FIBROINDEX	
		0,5	1,5	2	4,2	6,9	1,45	3,25	1,25	2,25
Cazuri clasificate (%)		80,1 (n=34)			69,1 (n=29)		83,3 (n=35)		68,4 (n=13)	
Cazuri neclasificate	total (%)	19,9 (n=8)			30,9 (n=13)		16,7 (n=7)		31,6 (n=6)	
	pozitivi (%)	25,0 (n= 2)			30,8 (n=4)		28,6 (n=2)		33,3 (n=2)	
Sensibilitate		0,33	0,00	0,00	1	0,33	0,50	-	1	0,0
Specificitate		0,81	0,97	0,97	0,72	0,97	0,86	-	0,76	1
PPV		0,22	0,00	0,00	0,38	0,67	0,38	-	0,33	0,0
NPV		0,88	0,83	0,83	1	0,90	0,91	-	1	1
LR+		1,72	0,00	0,00	3,59	11,89	0,58	-	4,25	0,00
LR-		0,83	0,01	0,01	0,00	0,69	3,59	-	0,00	∞
Acuratețe		0,74	0,83	0,83	0,76	0,88	0,81	-	0,79	0,89
AUROC (95% CI)		0,738 (0,549 ÷ 0,928)			0,903 (0,801÷1,004)		0,745 (0,553÷0,938)		0,853 (0,685÷1,021)	

După cum se poate observa din tabelele nr.III și IV, performanțele obținute de determinarea markerilor serologici ai fibrozei hepatice în lotul cu ALT crescut sunt mai puțin încurajatoare decât în cazul lotului global. Valorile obținute de studiul nostru au fost, pentru toți markerii, semnificativ mai mici față de rezultatele altor studii.

### **Analiza comparativă a rezultatelor lotului 2. Determinare suplimentară Fibrotest**

În cadrul lotului general de 184 de pacienți (**LOTUL 1**) s-a selectat un sublot de 30 de subiecți (**LOTUL 2**), la care, pe lângă valorile celor 4 markeri serologici analizați anterior, s-a determinat și valoarea FIBROTEST.

Corelația între valorile Fibrotestului și fibroza estimată este următoarea (tabelul nr. V):

**Tabel nr.V. Performanța markerilor noninvazivi pentru diagnosticarea fibrozei semnificative (METAVIR  $\geq$  F2) în grupul pacienților din lotul 2**

		APRI			FORNS		FIB4		FIBRO-INDEX		FIBRO-TEST
Valoare Cut-off		0,5	1,5	2	4,2	6,9	1,45	3,25	1,25	2,25	0,32
Cazuri clasificate (%)		40 (n=12)			70 (n=21)		70 (n=21)		39 (n=11)		100%
Cazuri neclasificate	Total (%)	60 (n=18)			30 (n=9)		30 (n=9)		61 (n=17)		0%
	pozitivi (%)	83 (n=15)			100 (n=9)		89 (n=8)		100 (n=17)		-
Sensibilitate		0,69	0,12	0,08	0,65	0,31	0,42	0,12	0,72	0,04	0,77
Specificitate		0,25	1,00	1,00	1,00	1,00	0,75	1,00	1,00	1,00	0,75
PPV		0,86	1,00	1,00	1,00	1,00	0,92	1,00	1,00	1,00	0,95
NPV		0,11	0,15	0,14	0,31	0,18	0,17	0,15	0,30	0,11	0,33
LR+		0,92	$\infty$	$\infty$	$\infty$	$\infty$	1,68	$\infty$	$\infty$	$\infty$	3,08
LR-		1,24	0,88	0,92	0,35	0,69	0,77	0,88	0,28	0,96	0,31
Acuratețe		0,63	0,23	0,20	0,70	0,70	0,47	0,23	0,75	0,14	0,77
AUROC (95% CI)		0,563 (0,25 ÷ 0,88)			0,962 (0,89 ÷ 1,03)		0,798 (0,51 ÷ 1,09)		0,833 (0,68 ÷ 0,98)		0,659 (0,41 ÷ 0,91)

După cum se poate observa din tabelul nr.L, avantajul determinării Fibrotest este că toți pacienții pot fi clasificați.

Scorul APRI lasă neclasificați 60 % dintre cazuri, scorurile Forns și Fib-4: 30% dintre cazuri, iar Fibroindex 61 % din subiecți.

Valorile predictive negative pentru absența fibrozei au fost mici pentru toți cei patru markeri, în schimb s-au obținut valori predictive pozitive foarte bune pentru prezența fibrozei, respectiv 1 pentru toți cei patru markeri.



La fel ca și în cazul lotului 1 valoarea cea mai bună a AUROC s-a obținut în cazul indicelui Forns (0,962), urmat de Fibroindex (0,833) și Fib -4 (0,798).

AUROC pentru APRI și Fibrotest nu a avut valori încurajatoare privind semnificația rezultatelor și posibilitatea ca acestea să înlocuiască biopsia hepatică. În literatură, în studiul original WAI pentru indexul APRI s-a obținut AUROC pentru detecția fibrozei semnificative de 0,88, o valoare mult mai bună față de studiul nostru (0,563).

Studiul original Forns (2002) a obținut AUROC pentru detecția fibrozei semnificative de 0,94, valoarea studiului nostru fiind apropiată.

Neașteptate au fost rezultatele obținute de determinarea Fibrotest, rezultatele fiind mult mai puțin încurajatoare decât în multe studii internaționale:

Având în vedere rezultatele obținute la nivelul lotului global privind semnificația markerilor serologici ai fibrozei hepatice și privind influența obezității și steatozei hepatice asupra fibrozei, s-a încercat evaluarea acurateții unui nou marker rezultat din combinația markerilor celor mai performanți, la care s-au adăugat date legate de obezitate și steatoza hepatică. La fiecare s-a calculat IMC iar steatoza hepatică a fost evidențiată ultrasonografic. S-au utilizat indexul Forns și elemente din ceilalți markeri, în proporții diferite.

Formula utilizată a fost:

$$\text{Forns} \times \sqrt{\text{ALT} + 0.005 \times \text{AST} + 0.463 \times \text{gamaglob} + 10 \times \text{obezit.} + 5 \times \text{steat.}}$$

Acest marker a fost calculat la lotul de subiecți la care au fost disponibile valorile gamma globulinelor (108 subiecți), **LOTUL 5**.

S-a făcut analiza statistică a rezultatelor markerilor consacrați aplicați acestui lot, comparative cu analiza statistică pentru noul marker.

Valorile de cut-off utilizate în calculul marker-ului nou au fost de 34 și 41,5.

Rezultatele obținute sunt evidențiate comparativ în tabelele LIV și LV. Valoarea AUROC este exprimată grafic în figurile nr. 101, 102.

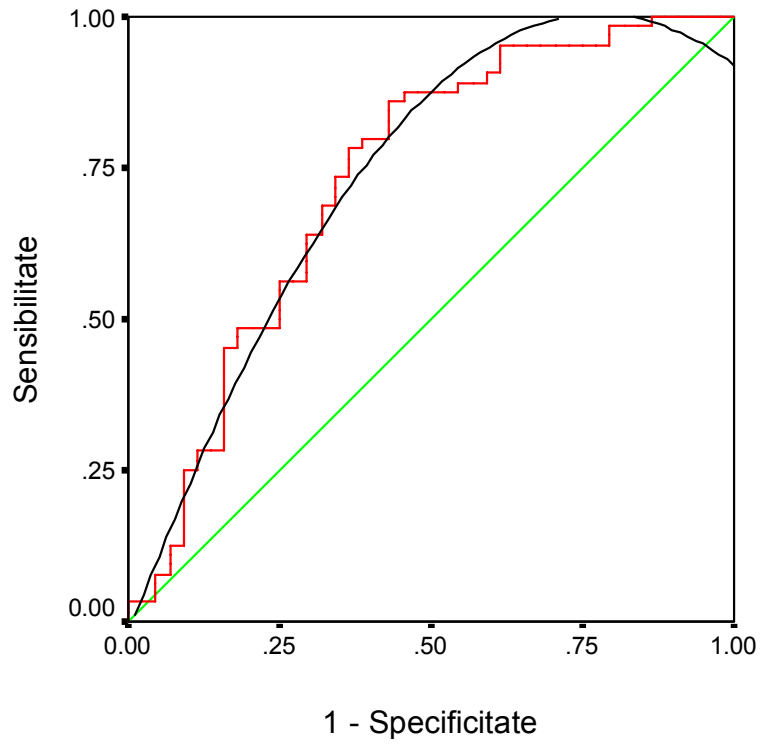
**Tabelul nr. LIV: Performanța markerilor noninvazivi pentru diagnosticarea fibrozei semnificative (METAVIR ≥ F2) în grupul pacienților din lotul 5**

Valoare Cut-off		APRI			FORNS		FIB4		FIBROINDEX	
		0,5	1,5	2	4,2	6,9	1,45	3,25	1,25	2,25
Cazuri clasificate (%)		54,6 (n=59)			63,0 (n=68)		63,9 (n=69)		47,2 (n=51)	
Cazuri neclasificate	total (%)	45,4 (n=49)			37,0 (n=40)		36,1 (n=39)		52,8 (n=57)	
	pozitivi (%)	71,4 (n=35)			70,0 (n=28)		64,1 (n=25)		70,2 (n=40)	
Sensibilitate (%)		0,78	0,23	0,17	0,86	0,42	0,63	0,23	0,75	0,13
Specificitate (%)		0,48	0,79	0,86	0,55	0,82	0,57	0,89	0,55	0,93
PPV (%)		0,68	0,62	0,65	0,73	0,77	0,68	0,75	0,71	0,73
NPV (%)		0,60	0,42	0,42	0,73	0,49	0,51	0,44	0,60	0,42
LR+		1,50	1,10	1,21	1,91	2,33	1,47	2,09	1,67	1,86
LR-		0,46	0,97	0,97	0,17	0,71	0,65	7,00	0,45	0,94
Acuratețe		0,66	0,46	0,45	0,73	0,58	0,60	0,50	0,67	0,45
AUROC (95% CI)		0,622 0,508 ÷ 0,736			0,728 0,629 ÷ 0,827		0,645 0,535 ÷ 0,754		0,655 0,547 ÷ 0,763	

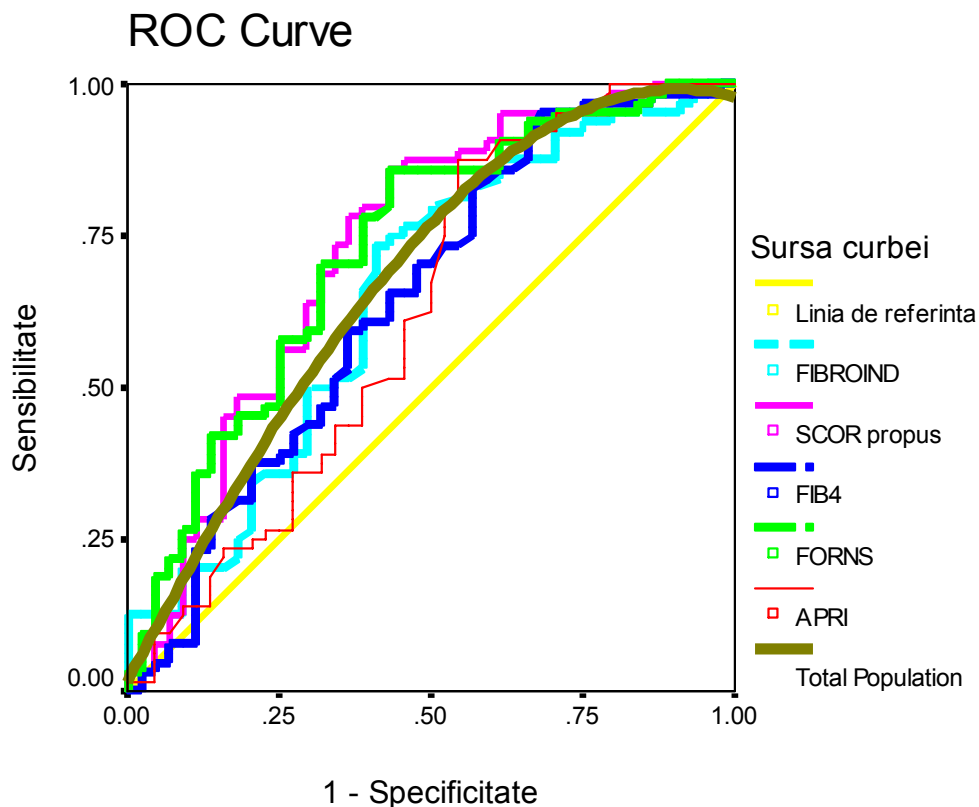
**Tabel nr. LV: Performanța markerului nou pentru diagnosticarea fibrozei semnificative (METAVIR ≥ F2) în grupul pacienților din lotul 5**

Valoare Cut-off		SCOR N	
		34	41.5
Cazuri clasificate (%)		91.67 % (n=99)	
Cazuri neclasificate	total (%)	8.33% (n=9)	
	pozitivi (%)	67% (n=6)	
Sensibilitate		0.938	0.844
Specificitate		0.50	0.568
PPV		0.732	0.74
NPV		0.846	0.714
LR+		1.876	1.954
LR-		0.124	0.275
Acuratețe		0.759	0.731
AUROC (95% CI)		0,744 (0,646 ÷ 0,843)	

### Curba ROC - scor nou



**Fig. nr 101**



**Fig. nr. 102**

## CONCLUZII

1. A fost luat în studiu un lot reprezentativ pentru hepatita cronică virală C. Numărul de subiecți a fost dependent de consimțământul dat de aceștia pentru efectuarea unei puncții biopsii hepatice. Lotul a fost compus din subiecți cu fibroză semnificativă (valori pe scala ISAHK  $\geq 3$ ) (52,17%), și subiecți fără fibroză semnificativă (47,83%).

2. Repartiția lotului în funcție de gen a fost cu predominanță semnificativă a genului feminin, mai probabil legat de adresabilitatea mai mare la serviciile medicale, de posibila expunere mai crescută la infecție legată de manoperele obstetricale, de frecvența mai crescută a femeilor în cadrul personalului medical.

3. Media de vârstă a subiecților a fost în concordanță cu datele din literatură, legat de momentul infectant. Media de vârstă a lotului de gen masculin a fost semnificativ mai redusă față de cea a lotului de gen feminin, posibil datorită evoluției mai severe a bolii la

genul masculin. Vârstele medii ale subiecților cu fibroză <3 sunt mai mici decât ale celor cu fibroză  $\geq 3$ , având în vedere necesitatea unei perioade de timp mai mari pentru producerea unor leziuni hepatice semnificative.

4. Subiecții luați în studiu au provenit în cea mai mare parte din mediu urban, probabil datorită adresabilității mai crescute a acestora la cabinetele medicale, inclusiv cele stomatologice, posibilităților de informare privind boala și riscurile acesteia.

5. Sursa infecției virale a putut fi precizată cu aproximație, la subiecții cunoscuți cu transfuzii în antecedente, tratamente stomatologice repetate, antecedente traumatice, expunere profesională.

6. Nu s-au înregistrat corelații semnificative între vârstele subiecților supuși diferitelor modalități de infecție.

7. S-a observat o corelație semnificativă între tipul de activitate și modalitățile de infecție atât în lotul global cât și la fracțiunea celor cu grad semnificativ de fibroză ( $\geq 3$ ). La bolnavii care prestează muncă fizică numărul de infecții cu sursa necunoscută a fost semnificativ mai mare decât la cei care prestează munca intelectuală. Cazurile de infecție de cauză profesională au apărut mai puțin frecvent în situațiile de profesii bazate pe munca fizică, acestea fiind mai puțin expuse la contaminare cu VHC.

8. Steatoza hepatică a fost confirmată biptic la 22,8% dintre subiecți. Aceasta nu s-a corelat semnificativ cu gradul fibrozei. Genul feminin s-a asociat preponderent cu prezența steatozei la nivelul lotului global.

9. Diabetul zaharat a fost diagnosticat 17,9% din subiecții luați în studiu. Prezența acestuia nu s-a asociat cu gradele de fibroză hepatică. A fost constatată o corelație semnificativă statistic între prezența diabetului zaharat și a steatozei hepatice, la nivelul lotului global, fără menținerea acesteia în loturile cu fibroză <3 și  $\geq 3$ .

10. Obezitatea are rol important în determinismul afectării hepatice. Există o corelație srânsă între absența sau prezența unui grad semnificativ de fibroză și absența sau prezența supraponderii și obezității.

11. Concomitent cu gradul fibrozei hepatice s-a analizat gradul activității necroinflamatorii. Nu s-au înregistrat corelații semnificative între scorul de necroinflamație (ANI) și grupele de vârstă ale subiecților sau repartiția lor pe genuri.

12. Așa cum era de așteptat, gradul de fibroză înregistrat și gradul de activitate necroinflamatorie s-au asociat semnificativ statistic.

13. Nivelul ANI și prezența steatozei hepatice s-au corelat semnificativ.

14. S-a urmărit semnificația statistică a unor probe de laborator în precizarea gradului de fibroză hepatică. În lotul global valoarea numărului de trombocite, variațiile acestuia și indicele de fibroză apreciat de scorul ISHAK au prezentat corelație semnificativă. De aici importanța unui marker biologic banal în aprecierea evoluției unei afecțiuni de gravitate considerabilă. La bolnavii fără diabet zaharat s-a constatat o corelație semnificativă între nivelul fibrozei și valorile nr. trombocite, AST, ALT, GGT. ( $p=0,002$ ;  $0,000$ ,  $0,004$ , respectiv  $0,000$ ). S-au corelat semnificativ indicele de fibroză hepatică decelat bioptic și valoarea GGT, în loturile global, cu diabet zaharat absent ( $p=0,000$ ) și cu steatoză hepatică absentă ( $p=0,000$ ). De aici, concluzia că modificarea unor probe biochimice uzuale ar putea să reprezinte un semnal de alarmă în stadializarea unor subiecți cu hepatită cronică virală C.

15. Pentru subiecții luați în studiu au fost calculați mai mulți markeri neinvazivi: APRI, Forns, Fib-4, Fibroindex, Fibrotest. Față de biopsia hepatică, ce stadializează fiecare subiect în parte, markerii neinvazivi, exceptând Fibrotest nu pot clasifica toate cazurile. Astfel: în lotul global, APRI a clasificat 80,1% din cazuri, Forns 69,1%, Fib-4 83,3%, Fibroindex 68,4% din cazuri. În lotul 2, (lot de 30 de subiecți la care s-a determinat și Fibrotest), APRI a clasificat 58% din cazuri, Forns 59%, Fib-4 70%, Fibroindex 69% din cazuri. Fibrotest are calitatea clasificării tuturor subiecților.

16. Indicii APRI, Forns, Fib-4, Fibroindex au calitatea prețului de cost relativ redus, utilizând asocieri de constante biologice ce se efectuează de rutină în evaluarea unei hepatite cronice.

17. Rezultatele obținute au fost mai puțin optimiste decât în studiile originale, excepție făcând indicele Forns, pentru care s-a obținut AUROC de 0,765.

18. Spre deosebire de alte studii internaționale analiza datelor furnizate de markerii serologici au arătat rezultate mai optimiste în evidențierea fibrozei hepatice în lotul subiecților cu ALT crescut față de ALT normal.

19. Între evaluarea fibrozei făcută de Fibroindex/ APRI, Fib-4/ APRI, s-au constatat corelații semnificative statistic.

20. Unele rezultate obținute au fost utilizate pentru obținerea unui marker combinat, cu o semnificație statistică mai bună. Astfel, prin combinarea indicelui Forns cu nivelul ALT și menționarea în formulă a obezității și steatozei hepatice s-a obținut un marker cu AUROC 0,744 în determinarea fibrozei hepatice.

21. Markerii serologici ai fibrozei hepatice, prin coroborarea datelor, pot reprezenta o alternativă la biopsia hepatică, în special în situațiile în care are contraindicații sau este refuzată de pacient.

#### CE ADUCE NOU ACEST STUDIU

- Este primul studiu de acest gen în zona noastră.
- S-au obținut date interesante privind corelațiile dintre variații factori demografici și fibroza hepatică.
- S-a demonstrat importanța obezității și influența exercitată asupra afecțiunii hepatice.
- S-a evidențiat semnificația valorilor unor constante de laborator în aprecierea fibrozei.
- S-au obținut rezultate contradictorii cu alte studii privind acuratețea markerilor serologici în loturile cu ALT crescut și normal.
- S-a precizat formula unui nou marker serologic ce poate ameliora interpretarea datelor.

