

Rassegna

Review

Scelte terapeutiche nell'infezione cronica da HBV

Therapeutic options in chronic HBV infection

Francesca Maria Felaco, Sebastiano Leone, Maria Stanzone

Dipartimento di Medicina Pubblica, Clinica e Preventiva, Settore Malattie Infettive, Seconda Università di Napoli, Italy

INTRODUZIONE

L'infezione cronica da HBV si associa a rischio di progressione verso la cirrosi epatica e l'epatocarcinoma [1, 2]. L'obiettivo della terapia è interrompere la progressione del danno epatico e si può raggiungere se si riesce a sopprimere stabilmente la replicazione di HBV. All'inizio degli anni '90 l'interferone alfa standard (sIFN) era l'unico farmaco disponibile, successivamente sono stati approvati per il trattamento dell'infezione cronica da HBV tre analoghi nucleosidici/nucleotidici (lamivudina, adefovir, entecavir) e l'interferone peghilato alfa-2a (PEG-IFN). Abbiamo oggi più possibilità terapeutiche ma, per i limiti dei farmaci, decidere quando iniziare un trattamento e come trattare, richiede un preciso inquadramento diagnostico ed una valutazione che tenga conto della storia naturale dell'infezione da HBV e della probabilità di risposta alla terapia.

STORIA NATURALE

L'infezione da HBV contratta in età adulta cronizza in circa il 5% dei pazienti; in età più giovane il rischio di cronicizzazione è più alto e può raggiungere il 90% dei casi se l'infezione è perinatale. Nell'infezione cronica da HBV (persistenza nel siero di HBsAg per oltre 6 mesi) si possono identificare quattro fasi successive, che sono espressione di un differente equilibrio tra replicazione virale e risposta immunitaria, e corrispondono a quadri clinici differenti che hanno differente storia naturale e differente risposta alla terapia.

Fase di immuno-tolleranza: è una fase altamente replicativa, caratterizzata dalla presenza nel siero di HBeAg e livelli di HBV-DNA $\geq 10^8$ copie/ml,

le transaminasi sono però normali e l'attività istologica è minima. Quando l'infezione è acquisita nell'infanzia, questa fase può persistere per 15-30 anni prima che si passi alla fase successiva [3].

Fase di immuno-attivazione: è caratterizzata da riduzione della replicazione virale (livelli di HBV-DNA 10^7 - 10^8 copie/ml), valori elevati di transaminasi, differenti gradi di necro-infiammazione epatica, e presenza di HBeAg; questa fase ha durata variabile ed identifica la "epatite cronica HBeAg positiva".

Ogni anno il 5-15% dei pazienti con epatite cronica HBeAg positiva sierocverte spontaneamente ad anti-HBe ma fino a che questo evento non si verifica, la malattia può in alcuni casi (2-5% per anno) progredire in cirrosi [4, 5]. La sierocconversione HBeAg/anti-HBe è un evento importante che segna il passaggio alla terza fase.

Fase di controllo immune: caratterizzata da persistenza di HBsAg, assenza di HBeAg, presenza di anti-HBe, HBV-DNA $< 10^4$ copie/ml e transaminasi normali; l'esame istologico mostra necro-infiammazione minima o assente, fibrosi lieve o anche fegato normale. Questa fase identifica lo stato di portatore inattivo di HBV, condizione clinica di stabile remissione della malattia che può persistere per decenni. Nei portatori inattivi la progressione in cirrosi è rara [6].

Fase di riattivazione: nel 15-40% dei pazienti con sierocconversione ad anti-HBe si osserva persistenza della malattia o riattivazione dopo alcuni anni di remissione. È questa la *epatite cronica HBeAg negativa* sostenuta da ceppi di HBV con mutazioni nelle regioni pre-core (G1896A) o core-promoter (A1762T - G1764A) del genoma virale che bloccano la sintesi di HBeAg, per cui nel siero HBeAg è assente, ma sono presenti HBV-DNA ed anti-HBe e le transaminasi sono elevate. I livelli di HBV-DNA e di transaminasi possono essere fluttuanti con profilo biochimico/virologico

intermittente, remittente o continuo. L'attività istologica è grave, soprattutto nei pazienti con profilo remittente o continuo. La progressione in cirrosi è pari al 8-10% per anno. Una remissione spontanea della malattia è rara [7].

L'andamento fluttuante delle transaminasi e dei livelli di HBV-DNA può rendere difficile differenziare l'epatite cronica HBeAg negativa dal portatore inattivo di HBV.

■ GENOTIPI DI HBV

Il virus dell'epatite B è classificato in 8 genotipi (A-H). I genotipi A e D sono prevalenti in Europa e Nord-America, i genotipi B e C più frequenti in Asia. Il genotipo B, in confronto al genotipo C, si associa a sieroconversione ad anti-HBe in età più giovane, a malattia epatica meno attiva e ad una più lenta progressione in cirrosi; per gli altri genotipi le informazioni sono limitate [8-10].

■ DETERMINAZIONE QUANTITATIVA DI HBV-DNA

Il livello di replicazione di HBV è espresso dalla quantità di HBV-DNA nel siero misurata in passato con metodiche di ibridizzazione non amplificate che avevano un basso livello di sensibilità (10^5 copie/ml). Con queste metodiche, nei pazienti con malattia inattiva, l'HBV-DNA era in genere non dosabile, mentre risultava presente nei pazienti con malattia attiva. Successivamente, con la possibilità di amplificazione dei genomi virali (metodiche PCR), la sensibilità è aumentata consentendo di evidenziare quantità di HBV-DNA di 10^2 - 10^3 copie/ml. Applicando metodiche PCR, si è osservato che alcuni pazienti con epatite cronica HBeAg negativa hanno livelli di HBV-DNA fluttuanti e possono avere malattia attiva in presenza di livelli di HBV-DNA inferiori a 10^5 copie/ml [11]. Il livello di HBV-DNA che differenzi la malattia attiva da quella inattiva non è tuttavia noto e, quindi, per decidere un eventuale trattamento è necessario considerare oltre ai livelli di HBV-DNA anche l'attività biochimica (livelli delle transaminasi) ed istologica della malattia.

È attualmente disponibile una PCR "real time" che consente la simultanea amplificazione e quantificazione dei genomi virali ed è la metodica più rapida e più sensibile, capace di evidenziare fino a 50 copie/ml di HBV-DNA. I risultati della PCR possono essere espressi anche in UI/ml (1 UI/ml

corrisponde a circa 5,6 copie/ml di HBV-DNA). La misurazione di HBV-DNA mediante PCR è necessaria per la valutazione iniziale del paziente, per monitorare la risposta alla terapia, e per evidenziare l'insorgenza di resistenza in corso di terapia con analoghi nucleosidici/nucleotidici.

■ DEFINIZIONI DI RISPOSTA ALLA TERAPIA

La risposta alla terapia viene definita come segue:
Risposta biochimica: normalizzazione delle transaminasi.

Risposta virologica: riduzione di HBV-DNA a livelli inferiori a 10^4 - 10^3 copie/ml e, nei pazienti HBeAg positivi, sieroconversione ad anti-HBe.

Risposta istologica: riduzione di 2 punti dello score di attività necroinfiammatoria senza peggioramento della fibrosi.

Risposta completa: negativizzazione di HBsAg e sieroconversione ad anti-HBs.

Risposta mantenuta sotto trattamento: soppressione stabile della replicazione virale durante il trattamento. Con gli analoghi nucleosidici/nucleotidici, più basso è il livello di HBV-DNA che si ottiene durante il trattamento, minore è il rischio che si sviluppi resistenza.

Risposta sostenuta dopo sospensione: persistenza della risposta dopo sospensione del trattamento; negli studi clinici è di solito valutata a 6 mesi dalla sospensione.

■ INTERFERONE

Gli interferoni sono citochine naturali con attività immunomodulante, antivirale e antiproliferativa. L'interferone alfa possiede spiccata attività di stimolazione della risposta immunitaria e meno pronunciata attività di inibizione della replicazione di HBV.

"sIFN" (ricombinante alfa-2a, alfa-2b). L'interferone standard ha una farmacocinetica subottimale che richiede almeno tre somministrazioni settimanali di farmaco col risultato di livelli sierici fluttuanti. s-IFN è stato in genere utilizzato nei pazienti con epatite cronica HBeAg positiva a dosaggio di 9-10 MU tre volte a settimana, o di 5-6 MU tutti i giorni, per 4-6 mesi; nei pazienti con epatite cronica HBeAg negativa a dosaggio più basso (3-6 MU tre volte a settimana) ma per periodi più lunghi (12-24 mesi).

"PEG-IFN". L'interferone peghilato ha un profilo farmacocinetico migliore che consente la monosomministrazione settimanale ed assicura con-

centrazioni attive di farmaco nell'intervallo tra le somministrazioni. PEG-IFN alfa-2a ha sostituito l'interferone standard ed è utilizzato a dose fissa di 180 µg a settimana per 1 anno, sia nei pazienti con epatite cronica HBeAg positiva che nei pazienti con epatite cronica HBeAg negativa.

L'interferone alfa ha un profilo di tollerabilità insoddisfacente. Oltre alla necessità di somministrazione per via sottocutanea, le dosi utilizzate sono associate a sintomi simil-influenzali e gastrointestinali, che generalmente si attenuano col proseguire della terapia, ad induzione di autoimmunità, soprattutto anti-tiroide con possibile ipo/ipersintesi, a leucopiastrinopenia ed anemia da tossicità midollare, ed a depressione. L'interferone è controindicato nei pazienti con malattia epatica che presentino leucopiastrinopenia, insufficienza funzionale o ipertensione portale; è inoltre controindicato in pazienti con malattie autoimmuni, disturbi psichiatrici maggiori, ed in gravidanza. L'interferone non induce selezione di virus resistenti.

■ ANALOGHI NUCLEOSIDICI/NUCLEOTIDICI

Gli analoghi nucleosidici/nucleotidici inibiscono la replicazione virale mediante competizione con i substrati naturali della polimerasi/trascrittasi inversa di HBV, enzima che interviene nella retrotrascrizione dell'RNA, nella sintesi del DNA e nell'assemblaggio dei nucleocapsidi virali.

Lamivudina è analogo nucleosidico della citosina. Alla dose di 100 mg/die, per via orale, esercita un potente effetto inibitorio sulla replicazione virale (riduzione di 5,4-4,5 log₁₀ copie/ml di HBV-DNA dopo 1 anno di terapia) [12]. La lamivudina non ha controindicazioni e, ad eccezione di un occasionale aumento della creatinfosfochinasi, non ha effetti collaterali di rilievo.

Adefovir dipivoxil è profarmaco dell'adefovir, analogo nucleotidico della adenosina monofosfato. Alla dose di 10 mg per via orale, inibisce sia i ceppi *wild* di HBV che i ceppi lamivudino-resistenti. Ha un effetto sull'abbattimento della replicazione di HBV meno potente e più lento (riduzione di 3-4 log₁₀ copie/ml di HBV-DNA dopo 1 anno di terapia) rispetto alla lamivudina [13, 14]. Adefovir non ha controindicazioni, ma è richiesta una riduzione di dose nei pazienti con ridotta funzione renale ed un monitoraggio della creatinina in corso di terapia.

Entecavir è analogo nucleosidico della guanosina. È l'antivirale di più recente introduzione nel trattamento dell'epatite cronica da HBV, in Italia è di-

sponibile dal gennaio 2007. Alla dose di 0,5 mg/die in pazienti non trattati in precedenza con lamivudina (pazienti *naïve*) è risultato più efficace della lamivudina nel ridurre i livelli di HBV-DNA nel siero dopo 1 anno di terapia (riduzione di 6,9 log copie/ml in pazienti HBeAg positivi e 5,0 log copie/ml in pazienti HBeAg negativi) [15, 16]. Entecavir è stato usato alla dose di 1 mg/die nei pazienti con resistenza alla lamivudina.

Gli analoghi nucleosidici/nucleotidici hanno il vantaggio della somministrazione orale, sono ben tollerati anche nei pazienti con cirrosi, e non modificano la crasi ematica. Lo sviluppo di resistenza è il limite di questi farmaci.

■ RESISTENZA AGLI ANALOGHI NUCLEOSIDICI/NUCLEOTIDICI

Durante la replicazione di HBV errori nel processo di trascrizione inversa generano una popolazione di "quasispecie" virali che presentano mutazioni lungo il genoma. In corso di terapia antivirale, i virus con mutazioni naturali resistenti al farmaco sopravvivono e, nel tempo, diventano prevalenti rispetto ai virus sensibili distrutti dal farmaco. Il rischio di resistenza agli antivirali aumenta con la durata del trattamento. Le mutazioni associate a resistenza sono situate su particolari domini dell'enzima polimerasi/trascrittasi inversa che è il bersaglio della terapia con analoghi nucleosidici/nucleotidici.

La resistenza alla lamivudina è conferita da mutazioni nel motivo YMDD (dominio C) della polimerasi/trascrittasi che sono il risultato della sostituzione di una metionina con valina, isoleucina o, più raramente, serina (M204V, M204I, M204S). I virus mutati hanno inizialmente una bassa capacità replicativa, ma mutazioni aggiuntive nel dominio B (V173L, L180M) ripristinano nel tempo la capacità di replicazione. L'incidenza di resistenza alla lamivudina è circa 20% per anno e si sviluppa in oltre il 70% dei pazienti dopo 4 anni di terapia. Col perdurare dell'infezione da ceppi mutati YMDD, si assiste ad un aumento dei valori delle transaminasi, osservato in tutti i pazienti con lamivudino-resistenza per 24 mesi. Citonecrosi grave è stata osservata in pazienti con cirrosi *child B* e *C* ma non in pazienti con epatite cronica senza cirrosi. Nei pazienti con ridotta riserva funzionale epatica la riacutizzazione della malattia può associarsi a scompenso clinico [17-19]. Mutanti di HBV resistenti alla lamivudina sono risultati sensibili ad adefovir; la sensibilità *in vitro* ad entecavir è ridotta [20, 21].

La resistenza ad adefovir è conferita da mutazioni nel dominio D della polimerasi/trascrittasi (N236T) o nel dominio B (A181V). L'incidenza di resistenza a adefovir, assente dopo 1 anno, è del 2%, 5,9%, 18%, 29% dopo 2-5 anni di terapia. In vitro la mutazione N236T è sensibile sia a lamivudina che ad entecavir, mentre la mutazione A181V ha una ridotta sensibilità alla lamivudina [22, 23].

La resistenza ad entecavir è conferita da mutazioni nel dominio B (S184G), nel dominio C (S202I) e nel dominio E (M250V) in aggiunta a mutazioni resistenti alla lamivudina (L180M, M240V). Resistenza ad entecavir richiede quindi una preesistente resistenza alla lamivudina: circa il 10% dei pazienti resistenti alla lamivudina e trattati con entecavir, sviluppa resistenza ad entecavir dopo 2 anni di terapia; dopo 3 anni di terapia, è stata osservata resistenza ad entecavir nel 25% dei pazienti resistenti alla lamivudina e solo nello 0,8% dei pazienti *naïve*. Mutanti di HBV resistenti a lamivudina/entecavir sono sensibili a adefovir [24].

La resistenza agli antivirali si manifesta con tre eventi successivi: "resistenza genotipica" indicata dal riscontro di specifiche mutazioni associate a resistenza all'antivirale in corso, *breakthrough virologico* definito da un incremento dei livelli di HBV-DNA di almeno 1 logaritmo rispetto al livello più basso raggiunto in corso di trattamento, *breakthrough clinico* definito da un aumento dei valori delle transaminasi e dei livelli di viremia. Resistenza agli antivirali deve essere sospettata se, in pazienti aderenti alla terapia, si osserva una ripresa della replicazione virale dopo una risposta iniziale.

■ EFFICACIA DEI TRATTAMENTI

Non esistono studi di confronto diretto tra sIFN, lamivudina e adefovir; l'efficacia dei singoli farmaci è stata valutata in studi controllati nei quali i pazienti nei gruppi di controllo erano non trattati o trattati con placebo. PEG-IFN è stato valutato, in monoterapia o in combinazione con la lamivudina, verso lamivudina in monoterapia. Entecavir è stato confrontato con lamivudina. Nei pazienti con epatite cronica HBeAg positiva il traguardo del trattamento è la sieroconversione ad anti-HBe che si accompagna a soppressione della replicazione virale, a remissione dell'attività biochimica ed istologica ed a riduzione del rischio di progressione della malattia [24]. Nei pazienti con epatite cronica HBeAg negativa la risposta al

trattamento è valutabile sulla base della soppressione della replicazione virale e della normalizzazione delle transaminasi.

■ SIFN-ALFA

Epatite cronica HBeAg positiva. Metanalisi di studi controllati riportano sieroconversione ad anti-HBe nel 25-40% dei pazienti trattati e nel 10-15% dei controlli; un beneficio effettivo del trattamento si ottiene quindi nel 15-25% dei pazienti [25-26]. L'80-90% dei pazienti con sieroconversione ad anti-HBe mostra risposta sostenuta in *follow-up* post-trattamento di 4-8 anni [27]. In molti pazienti con sieroconversione stabile ad anti-HBe, sono rilevabili nel siero, con metodiche PCR, bassi livelli di HBV-DNA. Ciò indica che l'eradicazione virale raramente si raggiunge. Scomparsa di HBsAg si osserva nell'8% dei pazienti entro 1 anno dall'inizio della terapia con IFN e nel 2% dei pazienti non trattati, ed aumenta nel tempo [28]. Fattori predittivi di risposta alla terapia sono valori elevati di transaminasi (>3 volte il valore massimo normale), grado di attività necro-infiammatoria e bassi livelli di HBV-DNA (<10⁷ copie/ml) pre-trattamento, fattori che si associano anche a maggiore probabilità di sieroconversione spontanea. La dose e la durata del trattamento sembrano influenzare la risposta alla terapia: la risposta è migliore con dosi di 5 MU tutti i giorni o 9-10 MU tre volte a settimana che con dosi più basse, ed è migliore con trattamenti di 4-6 mesi che con un trattamento di 3 mesi [29]. Una riduzione di dose di IFN per effetti collaterali è necessaria nel 20% dei pazienti e sospensione del trattamento in circa il 5%.

Epatite cronica HBeAg negativa. Studi controllati con interferone standard, in trattamenti con differenze in dose e durata, riportano risposta virologica (HBV-DNA assente con metodiche non-PCR) e biochimica a fine terapia nel 38-90% dei pazienti trattati e nello 0-37% dei controlli, ma con percentuali di riattivazione dopo sospensione molto alte. La risposta sostenuta, valutata a 12 mesi di *follow-up*, varia da 15% a 25% [30]. Prolungando l'osservazione nel tempo la probabilità di mantenere la risposta si riduce; in uno studio con *follow-up* medio di 7 anni la risposta era sostenuta nel 24% dei pazienti dopo 1 anno e solo nel 18% al termine dello studio [31]. La probabilità di risposta sostenuta è più alta in trattamenti di durata superiore a 12 mesi [32]. L'interferone rallenta la progressione istologica della malattia e, nei pazienti con risposta sostenuta sono stati osservati tassi di mortalità e di in-

sorgenza di HCC più bassi [7, 33]. Nell'epatite cronica HBeAg negativa non è stato individuato nessun fattore predittivo di risposta alla terapia.

■ PEG-IFN

Epatite cronica HBeAg positiva. PEG-IFN alfa-2a, 180 µg/settimana, è risultato più efficace della lamivudina, 100 mg/die, in trattamenti di 48 settimane. Lau et al. riportano al termine del trattamento sierconversione ad anti-HBe nel 27% dei pazienti trattati con PEG-IFN e nel 20% dei pazienti trattati con lamivudina. Durante le 24 settimane di *follow-up* post-terapia la percentuale di pazienti con sierconversione ad anti-HBe è progressivamente aumentata solo nel gruppo trattato con PEG-IFN, mentre sieroreversione ad HBeAg è stata più frequente nei pazienti trattati con lamivudina (42%) che in quelli trattati con PEG-IFN (18%). A fine *follow-up*, anti-HBe era presente nel 32% dei pazienti trattati con PEG-IFN e nel 19% dei trattati con lamivudina; sierconversione ad anti-HBs in circa il 3% dei pazienti trattati con PEG-IFN ed in nessuno dei trattati con lamivudina. La terapia di combinazione con PEG-IFN e lamivudina non offre vantaggi aggiuntivi rispetto alla monoterapia con PEG-IFN: sierconversione ad anti-HBe dopo 24 settimane di *follow-up* osservata nel 27% dei pazienti [34].

Il genotipo di HBV sembra essere fattore predittivo di risposta alla terapia con PEG-IFN. La probabilità di negativizzare HBeAg è maggiore nei pazienti con genotipo A (47%) o genotipo B (44%) che in pazienti con genotipo C (28%) o D (25%), così come la probabilità di negativizzare HBsAg (14% e 9% nei pazienti con genotipo A e B, 3% e 2% nei pazienti con genotipo C o D [35].

Epatite cronica HBeAg negativa. PEG-IFN alfa-2a, 180 µg/settimana, è risultato più efficace della lamivudina, 100 mg/die, in trattamenti di 48 settimane. Marcellin e coll. riportano transaminasi normali nel 59%, HBV-DNA <20.000 copie/ml nel 43%, e HBV-DNA <400 copie/ml nel 19% dei pazienti trattati con PEG-IFN dopo 24 settimane dalla sospensione della terapia; nei pazienti trattati con lamivudina le percentuali di risposta per i rispettivi parametri erano 44%, 29% e 7%. Una risposta sostenuta combinata (transaminasi normali e HBV-DNA <20.000 copie/ml) era presente nel 36% dei pazienti trattati con PEG-IFN e nel 23% dei trattati con lamivudina; *clearance* di HBsAg in circa il 4% dei pazienti trattati con PEG-IFN ed in nessuno dei trattati con lamivudina.

L'associazione di PEG-IFN e lamivudina, anche

se induce una più marcata riduzione dei livelli di HBV-DNA durante la terapia, non dà un vantaggio aggiuntivo rispetto alla monoterapia con PEG-IFN: risposta combinata sostenuta, a 24 settimane dalla sospensione, osservata nel 38% dei pazienti [36]. Dati recenti di *follow-up*, a 3 anni dalla sospensione di PEG-IFN in monoterapia, riportano risposta biochimica e virologica sostenuta nel 30% dei pazienti, *clearance* di HBsAg nell' 8% [37].

■ LAMIVUDINA

Epatite cronica HBeAg positiva. Studi randomizzati riportano sierconversione ad anti-HBe nel 16-18% dei pazienti trattati per 48 settimane con lamivudina 100 mg/die e nel 4-6% dei pazienti non trattati; HBV-DNA <10⁵ copie/ml nel 44% dei trattati e nel 16% dei controlli; normalizzazione delle transaminasi nel 41-72% dei trattati e nel 7-24% dei controlli; miglioramento istologico rispettivamente nel 49-56% dei trattati e nel 23-25%. Se la terapia è interrotta prima della sierconversione ad anti-HBe, si ha ripresa della replicazione virale e riattivazione della malattia. I valori di transaminasi pre-trattamento influenzano la risposta alla terapia: sierconversione ad anti-HBe dopo 1 anno di terapia è stata osservata nel 10% dei pazienti con ALT <2 volte la norma e nel 56% dei pazienti con ALT >5 volte la norma [39].

La percentuale di pazienti con sierconversione ad anti-HBe aumenta se la terapia viene prolungata: 27% a 2 anni e 40%, 47% e 50%, rispettivamente a 3, 4 e 5 anni; con la durata della terapia aumenta però l'incidenza di resistenza. La persistenza della risposta dopo sospensione della terapia è molto variabile (50-80%) ed è influenzata dalla durata del trattamento dopo sierconversione ad anti-HBe: nei pazienti trattati per almeno 4 mesi dopo sierconversione sono state riportate percentuali di riattivazione a 2 anni dalla sospensione più basse (32%) rispetto ai pazienti che avevano ricevuto la terapia per soli 2 mesi dopo sierconversione (74%) [40].

Epatite cronica HBeAg negativa. Studi randomizzati riportano risposta virologica, biochimica ed istologica nel 70-96% dei pazienti trattati per 1 anno con lamivudina 100 mg/die e nel 10% dei controlli. In oltre il 90% dei pazienti, la malattia riattiva dopo sospensione della terapia [41, 42].

Prolungando il trattamento, a causa dell'insorgenza di resistenza al farmaco, le percentuali di risposta virologica e biochimica si riducono progressivamente: 67%, 60% e 39% rispettivamente dopo 2, 3 e 4 anni di terapia [43, 44].

■ ADEFOVIR DIPIVOXIL

Epatite cronica HBeAg positiva. Lo studio di registrazione del farmaco riporta sieroconversione ad anti-HBe nel 12% dei pazienti trattati per 48 settimane con adefovir 10 mg/die e nel 6% dei pazienti trattati con placebo; HBV-DNA <400 copie/ml nel 21% dei trattati e nello 0% dei controlli; normalizzazione delle transaminasi nel 48% dei trattati e nel 16% dei controlli; miglioramento istologico rispettivamente nel 53% e nel 25%. Se il trattamento viene prolungato il beneficio è maggiore (sierconversione ad anti-HBe nel 33% e nel 46% dei pazienti rispettivamente dopo 2 e 3 anni di terapia) [13, 45]. Sieroconversione ad anti-HBe persiste dopo 55 settimane dalla sospensione della terapia nel 91% dei casi [46].

Epatite cronica HBeAg negativa. Hadziyannis e coll. riportano, dopo 48 settimane di terapia con adefovir 10 mg/die, miglioramento istologico nel 64% dei pazienti, livelli di HBV-DNA <400 copie/ml nel 51%, e transaminasi normali nel 72%; nei pazienti trattati con placebo le percentuali di risposta per i rispettivi parametri erano 33%, 0, 29% [14].

Se si sospende il trattamento dopo 1 anno la risposta si perde in quasi tutti i pazienti. Prolungando il trattamento, per la bassa insorgenza di resistenza, il beneficio si mantiene (69% dei pazienti con transaminasi normali e 57% con HBV-DNA <400 copie/ml dopo 5 anni di terapia continua) ma, in circa il 4% dei pazienti si manifesta nefrotossicità che richiede sospensione della terapia [47]. È stata recentemente riportata risposta sostenuta dopo sospensione di adefovir in 22/23 pazienti trattati per 4-5 anni [48].

■ ENTECAVIR

Epatite cronica HBeAg positiva. Nei pazienti HBeAg positivi *naïve*, entecavir 0,5 mg/die ha indotto sierconversione ad anti-HBe, HBV-DNA <300 copie/ml, transaminasi normali e miglioramento istologico rispettivamente nel 21%, 67%, 68%, e 72% dei casi dopo 52 settimane di terapia; le percentuali di risposta per i corrispondenti parametri nei pazienti trattati con lamivudina erano 18%, 36%, 60%, e 62% [15]. Prolungando la terapia a 96 settimane la percentuale di pazienti con sierconversione ad anti-HBe è aumentata al 31% e, nel 5% dei pazienti, si è osservata negativizzazione di HBsAg [49]. Sieroconversione ad anti-HBe persiste dopo 24 settimane dalla sospensione della terapia nell'82% dei casi [50].

Nei pazienti HBeAg positivi "resistenti alla lamivudina", entecavir 1 mg/die ha indotto dopo 48 settimane di terapia sierconversione ad anti-HBe nell'8% dei casi, HBV-DNA <300 copie/ml nel 19%, normalizzazione delle transaminasi nel 61% e miglioramento istologico nel 55%; sierconversione ad anti-HBe è stata osservata nel 17% dei pazienti trattati per 96 settimane [51].

Epatite cronica HBeAg negativa. Entecavir 0,5 mg/die ha indotto, dopo 48 settimane, HBV-DNA <300 copie/ml nel 90% dei casi, normalizzazione delle transaminasi nel 78% e miglioramento istologico nel 70%; le percentuali di risposta per i corrispondenti parametri nei pazienti trattati per 52 settimane con lamivudina erano 72%, 71%, e 61% [16].

■ QUANDO E COME TRATTARE

La decisione di quando trattare tiene conto dei limiti dei farmaci e della probabilità di progressione della malattia. Le linee guida formulate da commissioni di esperti delle associazioni europea (EASL), asiatica (APASL) ed americana (AASLD) per lo studio delle malattie epatiche concordano che il trattamento è indicato in presenza di replicazione virale ed attività biochimica e/o istologica di malattia [52-54].

Pazienti HBeAg positivi: vanno trattati i pazienti con livelli di HBV-DNA $\geq 10^5$ copie/ml e transaminasi elevate. Questi pazienti devono essere monitorati per 3-6 mesi prima di iniziare il trattamento per valutare se non si abbia una sierconversione spontanea. I pazienti con livelli di HBV-DNA $\geq 10^5$ copie/ml e transaminasi normali vanno trattati solo se la istologia evidenzia attività.

Pazienti HBeAg negativi: poiché i pazienti HBeAg negativi hanno livelli di HBV-DNA più bassi in presenza di malattia attiva, rispetto ai pazienti HBeAg positivi, il trattamento è indicato in presenza di livelli di HBV-DNA $\geq 10^4$ copie/ml; vanno trattati sia i pazienti con transaminasi elevate che i pazienti con transaminasi normali nei quali l'esame istologico evidenzia attività o fibrosi significativa.

Il trattamento non è indicato nei pazienti con danno epatico minimo o assente, siano essi immunotolleranti (HBeAg positivi con livelli di HBV-DNA generalmente $> 10^8$ copie/ml e transaminasi normali) o portatori inattivi di HBV (anti-HBe positivi con livelli di HBV-DNA persistentemente $< 10^4$ copie/ml e transaminasi normali). Negli immunotolleranti la probabilità di risposta alla te-

rapia è minima: è raccomandato un monitoraggio trimestrale delle transaminasi e, se si osserva un innalzamento dei valori delle transaminasi non seguito entro 3-6 mesi da sieroconversione spontanea ad anti-HBe, il trattamento deve essere iniziato. Nei portatori inattivi di HBV la progressione verso la cirrosi è rara: è raccomandato un monitoraggio ogni 6-12 mesi per assicurarsi che la condizione sia stabile.

Le linee guida internazionali riportano indicazioni differenti in merito al tipo di farmaco da utilizzare come terapia di primo impiego: EASL ed APASL indicano l'interferone come farmaco di prima scelta, AASLD non esprimono preferenze tra interferone e analoghi nucleosidici/nucleotidici, ritenendo che il vantaggio in efficacia dell'interferone è limitato a fronte di numerosi effetti collaterali; lascia quindi al giudizio del medico l'opzione per l'interferone con probabilità di raggiungere in circa 1/3 dei pazienti un controllo stabile della malattia dopo un trattamento di durata definita ma gravato da effetti collaterali, o per gli analoghi nucleosidici/nucleotidici, molto ben tollerati, ma che richiedono un trattamento soppressivo di durata indeterminata, e che possono perdere nel tempo la loro efficacia per la comparsa di resistenza [52-54].

È nostra opinione che un trattamento a termine con PEG-IFN, in assenza di controindicazioni, debba essere proposto come prima linea terapeutica sia per i pazienti HBeAg positivi che per i pazienti HBeAg negativi. PEG-IFN è certamente il trattamento migliore per i pazienti con maggiore probabilità di risposta alla terapia, vale a dire per i pazienti HBeAg positivi con infezione da genotipo A o B, transaminasi elevate e moderati livelli di replicazione virale. Un trattamento soppressivo di lunga durata con analoghi nucleosidici/nucleotidici dovrebbe essere usato in seconda linea, in caso di fallimento terapeutico con interferone o di intolleranza.

Nei pazienti HBeAg positivi la durata del trattamento con PEG-IFN è di 1 anno. La durata della terapia con analoghi nucleosidici/nucleotidici è variabile in funzione della sieroconversione ad anti-HBe. L'indicazione, per i pazienti che mostrano sieroconversione, è di proseguire il trattamento per ulteriori 6 mesi per ridurre la probabilità di riattivazione della malattia con sieroreversione ad HBeAg dopo sospensione. I pazienti che non mostrano negativizzazione di HBeAg devono proseguire la terapia perché la probabilità di sieroconversione ad anti-HBe aumenta prolungando il trattamento, salvo che non insorga resistenza.

Nei pazienti HBeAg negativi la durata della tera-

pia con PEG-IFN è di 1 anno; non si conosce l'efficacia di un trattamento più lungo, che appare però poco praticabile per il basso profilo di tollerabilità del farmaco. Con gli analoghi nucleosidici/nucleotidici è necessaria una terapia prolungata, di durata indeterminata, a meno che non si verifichi sieroconversione ad anti-HBs, evenienza questa poco probabile.

Se si attua un trattamento soppressivo, la scelta del farmaco deve tenere conto delle caratteristiche dei tre antivirali disponibili.

La lamivudina ha una buona efficacia antivirale ma, per la elevata incidenza di resistenza, non è consigliabile come terapia iniziale in un trattamento di lunga durata; è preferibile usare adefovir o entecavir. Adefovir ha efficacia simile alla lamivudina con incidenza di resistenza più bassa e più ritardata, entecavir è l'antivirale più potente oggi disponibile e con la più bassa incidenza di resistenza.

Nei pazienti in trattamento con analoghi nucleosidici/nucleotidici è necessario monitorare i livelli di HBV-DNA mediante PCR: nei pazienti in trattamento con lamivudina ogni 3 mesi, dopo il sesto mese di terapia; nei pazienti in trattamento con adefovir o entecavir, per la più bassa incidenza di resistenza, ogni 6 mesi dopo il primo anno di terapia. Un aumento di 1 logaritmo del livello di HBV-DNA, dopo una iniziale riduzione, è strettamente correlato alla presenza di mutazioni ed è segno premonitore di possibile riattivazione biochimica. Se si osserva ripresa della replicazione virale bisogna inserire un antivirale "i salvataggio" sulla base delle conoscenze dei profili di resistenza dei tre farmaci (in presenza di resistenza a lamivudina o ad entecavir aggiungere adefovir; in presenza di resistenza ad adefovir aggiungere lamivudina o sostituire adefovir con entecavir). L'inserimento del secondo antivirale deve essere tempestivo poiché la risposta è migliore se si interviene quando la replicazione di HBV non ha raggiunto livelli elevati e prima che si manifesti riattivazione delle transaminasi.

Una terapia di combinazione *ab initio* di 2 antivirali che non presentino resistenza crociata potrebbe essere più efficace nell'inibire la replicazione virale e potrebbe prevenire o ritardare la selezione di ceppi virali resistenti, ma tale strategia terapeutica attende conferma da studi ancora in corso.

Un trattamento con antivirali è indicato nei portatori inattivi di HBV che debbano sottoporsi a terapia immunosoppressiva o a chemioterapia per prevenire la riattivazione della replicazione di HBV che può associarsi a citonecrosi grave.

L'antivirale deve essere iniziato contemporaneamente alla terapia immunosoppressiva/antitumorale e proseguito ancora per 3 mesi dopo sospensione di questa [55]. L'antivirale generalmente usato in cicli di chemioterapia di breve durata è la lamivudina ma, se è richiesta una terapia

immunosoppressiva/antitumorale di durata superiore a 6 mesi, è preferibile usare adefovir o entecavir.

Key words: hepatitis B, interferon, antiviral therapy

RIASSUNTO

La soppressione della replicazione virale nell'infezione cronica da HBV riduce il rischio di progressione del danno epatico. Il trattamento è indicato nelle fasi immunoattive dell'infezione (pazienti HBeAg-positivi o HBeAg-negativi che presentino HBV-DNA nel siero e valori elevati di transaminasi). I farmaci attualmente disponibili sono l'interferone (sIFN, interferone peghilato alfa-2a) e 3 analoghi nucleosidici/nucleotidici (lamivudina, adefovir, entecavir) con i quali è possibile attuare 2 differenti strategie terapeutiche: un trattamento a termine con interferone, capace di indurre una risposta sostenuta dopo sospensione in circa un terzo dei pazienti, o un trattamento prolungato di durata indeterminata con analoghi

nucleosidici/ nucleotidici che assicuri una risposta mantenuta durante la terapia. L'interferone non induce selezione di ceppi di HBV resistenti, ma ha precise controindicazioni, richiede somministrazione sottocutanea e si associa ad effetti collaterali. Gli analoghi nucleosidici/nucleotidici sono somministrati per via orale, sono ben tollerati ma, in trattamenti prolungati, si associano al rischio di resistenza antivirale.

Un trattamento a termine con interferone, in assenza di controindicazioni, dovrebbe essere proposto come prima linea terapeutica, un trattamento soppressivo di lunga durata dovrebbe essere usato per i pazienti in cui l'interferone non è tollerato o è risultato inefficace.

SUMMARY

A durable suppression of viral replication in chronic HBV infection decreases the risk of liver disease progression. Treatment is recommended for patients in the immune-active phases of chronic HBV infection (HBeAg positive or HBeAg negative patients with serum HBV-DNA and elevated ALT). Licensed HBV therapies include interferon (sIFN, pegylated-IFN alfa-2a) and nucleoside/nucleotide analogues (lamivudine, adefovir, entecavir) allowing for two different treatment strategies: a finite treatment course of IFN that provides sustained off-treatment response in about one third of patients, or an indefinite treatment with nucleo-

side/nucleotide analogues that provides a therapy maintained response. IFN has the advantage of a defined treatment duration and of lacking resistance selection; disadvantages are the subcutaneous route of administration and poor tolerability. Nucleoside/nucleotide analogues are orally administered and well tolerated; their drawback is the risk of developing antiviral resistance which increases with duration of treatment. A finite course of IFN should be tried as first-line therapy; a long-term treatment with nucleoside/nucleotide analogues should be used for patients not responding or intolerant to interferon.

BIBLIOGRAFIA

[1] Manno M., Camma C., Schepis F., et al. Natural history of chronic HBV carriers in northern Italy: morbidity and mortality after 30 years. *Gastroenterology* 127, 756-763, 2004.

[2] Yuen M.F., Yuan H.J., Wong D.K., et al. Prognostic determinants for chronic hepatitis B in Asians: therapeutic implications. *Gut* 54, 1610-1614, 2005.

[3] Chang M.H. Natural history of hepatitis B infection in children. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 15, 11-19, 2000.

[4] Fattovich G. Natural history and prognosis of hepatitis B. *Semin. Liver Dis.* 23, 47-58, 2003.

[5] Ikeda K., Saitoh S., Suzuki Y., et al. Disease progression and hepatocellular carcinogenesis in patients with chronic viral hepatitis: a prospective observation in 2215 patients. *J. Hepatol.* 28, 930-938, 1998.

[6] Hsu Y.S., Chien R.N., Yeh C.T., et al. Long-term outcome after spontaneous HBeAg seroconversion in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 35, 1522-1527, 2002.

[7] Brunetto M.R., Oliveri F., Coco B., et al. Outcome of

- anti-HBe positive chronic hepatitis B in alpha-interferon treated and untreated patients. *J. Hepatol.* 36, 263-270, 2002.
- [8] Fung S.K., Lok A.S. Hepatitis B virus genotypes: do they play a role in the outcome of HBV infection? *Hepatology* 40, 790-792, 2004.
- [9] Chu C.J., Hussain M., Lok A.S. Hepatitis B virus genotype B is associated with earlier HBeAg seroconversion compared with hepatitis B virus genotype C. *Gastroenterology* 122, 1756-1762, 2002.
- [10] Sanchez-Tapias J.M., Costa J., Mas A., Bruguera M., Rodes J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology* 123, 1848-1856, 2002.
- [11] Chu C.J., Hussain M., Lok A.S. Quantitative serum HBV-DNA levels during different stages of chronic hepatitis B infection. *Hepatology* 36, 1408-1415, 2002.
- [12] Lai C.L., Chien R.N., Leung N.W., et al. A one year trial of lamivudine for chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* 339, 61-68, 1998.
- [13] Marcellin P., Chang T.T., Lim S.G., et al. Adefovir Dipivoxil for the treatment of Hepatitis B e Antigen-Positive Chronic Hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* 348, 800-816, 2003.
- [14] Hadziyannis S.J., Tassopoulos N.C., Heathcote E.J., et al. Adefovir Dipivoxil for the treatment of Hepatitis B e Antigen-Negative Chronic Hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* 348, 800-807, 2003.
- [15] Chang T.T., Gish R.G., de Man R., et al. A comparison of entecavir and lamivudine for HBeAg-positive chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* 354, 1001-1010, 2006.
- [16] Lai C.L., Shouval D., Lok A.S., et al. Entecavir versus lamivudine for patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* 354, 1011-1020, 2006.
- [17] Lai C.L., Dienstag J., Schiff E., et al. Prevalence and clinical correlates of YMDD variants during lamivudine therapy for patients with chronic hepatitis B. *Clin. Infect. Dis.* 36, 687-696, 2003.
- [18] Lok A.S., Lai C.L., Leung N., et al. Long-term safety of lamivudine treatment in patients with chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 125, 1714-1722, 2003.
- [19] Papatheodoridis G.V., Dimou E., Laras A., Papadimitropoulos V., Hadziyannis S.J. Course of virologic breakthroughs under long-term lamivudine in HBeAg-negative precore mutant HBV liver disease. *Hepatology* 36, 219-226, 2002.
- [20] Peters M.G., Hann Hw H., Martin P., et al. Adefovir dipivoxil alone or in combination with lamivudine in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 126, 91-101, 2004.
- [21] Levine S., Hernandez D., Yamanaka G., et al. Efficacies of entecavir against lamivudine-resistant hepatitis B virus replication and recombinant polymerases in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.* 46, 2525-2532, 2002.
- [22] Angus P., Vaughan R., Xiong S., et al. Resistance to adefovir dipivoxil therapy associated with the selection of a novel mutation in the HBV polymerase. *Gastroenterology* 125, 292-297, 2003.
- [23] Lee Y.S., Suh D.J., Lim Y.S., et al. Increased risk of adefovir resistance in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B after 48 weeks of adefovir dipivoxil monotherapy. *Hepatology* 43, 1385-1391, 2006.
- [24] Colonno R.J., Rose R., Pokornowski K., et al. Assessment at three years shows high barrier to resistance is maintained in entecavir-treated nucleoside naïve patients while resistance emergence increases over time in lamivudine refractory patients. *AASLD* 2006, A110.
- [25] Wong D.K., Cheung A.M., O' Rourke K., et al. Effect of alpha-interferon treatment in patients with hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B. A meta-analysis. *Ann. Intern. Med.* 119, 312-316, 1993.
- [26] Craxi A., Bona D.D., Cammà C., et al. Interferon alpha for HBeAg positive chronic hepatitis B. *J. Hepatol.* 39, 99-105, 2003.
- [27] Niederau C., Heintges T., Lange S., et al. Long-term follow-up of HBeAg positive patients treated with interferon alfa for chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* 334, 1422-1427, 1996.
- [28] Bortolotti F., Jara P., Barbera C., et al. Long term effect of alpha interferon in children with chronic hepatitis B. *Gut* 44, 715-718, 2000.
- [29] Hoofnagle J.H., Di Bisceglie A.M. The treatment of chronic viral hepatitis. *N. Engl. J. Med.* 336, 347-356, 1997.
- [30] Lok A.S., Heathcote E.J., Hoofnagle J.H., et al. Management of hepatitis B: 2000 - summary of a workshop. *Gastroenterology* 120, 1828-1853, 2001.
- [31] Manesis E.K., Hadziyannis S.J. Interferon alpha treatment and re-treatment of hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Gastroenterology* 121, 101-109, 2001.
- [32] Lampertico P., Del Ninno E., Manzin A., et al. A randomized, controlled trial of a 24-month course of interferon alfa 2b in patients with chronic hepatitis B who had hepatitis B virus DNA without hepatitis B e antigen in serum. *Hepatology* 26, 1621-1625, 1997.
- [33] Papatheodoridis G.V., Manesis E., Hadziyannis S.J. The long-term outcome of interferon-alpha treated and untreated patients with HBeAg-negative chronic hepatitis B. *J. Hepatol.* 34, 306-313, 2001.
- [34] Lau G., Piratvisuth T., Luo K.X., et al. Peginterferon Alfa-2a, Lamivudine, and the Combination for HBeAg-Positive Chronic Hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* 325, 2682-2695, 2005.
- [35] Flink H.J., van Zanneveld M., Hansen B.E., et al. Treatment with Peg-interferon alfa-2b for HBeAg-positive chronic hepatitis B: HBsAg loss is associated with HBV genotype. *Am. J. Gastroenterol.* 101 (2), 297-303, 2006.
- [36] Marcellin P., Lau G., Bonino F., et al. Peginterferon Alfa-2a Alone, Lamivudine Alone, and the Two in Combination in Patients with HBeAg-Negative Chronic Hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* 351, 1206-1217, 2004.
- [37] Marcellin P., Bonino F., Lau G.K., et al. Virological and biochemical response in patients with HBeAg-negative CHB treated with peginterferon alfa-2a (40 KD) ± lamivudine: 3-year follow-up results. *J. Hepatol.* 46 (1), S25, 2007.

- [38] Dienstag J.L., Schiff E.R., Perrillo R.P., et al. Lamivudine as initial treatment for chronic hepatitis B virus in the United States. *N. Engl. J. Med.* 341, 1256-1263, 1999.
- [39] Perrillo R.P., Lai C.L., Liaw Y.F., et al. Predictors of HBeAg loss after lamivudine treatment for chronic hepatitis B. *Hepatology* 36, 186-194, 2002.
- [40] Guan R., Lai C.L., Liaw Y.F., et al. Efficacy and safety of 5 years lamivudine treatment of Chinese patients with chronic hepatitis B. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 16 (Suppl 1), 60-61, 2001.
- [41] Tassopoulos N.C., Volpes R., Pastore G., et al. Efficacy of lamivudine in patients with hepatitis B e antigen-negative/hepatitis B virus DNA-positive (precore mutant) chronic hepatitis B. *Hepatology* 29, 889-896, 1999.
- [42] Santantonio T., Mazzola M., Iacovazzi T., et al. Long-term follow-up of patients with anti-HBe/HBVDNA-positive chronic hepatitis B treated for 12 months with lamivudine. *J. Hepatol.* 32, 300-306, 2000.
- [43] Hadziyannis S.J., Papatheodoridis G.V., Dimou E., et al. Efficacy of long-term lamivudine monotherapy in patients with hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B. *Hepatology* 32, 847-851, 2000.
- [44] Buti M., Cotrina M., Jardi R., et al. Two years of lamivudine therapy in anti-HBe-positive patients with chronic hepatitis B. *J. Viral. Hepatol.* 8, 270-275, 2001.
- [45] Hadziyannis S., Tassopoulos N., Chang T.T., et al. Adefovir Dipivoxil (ADV) demonstrates sustained efficacy in HBeAg chronic hepatitis B patients. *J. Hepatol.* 42, 178-183, 2005.
- [46] Chang T.T., Shiffman M., Tong M., et al. Durability of HBeAg seroconversion after adefovir dipivoxil treatment for hepatitis B. *J. Hepatol.* 40, 126, 2004.
- [47] Hadziyannis S.J., Tassopoulos N.C., Heathcote E.J., et al. Long-term therapy with adefovir dipivoxil for HBeAg-negative chronic hepatitis B. *N. Engl. J. Med.* 352, 2673-2681, 2005.
- [48] Hadziyannis S.J., Sevastinos V., Rapti I.N., et al. Sustained biochemical and virological remission after discontinuation of 4 to 5 years of adefovir dipivoxil treatment in HBeAg negative chronic hepatitis B. AA-SLD 2006, abst. 114.
- [49] Gish R.G., Chang T.T., de Man R., et al. Entecavir results in substantial virologic and biochemical improvement and HBeAg seroconversion through 96 weeks of treatment in HBeAg (+) chronic hepatitis B patients. *Hepatology* 41 (suppl 1), A118-A267, 2005.
- [50] Gish R.G., Martin P., Shiff E.R., et al. Entecavir leads to sustained response off-treatment in nucleoside-naïve HBeAg-positive patients who met on-treatment response endpoints at 48 weeks of therapy in phase 3 study ETV-022. *Gastroenterology* 128, A692-A693, 2005.
- [51] Chang T.T., Gish R.G., Hadziyannis S.J., et al. A dose-ranging study of the efficacy and tolerability of entecavir in lamivudine-refractory chronic hepatitis B patients. *Gastroenterology* 129, 1198-1209, 2005.
- [52] De Franchis R., Hadengue A., Lau G., et al. EASL International Consensus Conference on Hepatitis B. *J. Hepatol.* 39 (suppl. 1), S3-S25, 2003.
- [53] APASL (The Asian Pacific Association for the Study of the Liver). *J. Gastroenterol. Hepatol.* 19, 83-419, 2004.
- [54] Lok A.S., Mc Mahon B.J. AASLD Practice Guidelines. Chronic hepatitis B: Update of recommendation. *Hepatology* 39, 857-861, 2004.
- [55] Keeffe E.B., Dieterich D.T., Han S.B., et al. A treatment algorithm for the management of chronic hepatitis B virus infection in the United States: an update. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 4, 936-962, 2006.