



ARTICOL DE CERCETARE

## Eficacitatea preparatelor antivirale cu acțiune directă în tratamentul pacienților cu hepatită virală C cronică: studiu prospectiv, randomizat

Irina Rusu\*<sup>1</sup>, Tiberiu Holban<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Catedra de boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.*

Data primirii manuscrisului: 04.07.2018

Data acceptării spre publicare: 08.11.2018

**Autor corespondent:**

Irina Rusu, asistent universitar

*Catedra de boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală  
Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemițanu  
bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004  
e-mail: irina.rusu@usmf.md*

RESEARCH ARTICLE

## Efficacy of direct acting antiviral drugs in chronic hepatitis C treatment: prospective, randomized study

Irina Rusu<sup>1\*</sup>, Tiberiu Holban<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Chair of infectious, tropical diseases and medical parasitology, Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.*

Manuscript received on: 04.07.2018

Accepted for publication: 08.11.2018

**Corresponding author:**

Irina Rusu, university assistant

*Chair of infectious, tropical diseases and medical parasitology  
Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy  
165, Ștefan cel Mare si Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004  
e-mail: irina.rusu@usmf.md*

**Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat**

Cu toate că se cunosc caracteristicile principale ale virusului hepatitei C, legitățile procesului epidemic al infecției, există teste specifice pentru diagnosticul ei, însă, rămâne o infecție nedirijabilă.

**Ipoteza de cercetare**

Utilizarea în combinație a preparatelor antivirale cu acțiune directă pentru tratamentul pacienților cu hepatită virală C cronică asigură un răspuns virusologic susținut superior tuturor celorlalte tratamente, utilizate anterior.

**Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu**

Combinarea preparatelor antivirale cu acțiune directă din diferite grupuri în tratamentul HVC cronice manifestă efecte sinergice și demonstrează un răspuns virusologic susținut în 90-95% de cazuri, atât la pacienții naivi, cât și la cei care au urmat, anterior, fără succes, terapia cu interferoni și ribavirină.

**What is not known yet, about the topic**

Even though main characteristics and laws of the epidemic process of hepatitis C virus are well-known and specific diagnostic tests exist, it still remains an un-controllable infection.

**Research hypothesis**

Using a combination of direct acting antiviral drugs for treatment of patients with chronic hepatitis C offers a sustained virologic result, superior to all previously used treatments.

**Article's added novelty on this scientific topic**

Combination of direct acting antiviral drugs from different classes in treatment of patients with chronic hepatitis C virus (HCV) shows synergic effects and a sustained virologic response in 90-95%, both in naïve patients and also in patients that had followed previous treatment with interferon and ribavirine.

**Rezumat**

**Introducere.** Infecția cu virus hepatic C este o maladie cu răspândire mondială. Numărul persoanelor nou-infectate este de 1,75 milioane/an. Riscul de cronicizare cu VHC este foarte înalt, 75% dintre pacienți rămân ARN-VHC pozitivi după hepatita acută C, cu posibilitatea de evoluție în ciroză hepatică și hepatocarcinom. Tratamentul cu preparate antivirale cu ac-

**Abstract**

**Introduction.** Hepatitis C infection is a world wide spread infection. Each year, there are 1.75 million people infected. Risk of chronicization of HCV is very high, 75% of patients remain HCV-RNA positive after acute hepatitis C, with possible evolution of liver cirrhosis and liver carcinoma. Treatment with direct acting antivirals contributes to sustained virologic

țiune directă contribuie la obținerea răspunsului virusologic susținut (RVS) în 90-95% de cazuri, ARN VHC fiind negativ 4-5 ani după finalizarea tratamentului, cu absența semnelor de hepatită.

**Material și metode.** Studiul a fost realizat pe un lot de 130 de pacienți cu hepatită virală C cronică. Subiecții au fost repartizați în două grupe a câte 65 de pacienți. Pacienții din I lot au urmat tratament antiviral cu Sofosbuvir 400 mg + Ledipasvir 80 mg, cei din lotul II – Sofosbuvir 400 mg + Daclatasvir 60 mg peroral, 1 dată pe zi, timp de 12 săptămâni. A fost evaluat nivelul viremiei ARN VHC, genotipul virusului C, gradul de fibroză hepatică prin Fibroscan, USG organelor abdomenului, indicatorii biochimici relevanți și hemoleucograma la inițiere, la 1 lună de tratament, la finalizarea tratamentului și peste 6 luni de la finalizarea tratamentului antiviral.

**Rezultate.** Studiul nostru a demonstrat că schemele de tratament cu Sofosbuvir + Ledipasvir și Sofosbuvir + Daclatasvir timp de 12 săptămâni la pacienții cu HVC cronică au avut o eficacitate înaltă, înregistrând, la finele tratamentului, un răspuns virusologic la 88,5% din pacienți, iar la 24 de săptămâni de la finalizarea tratamentului, 90% dintre subiecți au înregistrat un răspuns virusologic susținut. Mai eficientă s-a dovedit a fi schema cu Sofosbuvir + Ledipasvir, cu RVS 95,4% versus 84,6%, la cei tratați cu Sofosbuvir + Daclatasvir. Tratamentul a fost eficient atât la pacienții naivi, cât și la cei care au urmat, anterior, tratamentul cu PEG/INF și RBV fără succes. Pe parcursul tratamentului antiviral, s-au înregistrat reacții adverse minore: prurit cutanat, astenie, cefalee, dereglarea somnului, grețuri, care nu au necesitat stoparea tratamentului.

**Concluzii.** Studiul nostru a demonstrat că tratamentul cu preparate antivirale cu acțiune directă timp de 12 săptămâni a atins un răspuns virusologic susținut înalt atât la pacienții cu HVC cronică naivi, cât și la cei pretratați cu PEG-INF și Ribavirină.

**Cuvinte cheie:** hepatită virală C cronică, tratament, sofosbuvir, ledipasvir, daclatasvir.

## Introducere

Hepatita virală C (HVC) este o maladie cu un impact semnificativ la nivel mondial. În conformitate cu Organizația Mondială a Sănătății, pe glob se estimează la 71 de milioane de oameni infectați cu virusul hepatitei C. Numărul persoanelor nou-infectate este de 1,75 milioane pe an [1, 2]. În țările din Europa de Vest, aproximativ 5 milioane de oameni sunt infectați cu VHC, 40% dintre ei fiind în stadiul de ciroză hepatică și 30% fiind candidați la transplant hepatic. În Republica Moldova, la sfârșitul anului 2016, au fost înregistrate 15.400 de persoane infectate cu VHC. Prevalența infecției cu VHC în populația generală a fost estimată la 4,5%, genotipul 1b – 98%. Riscul de cronicizare cu VHC este unul foarte înalt. Circa 75% dintre pacienți rămân ARN-VHC pozitivi după hepatita acută C [2, 3]. Majoritatea vor avea valori crescute ale enzimelor hepatice în continuare. Infecția cronică odată instalată, există o rată foarte scăzută a vindecării spontane [4].

response (SVR) in 90-95% of cases, HCV RNA being negative 4-5 years after the treatment, without any hepatitis signs.

**Material and methods.** The study included 130 patients with chronic hepatitis C. Subjects were divided into two groups, 65 patients each. Patients from the first study group received treatment with Sofosbuvir 400 mg + Ledipasvir 80 mg. Patients from study group II received Sofosbuvir 400 mg + Daclatasvir 60 mg PO, once a day for 12 weeks. The following tests were performed: levels of viremia, genotype of the virus, level of fibrosis (Fibroscan), abdominal ultrasound, relevant biochemical tests, general blood test (at the beginning, 1 month after the beginning of the treatment, and 6 months after the end of the treatment).

**Results.** Our study demonstrated that treatment with Sofosbuvir + Ledipasvir and Sofosbuvir + Daclatasvir for 12 weeks had high efficacy in patients with hepatitis C, with a virologic response in 85.5% of patients, and after 24 weeks after the end of the treatment, 90% of patients had a sustained virologic response. Sofosbuvir + Ledipasvir proved to be more efficacious, with a SVR of 95.4% vs. 84.6% in patients treated with Sofosbuvir + Daclatasvir. Treatment was efficacious in both naïve patients and patients which had been previously treated with PEG/INF and RBV without any success. During the treatment, minor side effects were recorded: pruritus, asthenia, headache, sleep disturbance, nausea, which did not necessitate stopping the treatment.

**Conclusions.** Our study demonstrated that treatment with direct acting antiviral drugs for a period of 12 weeks offered a sustained virologic response both in patients naïve patients with chronic hepatitis C, and in patients previously treated with PEG/INF and Ribavirin.

**Key words:** chronic viral hepatitis C, treatment, sofosbuvir, ledipasvir, daclatasvir.

## Introduction

Viral hepatitis C (VHC) is a disease with a significant impact on the worldwide level. According to WHO, there are 71 million people infected with hepatitis C virus (HCV). Annually, 1.75 million people become infected [1, 2]. In countries from Western Europe, almost 5 million people are infected with HCV, 40% of them having cirrhosis and 30% being candidates for liver transplant. In the Republic of Moldova, by the end of 2016, 15.400 of patients were registered with HCV. Prevalence of VHC in general population is 4.5%, genotype 1b – 98%. Risk of chronicization is very high. Around 75% of patients remain chronically HCV-RNA positive after an acute hepatitis [2, 3]. The majority of them will have raised values of liver enzymes. There are little chances of spontaneous cure [4].

Most of the patients with chronic VHC have no symptoms, or have mild, non-specific symptoms as long as they are not cirrhotic [5, 6, 7]. As consequence, VHC is often accidentally di-

Majoritatea pacienților cu HVC cronică sunt asimptomatici sau au doar simptome ușoare, nespecifice, atât timp cât nu este prezentă ciroza [5, 6, 7]. În consecință, HVC este, adesea, diagnosticată accidental sau rămâne sub-diagnosticată. Se estimează că numai 30-50% din persoanele infectate cu VHC sunt conștiente de boala lor. Hepatita C netratată avansează într-o formă cronică de până la 80% din oameni, fapt ce conduce spre ciroză hepatică la 20-40% din cazuri, cu un risc sporit de decompensare hepatică, carcinom hepatocelular și deces [8].

După posibilitatea de identificare a VHC, ulterior, a devenit accesibilă și evaluarea succesului terapeutic, dozând cantitatea de ARN HCV și RVS. În timp, rata RVS a sporit de la 5-20% în monoterapia cu interferoni la 40-50% – în combinația de IFN + Ribavirină (RBV). Actualmente, rata RVS atinge 95-100% în cazul tratamentului cu preparate antivirale cu acțiune directă.

Oportunitatea administrării preparatelor antivirale cu acțiune directă – inhibitori de NS3/4A proteaze, NS5B polimeraze și NS5A complex de replicare pentru VHC – este un avantaj substanțial în tratamentul HVC cronice. Aceste remedii oferă posibilitatea administrării perorale, duratei scurte de tratament, unui RVS înalt și au reacții adverse minime. Combinarea preparatelor antivirale cu acțiune directă din diferite grupe manifestă un efect sinergic.

Scopul tratamentului antiviral este eliminarea definitivă a virusului și negativarea ARN-VHC la un interval de 6 luni după finalizarea tratamentului, prin obținerea răspunsului virologic susținut (RVS). Evidențele confirmă că peste 99% din pacienții care au avut RVS, rămân ARN VHC negativi 4-5 ani după finalizarea tratamentului, fără semne de hepatită. Beneficiul pe termen lung a răspunsului virologic susținut constă în reducerea cu 75% în următorii 15 ani a cazurilor de carcinom hepatocelular, de ciroză decompensată și compensată și de deces [4]. Recent, a fost demonstrat că pacienții cu RVS au calitatea vieții similară cu populația generală [5], iar la cei cu ciroză subcompensată și decompensată, RVS reduce necesitatea în transplant hepatic [7, 8].

### Material și metode

Studiul a fost realizat în Spitalului Clinic de Boli Infecțioase „Toma Ciorbă” pe parcursul anilor 2017-2018. Au fost înrolați 130 de pacienți adulți, cu hepatită virală C cronică, care au inițiat tratamentul cu preparate antivirale cu acțiune directă la bază. De la toți pacienții a fost primit consimțământul informat în formă scrisă. Protocolul studiului a fost avizat pozitiv de către Comitetul de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (procesul verbal nr. 75 din 26.04.2017).

Criteriile de includere în studiu au fost: pacienți cu vârsta  $\geq 18$  ani, cu HVC cronică confirmată prin anti HCV sum, anti HCV IgM, ARN-VHC  $>25$  UI/ml, cu gradul de fibroză F0-F3 toate genotipurile, pacienți naivi sau tratați anterior cu preparate antivirale cu eșec terapeutic.

Criterii de excludere au fost: sarcina și perioada de alăptare, coinfectia cu HIV sau HVB și HVD, ciroza hepatică, gradul de fibroză F4, carcinomul hepatocelular și alte patologii maligne, utilizatorii de preparate imunosupresive.

agnosed, or remains sub-diagnosed. It is estimated that only 30-50% of patients are aware of their disease. Untreated hepatitis C evolves into its chronic form in 80% of cases, 20-40% become cirrhotic, with high risk of liver failure, hepatocellular carcinoma and death [8].

After it has become possible to identify HCV, it became possible to evaluate the therapeutic success by measuring the level of HCV-RNA and SVR. Rate of SVR increased from 5% to 20% in monotherapy with interferon, and to 40-50% in combination IFN + RBV (ribavirine). Nowadays, rate of SVR reaches 90-100% with direct acting antiviral drugs.

The opportunity of administration of direct acting antiviral drugs: NS3/4A protease inhibitors, NS5B polymerase and replication complex NS5A – is a substantial advantage in chronic HCV treatment. These drugs offer the possibility of PO administration, short duration of treatment, a high SVR with minimal side effects. Combination of direct acting antiviral drugs from different groups show a synergic effect.

The aim of the antiviral treatment is definitive elimination of the virus and negative RNA-HCV at 6 months interval after the end of the treatment by obtaining a SVR. Evidence confirm that over 99% of patients with SVR, remain RNA-HCV negative for 4-5 years, with no signs of hepatitis. The long term benefic of the treatment consists in the reduction by 75% of hepatocellular carcinoma, compensated and decompensated liver cirrhosis and death in the following 15 years [4]. Recently it has been demonstrated that patients with CVR have similar quality of life compared with general population [5], and SVR reduces the need of liver transplant in patients with compensated and decompensated liver cirrhosis [7, 8].

### Material and methods

The study was conducted in the Clinical Hospital of Infectious Diseases “Toma Ciorba” during 2017-2018. A number of 130 patients with chronic hepatitis C were enrolled, and started basic treatment with direct acting antiviral drugs. All patients signed the informed consent. The study protocol was approved by the Ethics Research Committee of SUMPh *Nicolae Testemitanu* (verbal process no. 75 dated 26.04.2017).

Inclusion criteria were: patients older than 18 y.o., with chronic hepatitis C confirmed by anti-HCV, anti-HCV IgM, ARN-HCV  $>25$  UI/ml, with F0-F3 fibrosis stage, all genotypes, naïve patients or patients previously treated with antiviral drugs with no therapeutic effect.

Exclusion criteria were: pregnancy and breastfeeding, coinfection with HIV or HBV and HDV, liver cirrhosis, F4 fibrosis stage, hepatocellular carcinoma and other malignant diseases, patients receiving immunosuppressive therapy.

All subjects were randomly distributed into 2 groups, 65 patients each. The study groups were homogenous from the age and sex point of view.

Fibrosis stage was established through Fibro Scan, Fibro Test or Fibro Max. Patients with F0, F1, F2, F3 fibrosis stages were selected.

Diagnosis of chronic hepatitis C was initially established

Toți subiecții au fost distribuiți, în mod aleatoriu, în două grupuri a câte 65 de pacienți. Loturile de studiu au fost omogene din punct de vedere al vârstei și sexului.

Gradul de fibroză hepatică a fost examinat prin Fibro Scan, Fibro Test sau Fibro Max. Au fost selectați pacienții cu fibroză F0, F1, F2 și F3.

Diagnosticul de HVC cronică la pacienții studiați a fost stabilit, inițial, prin depistarea Anti HCV prin reacția imunoenzimatică și confirmat prin depistarea ARN VHC. Nivelurile serice ale ARN VHC au fost determinate prin reacția de polimerizare în lanț (PCR) în regim de timp real, cu limita inferioară de detecție <25 IU/ml.

Determinarea genotipului VHC (1a, 1b, 2, 3 și 4) s-a efectuat, obligatoriu, înainte de inițierea tratamentului.

Toți pacienții au fost examinați prin metode anamnestice, epidemiologice, clinice, biochimice, serologice și teste de biologie moleculară. Aceste date au fost colectate la inițiere, la 4 săptămâni de tratament, la 12 săptămâni (finalizarea tratamentului) și la 24 de săptămâni după finalizarea tratamentului antiviral.

Lotul I de pacienți a urmat tratament antiviral cu Sofosbuvir 400 mg, combinat cu Ledipasvir 80 mg într-o pastilă (Twinvir, India). Al II-lea lot – Sofosbuvir 400 mg (Hopetavir, India) + Daclatasvir 60 mg (Daclavirdin, India), administrate peroral, o dată pe zi, timp de 12 săptămâni. Pe parcursul tratamentului cu preparate antivirale cu acțiune directă, au fost înregistrate reacții adverse minore, care nu au necesitat stoparea tratamentului.

Datele sunt prezentate sub formă de valori absolute și relative, medie ± deviere standard. Pentru prelucrare statistică a fost utilizat programul Excel. Teste statistice aplicate: t-Student și  $\chi^2$ .

## Rezultate

Din cei 130 pacienți cu HVC cronică, 62 (47,7%) au fost bărbați și 68 (52,3%) – femei. Vârsta pacienților incluși în studiu a variat de la 23 până la 79 de ani, media fiind 53,1±1,1 ani. Comorbiditățile pacienților înrolați sunt prezentate în Tabelul 1. Cea mai afectată vârstă a fost de la 40 până la 70 de ani, care a cuprins 105 (80,7%) pacienți. Durata infecției cu virus hepatic C din momentul depistării a variat de la 1 până la de 29 ani, în medie fiind de 11,8±0,6 ani. În 35 (26,9%) de cazuri, pacienții cu HCV cronică nu au prezentat acuze. Restul bolnavilor au avut un tablou clinic însoțit de astenie, greutate în hipocondrul drept sau manifestări extrahepatice (tiroidită autoimună, vasculită, polineuropatie, prurit cutanat).

La majoritatea pacienților, 107 (82,3%), a fost înregistrată, cel puțin, o maladie concomitentă. Mai frecvent, a fost diagnosticată hipertensiunea arterială – la 44 (33,8%), colecistita cronică – la 38 (29,2%), diabetul zaharat – la 36 (27,7%), pancreatita cronică – la 32 (24,6%). Gastroduodenopatie s-a diagnosticat la 26 (20,0%) de pacienți. Mai rar, au fost stabilite tiroidita autoimună, obezitatea, cardiopatia ischemică și tumori operate în anamneză. La un pacient s-a depistat hemangiom hepatic.

by means of anti-HCV (immune-enzymatic method) and confirmed by RNA-HVC. Seric levels of RNA-HVC were determined by PCR (polymerization chain reaction) in real time, with lower level of detection (cut-off) being <25 IU/ml.

Genotype determination of HCV (1a, 1b, 2, 3, 4) was mandatory before beginning of treatment.

All patients underwent history taking and epidemiological, clinical, biochemical, serological, molecular biochemistry testing. These data were collected at the beginning, at 4 weeks of treatment, at 12 weeks (at the end of treatment course) and at interval of 24 weeks after the antiviral treatment.

Group I of patients underwent treatment with Sofosbuvir 400 mg + Ledipasvir 80 mg in one single tablet (Twinvir, India). The second group underwent treatment with Sofosbuvir 400 mg (Hopetavir, India) + Daclatasvir 60 mg (Daclavirdin, India), PO administration, once daily, during 12 weeks. During treatment with direct acting antivirals, minor side effects were recorded, that did not require termination of treatment.

Data is presented by relative and absolute values, mean values and standard deviation. For statistical analysis – Excel program was used. Statistical tests applied: t-Student and  $\chi^2$

## Results

Out of 130 patients with chronic hepatitis C, 62 (47.7%) were males and 68 (52.3%) were females. Age varied between 23 and 79 years, mean age being 53.1±1.1 years. Comorbidities are presented in Table 1. Most affected age was 40-70 years, 105 patients being in that range of age (80.7%). Duration of infection from moment of discovery varied from 1 to 29 years, mean duration being 11.8±0.6 years. In 35 cases (26.9%), patients with chronic hepatitis C had no complaints. The rest of the patients accused fatigue, discomfort in right upper quadrant and extrahepatic manifestations (autoimmune thyroiditis, vasculitis, polyneuropathy, pruritus).

Most of the patients (107, 82.3%) had at least one comorbidity. Most frequent were: hypertension (44, 33.8%), chronic cholecystitis (38, 29.2%), diabetes mellitus (36, 27.7%), chronic pancreatitis (32, 24.6%). Gastroduodenitis was diagnosed in 26 (27.7%) patients. Less frequent were: autoimmune thyroiditis, obesity, ischemic cardiopathy and history of operated tumors. One patient was diagnosed with hepatic hemangioma.

Biochemical investigations held in patients with chronic hepatitis C at the beginning of treatment established that 28 (21.53%) patients did not have cytolytic activity; low activity was established in 51 (39.2%) patients, moderate activity – in 45 (34.5%) patients. Only 6 (4.6%) patients had high cytolytic activity (Table 2). Mean values of ALAT were 107.87±10.13 UI/ml (Table 3). In 39 (32.5%) patients a mild hyperbilirubinemia was established, ranging between 6.9 and 60.2 mmol/l, with a mean value of 16.57±0.81 mmol/l. Thymol probe was elevated (from 4.0 units to 10.4 units) in 71 (54.6%) patients. Elevated blood glucose was established in 42 (32.3%) patients, ranging from 5.8 to 15.9 mmol/l, out of them, 36 (27.7%) mentioned diabetes mellitus. Compari-



**Tabelul 1.** Comorbiditățile pacienților cu HVC cronică la inițierea tratamentului antiviral.  
**Table 1.** Comorbidities of patients with chronic hepatitis C at the beginning of antiviral treatment.

Comorbidități // Comorbidities	Lot Sofosbuvir + Ledipasvir (n=65)	Lot Sofosbuvir + Daclatasvir (n=65)
Fără comorbidități / no comorbidities	16 (24,6%)	7 (10,8%)*
Pancreatită cronică / chronic pancreatitis	14 (21,5%)	18 (27,7%)
Colecistită cronică / chronic cholecystitis	24 (36,9%)	14 (21,5%)
Diabet zaharat / diabetes mellitus	18 (27,7%)	18 (27,7%)
Boală hipertonică / hypertension	16 (24,6%)	28 (43,1%)*
Gastroduodenopatie / gastroduodenopathy	8 (12,3%)	18 (27,7%)*
Cardiopatie / cardiopathy	11 (16,9%)	4 (6,2%)
Tumori / tumors	6 (9,2%)	5 (7,7%)
Obezitate / obesity	6 (9,2%)	7 (10,8%)
Tiroidită autoimună / autoimmune thyroiditis	6 (9,2%)	7 (10,8%)

Notă / Note: \* – p<0,05.

Investigațiile biochimice, efectuate la pacienții cu HVC cronică la inițierea tratamentului antiviral, au stabilit că 28 (21,53%) de pacienți nu au prezentat activitate citolică; o activitate joasă au înregistrat 51 (39,2%) de bolnavi, iar 45 (34,5%) de subiecți – o activitate moderată. Doar la 6 (4,6%) bolnavi s-a înregistrat o activitate citolică înaltă (Tabelul 2). Valorile medii de ALAT au fost de 107,87±10,13 UI/ml (Tabelul 3). La 39 (32,5%) de pacienți s-a stabilit o hiperbilirubemie ușoară, care a variat între 6,9 și 60,2 μmol/l, cu o medie de 16,57±0,81 μmol/l. Proba cu timol a fost majorată (de la 4,0 până la 10,4 unități) la 71 (54,6%) de bolnavi. Glicemia majorată (de la 5,8 până la 15,9 mmol/l) a fost stabilită la 42 (32,3%) de pacienți, dintre care, 36 (27,7%) au menționat diabetul zaharat în anamneză. Compararea între loturi a indicatorilor biochimici testați nu a evidențiat diferențe statistice semnificative.

Până la inițierea tratamentului antiviral, la toți pacienții incluși în studiu s-a determinat nivelul viremiei prin depistarea ARN VHC cantitativ, genotipul virusului hepatitic C și s-a evaluat gradul de fibroză hepatică. Rezultatele acestor investigații sunt prezentate în Tabelul 4.

La inițierea tratamentului, ARN-VHC a variat de la 21.680 până la 62.214.608 copii per ml (cu media de 6.572.160 ± 776.641 copii per ml). La 83 (63,8%) de pacienți s-a înregistrat o viremie între 1 și 10 mln copii per ml, iar peste 10 mln copii per ml au avut 24 (18,5%) de bolnavi. Restul pacienților au avut o viremie mai mică de 1 mln copii per ml.

Majoritatea pacienților cu HVC cronică, 112 (86,2%), au avut genotipul 1, genotipul 2 – la 2 (1,5%) pacienți, genotipul 3 – 5 (3,8%), genotipul 4 – 1 (0,8%) și la 10 (7,7%) acesta nu s-a identificat. La 44 (33,8%) din pacienți s-a stabilit un grad de fibroză minoră F0-F1, fibroză moderată (F2) – la 30 (23,1%) și fibroză avansată (F3) – la 56 (43,1%).

Dacă la inițierea tratamentului antiviral nivelul viremiei în ambele loturi nu a variat semnificativ, atunci gradul de fibroză hepatică minimală (F0-F1) a prevalat la pacienții din lotul I – 32 (49,2%) față de 12 (18,5%) pacienți din lotul II, iar gradul de fibroză avansată (F3) a predominat semnificativ la 40 (61,5%) de pacienți din lotul II, față de 16 (24,6%) bolnavi din I lot.

son of tested biochemical markers did not show statistical differences between groups.

All patients were tested for levels of RNA-HCV (quality test), genotype and levels of fibrosis was determined before beginning of treatment. Results of these tests are presented in Table 4.

At the beginning of treatment, RNA HCV (viral load) varied between 21,680 and 62,214,608 copies / ml (mean value 6,572,160±776,641 copies/ml). In 83 (63.8%) patients a viral load between 1 and 10 mln copies/ml was registered, and 24 (18.5%) had a viral load over 10 mln copies/ml. The remaining number of patients had a viral load less than 1 mln copies/ml.

Most of the patients with chronic hepatitis C, 112 (86.2%) had genotype 1, 2 patients (1.5%) had genotype 2, 5 (3.8%) patients had genotype 3, 1 patients (0.8%) had genotype 4 and in 10 (7.7%) patients the genotype was not identified. Minor fibrosis (F0-F1) was established in 44 (33.8%) patients, moderate fibrosis (F2) was established in 30 (23.1%) and advanced fibrosis (F3) – in 56 (43.1%) patients.

At the beginning of treatment, viral load did not vary significantly between both groups. Instead, the level of fibrosis was predominantly F0-F1 among patients from group I – 32 (49.2%), compared to 12 (18.5%) patients from group II. Advanced fibrosis (F3) was encountered in 40 (61.5%) of patients from group II, compared to 16 (24.6%) patients from group I.

During the whole treatment, patients from both groups had a clear positive dynamics, with substantial subsiding of cytolytic activity. If at the beginning of treatment there were 102 (72.3%) of patients with elevated ALAT, after 4 weeks of treatment, this number diminished to 13 (10%) patients that had minimal cytolysis, and by the end of treatment, only 8 (6.1%) had cytolytic activity. Six (4.6%) patients had elevated liver enzymes 24 weeks after the treatment (Figure 1). The same tendency was observed in both groups, with a statistically significant prevalence in group II (Table 5).

Treatment with direct acting antivirals registered undetectable RNA-HCV at the end of treatment in 115 patients

**Tabelul 2.** Indicii biochimici la pacienții cu HVC cronică la inițierea tratamentului antiviral.**Table 2.** Biochemical indices in patients with chronic hepatitis C at the beginning of the antiviral treatment.

Parametri / Parameters	Lot Sofosbuvir + Ledipasvir (n=65)	Lot Sofosbuvir + Daclatasvir (n=65)
Bilirubina majorată / Elevated bilirubin (>18 μmol/l)	19 (29,2%)	20 (30,8%)
ALAT normal (0-49 u/l)	14 (21,5%)	14 (21,5%)
ALAT ≤2 × N	24 (36,9%)	27 (41,5%)
ALAT 2-5 × N	24 (36,9%)	21 (32,3%)
ALAT >5 × N	3 (4,7%)	3 (4,7%)
ASAT normal (0-46 u/l)	16 (24,6%)	20 (30,8%)
ASAT ≤2 × N	34 (52,2%)	29 (44,6%)
ASAT 2-5 × N	12 (18,5%)	14 (21,5%)
ASAT >5 × N	3 (4,7%)	2 (3,1%)
Proba cu timol / Thymol probe >4,0 u	30 (46,2%)	41 (63,1%)*
Glucoza / blood glucose >5,8 mmol/l	20 (30,8%)	22 (33,8%)
Amilaza / Amylase >100 μmol/l	14 (21,5%)	18 (27,7%)
GGTP >71 u/l (M) sau /or >42 u/l (F)	12 (18,5%)	15 (23,1%)

Notă / Note: \*- p<0,05.

**Tabelul 3.** Valorile medii ale indicatorilor biochimici la inițierea tratamentului antiviral.**Table 3.** Mean values of biochemical parameters at the beginning of the antiviral treatment.

Parametri biochimici / Biochemical parameters	Lot Sofosbuvir + Ledipasvir (n=65)	Lot Sofosbuvir + Daclatasvir (n=65)
Bilirubina / bilirubin, μmol/l	17,66±1,37	15,64±0,87
ALAT, u/l	116,57±18,28	101,45±9,06
ASAT, u/l	89,99±12,74	83,85±7,21
Proba cu timol / Thymol probe, u	4,84±0,39	6,05±0,42*
Glucoza / blood glucose, mmol/l	5,86±0,22	6,00±0,23
Amilaza / amylase, u/l	88,92±4,65	101,23±7,15
GGTP, u/l	69,80±8,31	65,05±8,5
Indicele protrombinic / prothrombin, %	90,05±0,73	85,09±0,81***

Notă / Note: \*- p<0,05; \*\*\*- p<0,001.

**Tabelul 4.** Evaluarea nivelului de viremie, genotipului virusului C și gradului de fibroză hepatică la pacienții cu HVC cronică la inițierea tratamentului antiviral.**Table 4.** Evaluation of viraemia levels, virus C genotype and stage of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C at the beginning of antiviral treatment.

Caracteristici / Characteristics	Lot Sofosbuvir + Ledipasvir (n=65)	Lot Sofosbuvir + Daclatasvir (n=65)
ARN VHC cantitativ / RNA HCV quantity, n (%)		
▪ <1 mln copii/ml / copies/ml	9 (13,8%)	14 (21,5%)
▪ 1-10 mln copii/ml / copies/ml	42 (64,7%)	41 (63,1%)
▪ >10 mln copii/ml / copies/ml	14 (21,5%)	10 (15,4)
ARN VHC, copii/ml / RNA HCV copies/ml	6.166.589±952.859	6.738.457±1.310.727
Genotipul VHC / HCV genotype, n (%)		
▪ 1	63 (97,0%)	49 (75,5)***
▪ 2	1 (1,5%)	1 (1,5%)
▪ 3	0	5 (7,7%)
▪ 4	0	1 (1,5%)
▪ Neidentificat / non-identified	1 (1,5%)	9 (13,8)**
Gradul de fibroză / fibrosis stage, n (%)		
▪ F0-F1	32 (49,2%)	12 (18,5%)***
▪ F2	17 (26,2%)	13 (20,0%)
▪ F3	16 (24,6%)	40 (61,5%)***

Notă / Note: \*- p<0,05; \*\*- p<0,01; \*\*\*- p<0,001.

**Tabelul 5.** Caracteristica indicilor de citoliză hepatică și a viremiei VHC la finele tratamentului antiviral.**Table 5.** Characteristics of indices of liver cytolysis and viral load at the end of antiviral treatment.

Parametri // Parameters	Lot Sofosbuvir + Ledipasvir (n=65)	Lot Sofosbuvir + Daclatasvir (n=65)
ALAT		
▪ valori normale // normal range	62 (95,4%)	60 (92,3%)
▪ $\geq 2 \times$ valori normale // $\geq 2 \times$ normal range	3 (4,6%)	5 (7,7%)*
RV <sup>†</sup> <sub>12</sub> ARN VHC		
▪ negativ // negative	60 (92,3%)	55 (84,6%)
▪ pozitiv // positive	5 (7,7%)	10 (15,4%)
RVS <sup>#</sup> <sub>24</sub> ARN VHC		
▪ negativ // negative	62 (95,4%)	55 (84,6%)*
▪ pozitiv // positive	3 (4,6%)	10 (15,4%)*

Notă: <sup>†</sup>- răspuns virusologic la sfârșitul tratamentului; <sup>#</sup>- răspuns virusologic susținut peste 24 de săptămâni după sfârșitul tratamentului. \*- p<0,05; \*\*- p<0,01; \*\*\*- p<0,001.

Note: <sup>†</sup>- virologic response at the end of treatment; <sup>#</sup>- sustained virologic response at 24 weeks after treatment. \*- p<0,05; \*\*- p<0,01; \*\*\*- p<0,001.

Pe durata tratamentului antiviral, pacienții ambelor grupuri au înregistrat o dinamică evident pozitivă, cu diminuarea substanțială a activității citolitice. Dacă la inițierea tratamentului cu preparate antivirale, un ALAT majorat au prezentat în total 102 (72,3%) pacienți, atunci la 4 săptămâni de tratament, numărul lor a diminuat până la 13 (10%), având o citoliză minimală, iar la finele tratamentului, o activitate citolitică au prezentat doar 8 (6,1%) subiecți. Peste 24 de săptămâni de la finalizarea tratamentului antiviral, 6 (4,6%) bolnavi au menținut nivelul transaminazelor majorat (Figura 1). Aceiași tendință s-a observat în ambele loturi de pacienți, cu o prevalență semnificativă statistic la subiecții din lotul II (Tabelul 5).

Tratamentul administrat cu preparate antivirale cu acțiune directă a înregistrat ARN VHC nedetectabil la finele tratamentului la 115 (88,5%) pacienți. Două persoane din cei cu eșec terapeutic, la finele tratamentului au avut un RVS la 24 de săptămâni după tratament. Astfel, RVS la 24 de săptămâni după finalizarea tratamentului s-a înregistrat la 117 (90%) bolnavi. Doar 3 (4,6%) pacienți din I lot și 10 (15,4%) din lotul II au avut eșec terapeutic.

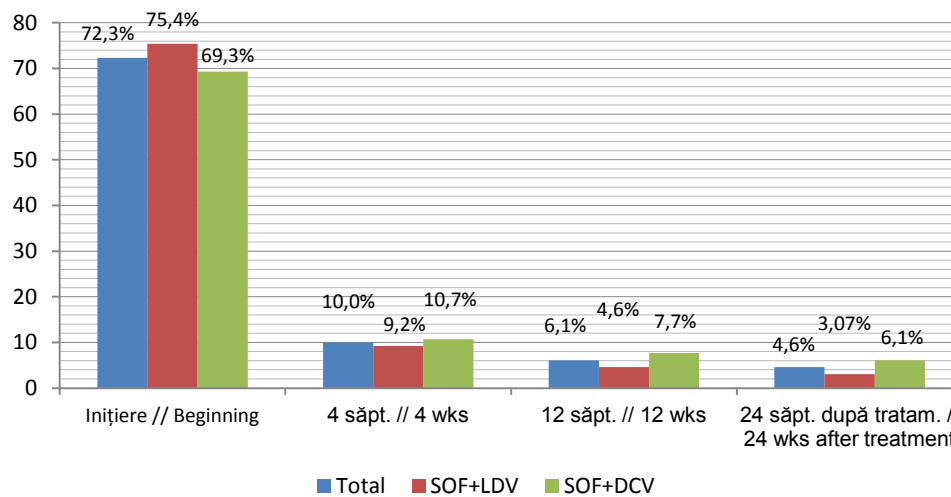
Eșecul terapeutic a fost înregistrat la 13 (10%) pacienți, dintre care 10 (76,9%) au fost femei și 3 (23,1%) bărbați cu vârsta medie de 56,1±2,5 ani. Pacienți naivi au fost 11 (84,6%) și doar 2 (15,3%) au urmat anterior tratamente antivirale cu Interferoni și Ribavirină. La 7 (53,8%) pacienți cu eșec terapeutic s-a înregistrat gradul de fibroză F3, la 4 (30,8%) – F1 și la 2 (15,4%) persoane – F2. Comparând cu lotul de bază, un eșec terapeutic au avut, mai frecvent, femeile cu vârsta de peste 50 de ani, cu un nivel de ARN-VHC de 2 ori mai mare decât media în lotul de bază și un grad de fibroză avansat (F3). Pe parcursul tratamentului cu preparate antivirale cu acțiune directă, la 12 (9,2%) pacienți din ambele loturi s-au înregistrat reacții adverse minore: nausee, prurit cutanat, cefalee, astenie, dereglarea somnului, care au fost compensate rapid, fără a fi necesară suspendarea tratamentului antiviral.

(88.5%). Two patients out of those with failed treatment, at the end of treatment had a SVR at 24 weeks after the treatment. Thus, SVR at 24 weeks after the end of treatment was registered in 117 (90%) of patients. Only 3 (4.6%) of patients from group I and 10 (15.4%) from group II had an unsuccessful therapy.

Therapeutic failure was registered in 13 (10%) of patients, out of them, 10 (76.9%) were females and 3 (23.1%) were males, with age ranging between 56.1±2.5 years. Eleven patients (84.6%) were naïve, and only 2 patients (15.3%) had been previously treated with Interferon and Ribavirine. Seven (53.8%) patients out of those with therapeutic failure had F3 fibrosis level, 4 (30.8%) patients had F1 level of fibrosis and 2 patients (15.4%) had F2 level of fibrosis. Comparing with the main group, therapeutic failure was more frequently registered in women aged >50 years, with RNA-HCV levels twice higher than in the main group and advanced fibrosis levels (F3). During treatment with direct acting antivirals, 12 (9.2%) patients from both groups had minor side effects: nausea, pruritus, headache, asthenia, sleeping disorder that were quickly managed, without the need to stop the treatment.

## Discussion

Population screening and initiation of antiviral treatment in patients with chronic hepatitis C contributed to diminishing of morbidity on the globe. Modern treatment schemes, with direct acting antiviral drugs, lead to negative RNA-HCV in 4 weeks after the beginning of treatment and elimination of the virus in 99% of cases. Re-activation of the virus after 24 weeks since the end of the treatment is extremely rare. Over 99% of patients that had SVR remain RNA-HCV negative for 4-5 years after the end of treatment, with no signs of hepatitis, no progression into cirrhosis or hepatocarcinoma [8, 9]. Results of our study show that both schemes (Sofosbuvir + Ledipasvir and Sofosbuvir + Daclatasvir for 12 weeks) in patients with chronic hepatitis C had high efficacy. By the end of the treatment, 88.5% of patients had a virologic response, and at 24



**Fig. 1** Dinamica activității citolitice la pacienții cu HVC cronică pe parcursul tratamentului cu PAAD.

*Fig. 1* Dynamics of cytolitic activity in patients with chronic hepatitis C during treatment with direct DAADs.

## Discuții

Screeningul populației și inițierea tratamentului antiviral la pacienții cu HVC cronică a contribuit la diminuarea morbidității pe glob. Schemele moderne de tratament cu preparate antivirale cu acțiune directă duc la negativarea ARN VHC peste patru săptămâni după inițierea tratamentului și eliminarea virusului în 99% de cazuri. Reactivarea virusului C peste 24 de săptămâni după finalizarea tratamentului apare extrem de rar în schemele de tratament cu PAAD. Peste 99% dintre pacienții care au avut RVS rămân ARN VHC negativi 4-5 ani după finalizarea tratamentului, cu lipsa semnelor de hepatită și progresarea maladiei către ciroză hepatică și hepatocarcinom [8, 9]. Rezultatele studiului nostru au demonstrat că ambele scheme de tratament, cea cu Sofosbuvir + Ledipasvir și cea cu Sofosbuvir + Daclatasvir timp de 12 săptămâni, la pacienții cu HVC cronică au avut o eficacitate înaltă, înregistrând, la finele tratamentului, un răspuns virusologic la 88,5% din pacienți, iar la 24 de săptămâni de la finalizarea tratamentului, 90% din subiecți au înregistrat un răspuns virusologic susținut. Mai eficientă s-a dovedit a fi schema cu Sofosbuvir + Ledipasvir, cu un RVS de 95,4% versus 84,6% la cei cu Sofosbuvir + Daclatasvir. Tratamentul a fost eficient atât la pacienții naivi, cât și la cei care au urmat, anterior, tratamentul cu PEG/INF și RBV fără succes. Cu toate că genul feminin, viremia bazală < 6 log UI/ml și IMC >30 kg/m<sup>2</sup> presupune o rată mai înaltă de RVS [6], în lotul nostru de studiu, din cei 13 pacienți care au avut eșec terapeutic la PAAD, au predominat pacienții naivi, de sexul feminin, cu genotipul 1b, mai frecvent, cu gradul de fibroză F3.

## Concluzii

1) Tratamentul antiviral cu preparate cu acțiune directă s-a dovedit eficient, atingând o rată de răspuns virusologic susținut până la 95%.

weeks after the treatment – 90% of patients had SVR. Sofosbuvir + Ledipasvir scheme proved to be more efficient, with a SVR of 95.4% vs 84.6% following treatment with Sofosbuvir + Daclatasvir. Treatment was efficacious both in naïve patients as in patients previously treated with PEG/INF and RBV with therapeutic failure. Even if female gender, basal viral load < 6 log UI/ml and BMI >30 kg/m<sup>2</sup> supposes a higher rate of SVR [6], in our study, those 13 patients with therapeutic failure were mostly naïve patients, female gender, with 1b genotype with F3 fibrosis level.

## Conclusions

1) Antiviral treatment with direct acting antiviral drugs proved to be efficient, that achieved a sustained virologic response in 95% cases.

2) Sofosbuvir + Ledipasvir scheme was more efficient than Sofosbuvir + Daclatasvir.

3) Treatment with direct acting antiviral drugs was effective in both naïve patients and patients previously treated with PEG/INF and RBV.

4) New antiviral drugs were well tolerated by most of the patients, minor side effects being recorded, that did not require termination of treatment.

## Declaration of conflicting interests

Authors declare no financial or non-financial conflict of interests.

## Authors' contribution

Authors contributed equally in manuscript elaboration, design of the study and editing. Both authors have read and approved the final version of the manuscript.



2) Schema de tratament cu Sofosbuvir și Ledipasvir a fost mai eficientă decât cea cu Sofosbuvir și Daclatasvir.

3) Tratamentul antiviral cu preparate antivirale cu acțiune directă a fost eficient atât la pacienții naivi, cât și la cei care au urmat, anterior, fără succes tratamentul cu PEG/INF și RBV.

4) Preparatele antivirale noi au fost bine tolerate de majoritatea subiecților, fiind înregistrate reacții adverse minore, care nu au necesitat întreruperea tratamentului.

### Declarația de conflict de interese

Autorii declară lipsa conflictului de interese.

### Contribuția autorilor

Autorii au contribuit în mod egal la elaborarea manuscrisului, designului și la redactarea lucrării. Ambii autori au citit și au aprobat versiunea finală a manuscrisului.

### Referințe / references

1. Guidelines: EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C 2018. <http://www.easl.eu/medias/cpg/HEPC-2018/Full-report.pdf>.
2. World Health Organization. Hepatitis C: fact sheet. October, 2017. (<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>).
3. WHO. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection, April 2016.
4. Mauss S, Berg T, Rockstroh J, Sarrazin C., Wedemeyer H. Hepatology – a clinical textbook. 7th Edition, 2016.
5. American Association for the Study of Liver Diseases and the Infectious Diseases Society of America. Recommendations for testing, managing, and treating hepatitis C. AASLD recommendations, 2015. Available from: <http://www.hcvguidelines.org/>.
6. Chhatwal J., Wang X., Ayer T. *et al.* Hepatitis C disease burden in the United States in the era of oral direct-acting antivirals. *Hepatology*, 2016; 64: 1442-1450.
7. Asselah T., Boyer N., Saadoun D., Martinot-Peignoux M., Marcellin P. Direct-acting antivirals for the treatment of hepatitis C virus infection: optimizing current IFN-free treatment and future perspectives. *Liver Int.*, 2016; 36 (1): 47-57.
8. Săndulescu O., Streinu-Cercel A., Stoica A. *et al.* Regression of liver fibrosis following sustained virological response in patients with chronic HCV infection and cirrhosis. *BMC Infectious Diseases*, 2016; 16 (suppl. 4) 602: 46-47.
9. Adhal N., Zeuzem S., Kwo P. *et al.* Ledipasvir and sofosbuvir for untreated HCV genotype infection. *N. Engl J. Med.*, 2014; 370: 889-98.