- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.134.78.106 Sat, 27 Apr 2024, 19:31:02

Recenti Prog Med 2016; 107: 355-359

Epatite cronica B: standard di terapia e prospettive

MARIO RIZZETTO[1]

[1]Cattedra di Gastroenterologia, Istituto di Medicina Interna, Università di Torino.

Pervenuto su invito il 4 aprile 2016.

Riassunto. L'infezione da virus epatite B (HBV) è molto diminuita nella popolazione italiana negli ultimi 25 anni; al momento tutti gli italiani d'età sotto i 36 anni sono protetti dall'HBV per immunità vaccinale. Il problema si è spostato alla vasta popolazione di immigrati dai Paesi dove l'HBV rimane endemico; la prevalenza dell'infezione cronica è elevata, fino a circa il 10%. Nei prossimi 5 anni l'HBV diminuirà ulteriormente nella popolazione domestica per l'ulteriore incremento dell'età dei vaccinati e l'esaurimento delle classi d'età più avanzate, dove il virus ora persiste, mentre è prevedibile che il problema degli immigrati diverrà ancora più importante, condizionando nuove strategie di approccio e contenimento dell'epatite B in Italia. La terapia dell'epatite B è insoddisfacente, permette in quasi tutti i pazienti trattati con antivirali di controllare la replicazione del virus ma non di eradicarlo e porta alla sua eliminazione definitiva solo in pochi. L'obiettivo futuro sono terapie che mirano alla cura completa, non solo funzionale. Sono allo studio una miriade di nuovi farmaci ad azione antivirale diretta contro varie funzioni del ciclo vitale del virus; è tuttavia improbabile che raggiungano l'uso clinico nei prossimi cinque anni. Promettente nel breve termine lo sviluppo di profarmaci degli antivirali ora in uso, di cui il tenofovir alafenamide fumarato (TAF), profarmaco del tenofovir, sta entrando nella routine terapeutica.

Parole chiave. Epatite B, terapia antivirale HBV, vaccinazione HBV, virus epatite B.

Chronic hepatitis B: standard of therapy and perspectives.

Summary. Infection with the hepatitis B virus (HBV) has much diminished in Italy in the last 25 years; at present, all Italian nationals aged under 36 years are protected from HBV by vaccinal immunity. The problem of the infection has shifted to the immigrants from countries where HBV is still endemic; in this population the prevalence of the infection is high, up to 10% of the immigrants. In the next 5 years the prevalence of HBV is bound to further diminish in the domestic population, for the increment of the age of the subjects protected by mandatory HBV vaccination and for the natural exhaustion of the elderly cohorts of HBsAg carriers which represent the last domestic reservoir of the infection. Most likely, instead, the problem in immigrants will become more important, forcing new strategies to the approach and containment of HBV. Therapy of hepatitis B is not satisfactory; it allows the control of HBV replication and related disease but is not capable of clearing the virus; eradication of the HBsAg is achieved only in few patients. The future target are therapies aimed at eradicating the HBV, not only at containing its replication and disease expression. A miriad new drugs acting directly against functions necessary to the life cycle of the HBV are under study; it is unlikely, however, that they will enter clinical trials in the few years. More promising in the short term, it is the development of prodrugs of antivirals currently in use, of which tenofovir alafenamide (TAF), the prodrug of tenofovir, is the prototype, entering soon into therapeutic routine.

Key words. HBV antivirals, HBV vaccination, hepatitis B, hepatitis B virus.

La situazione epidemiologica

La chiave di accesso ai misteri dell'epatite virale è stata la scoperta, a metà degli anni '60 del secolo scorso, dell'Antigene Australia[1], riconosciuto in breve come il capside del virus dell'epatite B (HBV) e rinominato antigene di superficie dell'HBV (HBsAg)[2]. L'HBsAg ha di fatto inaugurato l'epatologia moderna, fin lì solo descrittiva, dando un volto all'epatite da siero già allora identificata su base epidemiologica, ma orfana di un agente eziologico[2]. Sono passati 50 anni; l'HBV è stato caratterizzato in ogni dettaglio molecolare, è stata approntata una diagnostica sensibile e affidabile, è divenuto da tempo disponibile un vaccino universalmente efficace, sono da 15 anni in uso valide terapie per controllare l'epatite B. Ci si aspetterebbe, quindi, che l'infezione da HBV fosse in inarrestabile declino se non in estinzione. La realtà è diversa. Malgrado i validi strumenti di prevenzione e contenimento, la prevalenza dell'infezione a livello mondiale è diminuita solo dal 4,2% del 1990 al 3,7% del 2005; dato peraltro fallace, perché, considerando l'incremento demografico, il numero totale di persone infette dall'HBV è salito nel frattempo da 223 a 240 milioni di individui[3].

Sembra un paradosso, ma non lo è se il dato globale viene scorporato per area geografica e condizioni socioeconomiche. Nei Paesi sviluppati la vaccinazione universale è in atto dai primi anni Novanta; paradigma ne è l'Italia, il primo Paese a istituirla obbligatoria nel 1991 nei neonati e nei dodicenni (in quest'ultimi per 12 anni consecutivi), sicché tutti gli italiani di età dai 36 anni in giù sono ora protetti dall'HBV. Vi è dunque nel nostro Paese un'immunità generale contro l'HBV ormai ben consolidata, dimostrata dal calo profondo e continuativo dell'incidenza dell'epatite B negli ultimi vent'anni.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.134.78.106 Sat, 27 Apr 2024, 19:31:02

È inevitabile che nei prossimi 5 anni l'infezione continui a declinare sia per l'incremento dell'età della popolazione vaccinata, che raggiungerà i 41 anni fra 5 anni, sia per l'esaurimento naturale delle classi d'età avanzata dove l'infezione è ancora presente. Residuerà e verosimilmente aumenterà l'epatite B negli immigrati, che ammontano ormai a oltre 5 milioni di individui, un decimo della popolazione italiana[4,5]. Mentre la prevalenza dell'HBV negli italiani è scesa sotto l'1%, negli immigrati è stimata dell'11%. Paradigmatico uno studio del 2008 a Vicenza[6], dove la prevalenza dell'HBsAg è stata solo dello 0,8% nei residenti ma del 6,4% negli immigrati. Nondimeno l'endemia dell'HBV nella popolazione immigrata non sta creando, e verosimilmente non creerà, problema alla popolazione domestica perché la solida immunità di gregge di quest'ultima impedisce un significativo travaso dell'infezione dall'una all'altra. Residuerà negli over 40 qualche epatite B acquisita soprattutto da rapporti sessuali con extracomunitari; tuttavia, in età adulta, l'epatite B decorre quasi sempre in modo acuto e tali forme sporadiche sono destinate a esaurirsi spontaneamente senza ricadute nella popolazione generale. Diversa la situazione in vari Paesi in via di sviluppo dove la vaccinazione è stata introdotta solo recentemente o è sopperita da enti benefici internazionali (Melinda e Bill Gates Foundation); in questi contesti la prevenzione è difficile da realizzare per motivi economici, organizzativi, logistici e anche culturali; pertanto, solo una frangia della popolazione è protetta e la maggioranza rimane suscettibile all'infezione da HBV.

Appare dunque che in Italia, come nel resto del mondo industrializzato, l'epatite B è in dismissione, ricapitolata solo in una nicchia circoscritta e segregata di immigrati, il cui impatto sulla salute pubblica del Paese è limitato. Al contrario, in vari Paesi in via di sviluppo vi è una riserva cospicua di infezione da HBV da prevenire, diagnosticare e curare. L'attenzione e le risorse per l'epatite B si vanno spostando nei Paesi ad alta endemia residua. Il divario epidemiologico che si sta approfondendo fra i due mondi ha rilevanza nell'attenzione e modo in cui viene perseguita l'epatite B dalla comunità scientifica e dalle aziende farmaceutiche, che sono al momento il vero motore dello sviluppo in quanto depositarie dell'approccio terapeutico.

Di fatto, in Italia la diversa epidemiologia dell'infezione da HBV nelle aree da cui provengono gli immigrati sta cambiando e condizionerà ancor di più nel prossimo futuro l'approccio nazionale al controllo dell'epatite B. Rispetto agli italiani, la popolazione degli immigrati infetta dall'HBV è più giovane, prevalgono infezioni altamente viremiche ma spesso clinicamente latenti, prevale l'epatite cronica HBeAg positiva e i genotipi dell'HBV sono diversi da quelli nostrani. Queste differenze comportano strategie preventive e terapeutiche diverse da quelle tradizionali. In Cina, per esempio, si va affermando, per l'elevata viremia di molte madri HBsAg positive, l'indicazione a prevenire l'infezione neonatale non solo vaccinando il neonato ma anche trattando la madre con un antivirale contro l'HBV nel terzo trimestre di gravidanza, per abbattere la carica viremica al momento del parto[7]. In più milioni di neonati vaccinati in Italia da quando è stata introdotta la vaccinazione nel 1991, i casi di trasmissione verticale dell'HBV scappati alla profilassi sono pochissimi; nondimeno il nuovo influsso di madri alto-viremiche porrà il problema se seguire la strategia combinata con gli antivirali, modificando i semplici protocolli di prevenzione neonatale dell'epatite B fin qui seguiti.

Resta, infine, il dubbio di quanto interesse rimarrà nell'industria a sviluppare nuove terapie per l'infezione da HBV, se queste saranno destinate quasi totalmente a un mondo economicamente poco solvente, ancora incapace di trovare le risorse per attuare il più importante e di gran lunga più economico strumento di lotta contro l'HBV che è la vaccinazione di massa.

Lo scenario dell'infezione da HBV in Italia nei prossimi 5 anni

Il problema residuo rimane la terapia. L'approccio terapeutico si basa sulla solida conoscenza acquisita nella patogenesi della malattia negli ultimi 20 anni. L'infezione è sostenuta dal virus ma il suo decorso clinico è influenzato dalla risposta immune, dunque la terapia è indirizzata sia a sradicare il virus sia a modulare la risposta immune individuale[8].

È ormai quasi tutto noto dei momenti del ciclo biologico dell'HBV, ciascuno dei quali è potenzialmente suscettibile ad attacco farmacologico. Il virus guadagna l'accesso all'epatocita attraverso l'interazione con il polipeptide co-trasportatore del Na/Taurocolato, recettore naturale per gli acidi biliari, che serve anche da recettore per l'HBsAg, interagendo con il dominio pre-S1 miristolato dell'antigene[9]. Il nucleocapside raggiunge il nucleo cellulare, dove il suo DNA virale circolare bicatenario (in cui è presente un filamento incompleto più corto) viene saldato in doppia elica completa e trasformato in DNA covalente chiuso circolare (cccDNA) dalla polimerasi virale[10]. Il cccDNA si complessa con istoni e altre proteine dell'ospite per formare un minicromosoma che funziona da cervello genetico; serve da stampo per la trascrizione di 3 classi di RNA virale, di cui due funzionano da messaggeri per la sintesi della proteina S e la proteina X; il terzo, più grande, di lunghezza genomica, codifica non solo per il core e la polimerasi virale ma serve anche come RNA pregenomico per la sintesi del DNA maturo via trascrizione inversa mediata sempre dalla polimerasi[11,12]. I vari trascritti, dopo ulteriori elaborazioni, partecipano alla formazione di nuovi virioni.

È convenzione distinguere il decorso clinico dell'infezione cronica da HBV in 5 fasi, di immunotolleranza (replicazione virale esuberante senza malattia), dell'epatite cronica HBeAg positiva, del portatore di HBsAg inattivo (replicazione virale minima senza malattia), dell'epatite cronica HBeAg negativa, dell'infezione da HBV occulta (virus presente solo nel

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.134.78.106 Sat, 27 Apr 2024, 19:31:02

fegato sotto forma di cccDNA, non malattia)[13]. Poiché il virus infettante è sempre lo stesso, è intuitivo che il sistema immune modula le varie fasi cliniche e la loro transizione l'una dall'altra. Il ruolo dell'immunità è conclamato nella fase di tolleranza virale, nel portatore inattivo e nell'infezione occulta; nelle ultime due, una sopraggiunta immunosoppressione riattiva la replicazione virale e suscita danno epatico importante[14,15].

Molti studi implicano l'immunità adattiva e innata nell'eliminazione del virus e la risposta T cellulare è verosimilmente implicata sia della clearance virale sia nel danno epatico; tuttavia, nessun preciso percorso immunologico è stato finora identificato come meccanismo patogeno e nessun farmaco specifico per modulare l'attività immunologia antivirale è stata sviluppato. L'unico antivirale mirato a suscitare le difese dell'ospite rimane il vetusto IFN introdotto in terapia nel 1991.

La terapia attuale

Dal 1998 sono divenuti disponibili 5 farmaci ad azione antivirale diretta (DAA=Direct Acting Antivirals) capaci di inibire la replicazione virale bloccando l'attività della polimerasi/trascrittasi inversa dell'HBV: la lamivudina nel 1998, l'adefovir nel 2002, l'entecavir nel 2005, la telbivudina nel 2006 e il tenofovir nel 2008[16].

Lamivudina, adefovir e telbivudina non sono più usati perché gravati dal rischio di emergenza di resistenza virale, che non solo vanifica la terapia ma può modificare la struttura genomica dell'HBV, rendendolo resistente anche all'uso di successivi antivirali. Rimangono in uso l'entecavir e il tenofovir. Il problema è che pur diminuendo rapidamente e profondamente il titolo di HBV-DNA sierico (fino a 9 log dall'originale), essi non riescono a ridurre con tanta efficacia l'HBV-DNA intraepatico. Il cccDNA è una struttura molto stabile, ben nascosta e protetta nel nucleo cellulare, inaccessibile alle attuali terapie antivirali[17]; con gli attuali dosaggi terapeutici, anche nei pazienti trattati in cui la viremia non è più determinabile in PCR, rimangono consistenti quantità di DNA virale (spesso attorno ai 2 log residui) che ripristinano continuamente il cccDNA nucleare attraverso il riciclo dei nucleocapsidi virali nella cellula[18].

Dunque entecavir e tenofovir non riescono a sradicare l'infezione da HBV ma solo a controllare la viremia; il paziente rimane HBsAg positivo. L'abbattimento dell'HBV-DNA plasmatico è rapido ma la viremia si riattiva prontamente alla sospensione della terapia. L'indicazione attuale è pertanto quella di somministrare continuativamente i DAA; il giovamento clinico è immediato, l'infiammazione epatica recede e le transaminasi si normalizzano. Continuando la terapia, recede negli anni anche la fibrosi epatica, con miglioramento degli score istologici e dell'ipertensione portale[19]. Tuttavia, non è annullato il rischio dell'epatocarcinoma, pur persistendo inattiva l'infezione virale.

Due le strategie consentite dalla disponibilità farmacologica attuale[20]:

1. il Peg Interferone (Peg-IFN), terapia di durata finita che non suscita resistenza: può indurre controllo immunologico fino all'eliminazione dell'HBsAg ma questo evento è infrequente, soprattutto nella casistica italiana costituita in gran parte da epatiti croniche HBeAg-negative di genotipo HBV D. Oltre alla limitata efficacia, è temuto svantaggio la scarsa tolleranza dell'IFN, per i frequenti effetti collaterali avversi;
2. gli antivirali diretti di ultima generazione, tenofovir ed entecavir: controllano l'infezione in oltre il 90% dei casi ma non riescono a sradicare il virus. Sono ben tollerati, senza problema di resistenza farmacologia. Svantaggio maggiore è la necessità di proseguire la terapia per tempo ancora indefinito; in presenza di HBsAg la loro sospensione, anche tardiva, è seguita dalla riaccensione della viremia e dalla ripresa della malattia epatica. Tentativi di combinare il Peg-IFN con un antivirale o combinare due antivirali insieme non hanno aumentato significativamente la risposta terapeutica[21] e nessuna strategia di combinazione è al momento raccomandata nella pratica terapeutica[14,22].

Le attuali terapie procurano, dunque, una cura funzionale definita dall'abbattimento dell'HBV-DNA circolante; nondimeno, il cccDNA persiste inalterato, capace di ricapitolare malattia e viremia in situazioni di sopraggiunta immunodepressione.

La cura vera comporterebbe l'eliminazione del cccDNA o l'abolizione della sua espressione.

Le prospettive terapeutiche

Preso atto dello stallo attuale della terapia dell'epatite cronica B, la sfida per i prossimi anni è la cura completa.

L'approccio diretto a distruggere il cccDNA o inibirne l'espressione genica è iniziale. Poiché la sua funzione è regolata dal cosiddetto "codice degli istoni" su cui si ripiega la molecola per formare il minicromosoma virale, sono in studio istone-deacetilasi che rimuovono gruppi acetilici dalle code istoniche e potrebbero avere un ruolo nel modulare l'attività trascrizionale degli RNA virali copiati sul minicromosoma virale[8,20,23]. Varie altre strategie sono state proposte[20,24,25]; un importante progresso è lo sviluppo della tecnologia CRISPR-Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats)[26,27], capace di alterare il cccDNA riducendo la replicazione virale; promettente anche l'uso di una sulfonamide disostituita[28]. Il problema è che le manipolazioni del materiale genetico virale richiedono la massima prudenza in quanto potrebbero promuovere l'insorgenza di epatocarcinoma.

L'attenzione terapeutica si sta rivolgendo anche a numerosi altri approcci mirati a funzioni del ciclo replicativi dell'HBV finora non considerate come target

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.134.78.106 Sat, 27 Apr 2024, 19:31:02

terapeutico. Sono al momento in studio almeno 21 antivirali "diretti" il cui obiettivo è inibire la formazione del capside virale o la secrezione dell'HBsAg, reprimere l'Rnase H della polimerasi per degradare l'RNA pregenomico, silenziare l'espressione genica con minuscole molecole di RNA interferenti di 21-25 nucleotidi che inibiscono l'RNA messaggero omologo prevenendo la sintesi delle proteine virali corrispondenti. Il primo RNAi usato nell'uomo è ARC-520[29]: una dose intravena ha indotto una significativa riduzione del DNA virale, dell'HBeAg e dell'HBsAg in pazienti con epatite cronica B prima non trattati. In pazienti trattati con entecavir, già negativi per HBV-DNA, la riduzione dell'HBsAg plasmatico è stata meno marcata.

Il progresso terapeutico nei prossimi 5 anni

Quale potrà essere nei prossimi 5 anni la ricaduta nella pratica terapeutica dei molti antivirali ora in fase preclinica? Verosimilmente ancora minima! Molte delle ditte minori che sono scese nell'arena sembrano andare alla pesca di un prodotto credibile da vendere e trasferire ad aziende farmaceutiche maggiori per lo sviluppo clinico. La loro sorte è incerta; anche per le più fortunate il processo completo di sviluppo di un farmaco potenzialmente efficace richiederà verosimilmente ancora più anni. Il più concreto dei nuovi approcci terapeutici sembra l'uso di RNA interferenti, silenziatori della trascrizione del materiale genetico dell'HBV. Essi rappresentano in teoria un enorme vantaggio per la loro efficacia e versatilità. Il loro uso sta guadagnando credibilità, ma il problema dell'accesso all'epatocita rappresenta finora l'ostacolo maggiore nel loro sviluppo.

Si va accumulando l'evidenza che pazienti trattati per molti anni con DAA eliminano l'HBsAg, a riprova che questi farmaci possano sradicare l'infezione virale se usati per lungo tempo; la clearance dell'antigene seguita dalla comparsa dell'omologo anticorpo anti-HBs è riscontrata nel 10% dei pazienti trattati per oltre 5 anni[21]. Un effetto inibitorio più marcato richiederebbe un aumento sostanziale della quantità di antivirale somministrato, con ovvii problemi di tolleranza e sicurezza. Il successo e le problematiche con i DAA attuali hanno promosso l'interesse per i loro profarmaci[22], precursori che vengono trasformati dal metabolismo cellulare in farmaco attivo; l'obiettivo è migliorarne la farmacocinetica e la tolleranza, aumentandone la solubilità, l'assorbimento tissutale e l'emivita così da poterli somministrare con più frequenza del farmaco attivo.

Sono al momento in fase 3 di sperimentazione due profarmaci del tenofovir, CMX157[30] e il tenofovir alafenamide fumarato (TAF)[31].

CMX è un coniugato lipidico del tenofovir che ha superato le prime fasi precliniche di sperimentazione.

Il TAF è precursore fosfonoamidato che viene convertito a tenofovir nelle cellule epatiche dove raggiunge alte concentrazioni, mentre diminuisce considerevolmente la sua concentrazione nel sangue rispetto al tenofovir. Il dosaggio di 25 mg/die per bocca di TAF si è dimostrato efficace quanto 245 mg di tenofovir nell'abbattere l'HBV; l'esposizione sistemica si è ridotta tuttavia di più del 90%[32]. In studi recenti, TAF alla dose di 25 mg si è dimostrato non inferiore al tenofovir 300 mg, sia nei pazienti HBeAg-positivi sia in quelli negativi, inducendo in 48 settimane controllo dell'HBV-DNA sotto 29 IU/ml, nel 64% dei primi e nel 94% dei secondi (Gilead Sciences Press Release, 5 gennaio 2016). Per la sua capacità di sopprimere l'HBV-DNA con un decimo della dose di tenofovir è verosimile che il suo uso potrà essere prolungato nel tempo minimizzando i rischi attuali sul rene e sull'osso del tenofovir.

È ancora agli inizi lo sviluppo clinico di farmaci capaci di indurre la risposta immune contro l'HBV[33].

Nell'epatite cronica B la risposta immune dei linfociti T è difettiva, inibita dalla prolungata esposizione agli antigeni virali che porta all'esaurimento funzionale delle cellule immunocompetenti. Per recuperarla, vengono proposte due strategie: riattivare l'immunità innata non specifica e quella adattiva specifica contro l'HBV. Nella prima strategia un approccio promettente coinvolge i recettori toll-like (TLR). La somministrazione di agonisti dei TLR promuove la sintesi di interferone di tipo 1 e di altre citochine che attivano cellule natural killer e potenziano l'immunità innata contro l'HBV. L'agonista del TLR-7 sviluppato da Gilead (GS 9620) ha indotto nella marmotta[34] e nello scimpanzé[22] inibizione prolungata dell'HBV-DNA e ha diminuito il titolo di HBsAg e HBeAg circolanti. GS 9620 è in fase 2 di sviluppo clinico nell'uomo in combinazione con tenofovir[35]. Per potenziare l'immunità specifica contro l'HBV, sono in sviluppo vari vaccini terapeutici contro peptidi del virus[36]. Uno studio pilota con il prototipo Gilead GS 4774, un lievito ricombinante denaturato al calore che esprime proteine delle regioni S, core e HBx dell'HBV, è in corso nell'uomo[22].

Conflitto di interessi: l'autore dichiara l'assenza di conflitto di interessi.

Bibliografia

1. Blumberg BS, Alter HJ, Visnich S. A "new" antigen in leukemia sera. JAMA 1965; 191: 541-6.
2. Robinson WS, Lutwick LI. The virus of hepatitis, type B. N Engl J Med 1976; 295: 1168-75.
3. Liang TJ, Block TM, McMahon BJ, et al. Present and future therapies of hepatitis B: From discovery to cure. Hepatology 2015; 62: 1893-908.
4. Almasio PL, La Mantia M. L'epatite virale nei migranti. ReaAd files 2015; 4: 16.
5. El-Hamad I, Pezzoli MC, Chiari E, et al. Point-of-care screening, prevalence, and risk factors for hepatitis B infection among 3,728 mainly undocumented migrants from non-EU countries in northern Italy. J Travel Med 2015; 22: 78-86.
6. Fabris P, Baldo V, Baldovin T, et al. Changing epidemiology of HCV and HBV infections in Northern Italy: a survey in the general population. J Clin Gastroenterol 2008; 42: 527-32.
7. Chen HL, Lee CN, Chang CH, et al. Efficacy of maternal tenofovir disoproxil fumarate in interrupting mother-to-infant transmission of hepatitis B virus. Hepatology 2015; 62: 375-86.

- Copyright - Il Pensiero Scientifico Editore downloaded by IP 3.134.78.106 Sat, 27 Apr 2024, 19:31:02

8. Koumbi L. Current and future antiviral drug therapies of hepatitis B chronic infection. World J Hepatol 2015; 7: 1030-40.
9. Ni Y, Lempp FA, Mehrle S, et al. Hepatitis B and D viruses exploit sodium taurocholate co-transporting polypeptide for species-specific entry into hepatocytes. Gastroenterology 2014; 146: 1070-83.
10. Zoulim F. New insight on hepatitis B virus persistence from the study of intrahepatic viral cccDNA. J Hepatol 2005; 42: 302-8.
11. Bock CT, Schwinn S, Locarnini S, et al. Structural organization of the hepatitis B virus minichromosome. J Mol Biol 2001; 307: 183-96.
12. Seeger C, Zoulim E, Mason WS. Hepadnaviruses. In: Knipe DM, Howley PM (eds). Field's Virology. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2014.
13. McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. Hepatology 2009; 49: S45-55.
14. Lampertico P, Maini M, Papatheodoridis G. Optimal management of hepatitis B virus infection - EASL Special Conference. J Hepatol 2015; 63: 1238-53.
15. Lok AS, Ward JW, Perrillo RP, et al. Reactivation of hepatitis B during immunosuppressive therapy: potentially fatal yet preventable. Ann Intern Med 2012; 156: 743-5.
16. Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. Hepatology 2009; 50: 661-2.
17. Block TM, Gish R, Guo H, et al. Chronic hepatitis B: what should be the goal for new therapies? Antiviral Res 2013; 98: 27-34.
18. Coffin CS, Mulrooney-Cousins PM, Peters MG, et al. Molecular characterization of intrahepatic and extrahepatic hepatitis B virus (HBV) reservoirs in patients on suppressive antiviral therapy. J Viral Hepat 2011; 18: 415-23.
19. Bedossa P. Reversibility of hepatitis B virus cirrhosis after therapy: who and why? Liver Int 2015; 35 Suppl 1: 78-81.
20. Zoulim F, Durantel D. Antiviral therapies and prospects for a cure of chronic hepatitis B. Cold Spring Harb Perspect Med 2015; 5. pii: a021501.
21. Kao JH. HBeAg-positive chronic hepatitis B: why do I treat my patients with pegylated interferon? Liver Int 2014; 34 (suppl 1): 112-9.
22. Block TM, Rawat S, Brosgart CL. Chronic hepatitis B: a wave of new therapies on the horizon. Antiviral Res 2015; 121: 69-81.
23. Pollicino T, Belloni L, Raffa G, et al. Hepatitis B virus replication is regulated by the acetylation status of hepatitis B virus cccDNA-bound H3 and H4 histones. Gastroenterology 2006; 130: 823-37.
24. Belloni L, Allweiss L, Guerrieri F, et al. IFN-α inhibits HBV transcription and replication in cell culture and in humanized mice by targeting the epigenetic regulation of the nuclear cccDNA minichromosome. J Clin Invest 2012; 122: 529-37.
25. Belloni L, Pollicino T, De Nicola F, et al. Nuclear HBx binds the HBV minichromosome and modifies the epigenetic regulation of cccDNA function. Proc Natl Acad Sci U S A 2009; 106: 19975-9.
26. Kennedy EM, Bassit LC, Mueller H, et al. Suppression of hepatitis B virus DNA accumulation in chronically infected cells using a bacterial CRISPR/Cas RNA-guided DNA endonuclease. Virology 2015; 476: 196-205.
27. Seeger C, Sohn JA. Targeting Hepatitis B Virus With CRISPR/Cas9. Mol Ther Nucleic Acids 2014; 3: e216.
28. Cai D, Mills C, Yu W, et al. Identification of disubstituted sulfonamide compounds as specific inhibitors of hepatitis B virus covalently closed circular DNA formation. Antimicrob Agents Chemother 2012; 56: 4277-88.
29. Fung Yuen M, Yuen Chan HL, Kevin Liu SH, et al. ARC-520 produces deep and durable knockdown of viral antigens and DNA in a phase II study in patients with chronic hepatitis B. Abstract LB-9, Hepatology 2015; 62 Suppl 1.
30. Lanier ER, Ptak RG, Lampert BM, et al. Development of hexadecyloxypropyl tenofovir (CMX157) for treatment of infection caused by wild-type and nucleoside/nucleotide-resistant HIV. Antimicrob Agents Chemother 2010; 54: 2901-9.
31. Menéndez-Arias L, Álvarez M, Pacheco B. Nucleoside/nucleotide analog inhibitors of hepatitis B virus polymerase: mechanism of action and resistance. Curr Opin Virol 2014; 8: 1-9.
32. Agarwal K, Fung SK, Nguyen TT, et al. Twenty-eight day safety, antiviral activity, and pharmacokinetics of tenofovir alafenamide for treatment of chronic hepatitis B infection. J Hepatol 2015; 62: 533-40.
33. Isorce N, Lucifora J, Zoulim F, Durantel D. Immunemodulators to combat hepatitis B virus infection: from IFN-α to novel investigational immunotherapeutic strategies. Antiviral Res 2015; 122: 69-81.
34. Menne S, Tumas DB, Liu KH, et al. Sustained efficacy and seroconversion with the Toll-like receptor 7 agonist GS-9620 in the Woodchuck model of chronic hepatitis B. J Hepatol 2015; 62: 1237-45.
35. Gane EJ, Lim YS, Gordon SC, et al. The oral toll-like receptor-7 agonist GS-9620 in patients with chronic hepatitis B virus infection. J Hepatol 2015; 63: 320-8.
36. Michel ML, Bourgine M, Fontaine H, Pol S. Therapeutic vaccines in treating chronic hepatitis B: the end of the beginning or the beginning of the end? Med Microbiol Immunol 2015; 204: 121-9.

Indirizzo per la corrispondenza:
Prof. Mario Rizzetto
SC Gastroenterologia
AOU Città della Salute e della Scienza
Corso Bramante 88/90
10126 Torino
E-mail: mario.rizzetto@unito.it