

**MINISTERUL SĂNĂTĂȚII, MUNCII ȘI PROTECȚIEI SOCIALE
AL REPUBLICII MOLDOVA**

**INSTITUȚIA PUBLICĂ UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ
ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU”**

Cu titlu de manuscris
CZU: 616.36-002.2-053.2-08(043)

Raba Tatiana

**HEPATITELE VIRALE B ȘI C CRONICE LA COPII:
PARTICULARITĂȚILE CLINICE, IMUNOLOGICE, EVOLUTIVE
ȘI OPTIMIZAREA TRATAMENTULUI ANTIVIRAL**

**321.09 – BOLI INFECȚIOASE, TROPICALE ȘI PARAZITOLOGIE
MEDICALĂ**

Autoreferatul tezei de doctor habilitat în științe medicale

CHIȘINĂU, 2018

Teza a fost elaborată în Departamentul Pediatrie, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, la baza clinică universitară subdiviziunea hepatologie, IMSP SCRC „Em. Coțaga” (în prezent Clinica, Institutul Mamei și Copilului).

Consultanți științifici:

DUMBRAVA Vlada-Tatiana, dr. hab. șt. med., prof. univ., Om Emerit (321.01)
PÂNTEA Victor, dr. hab. șt. med., prof. univ. (321.09)

Referenți oficiali:

MORARU Eovelina, dr. șt. med., prof. univ, UMF „Gr.T. Popa”, Iași, România
ȚÎBÎRNĂ Ion, dr. hab. șt. med., prof. univ. (321.01)
TCACIUC Eugen, dr. hab. șt. med., conf. univ. (321.01)

Componența consiliului științific specializat:

PRISĂCARI Viorel, președinte, membru corespondent AȘM, dr.hab.șt.med.,
prof. univ, Om Emerit

COJUHARI Lilia, secretar științific, dr. șt., med., conf. univ.

GHINDA Serghei, dr. hab. șt. med., prof. cercetător

HOLBAN Tiberiu, dr. hab. șt. med., prof. univ.

LUCA Mihaela-Cătălina, dr. șt. med., prof. univ., UMF „Gr.T. Popa”, Iași, România

BACINSCHI Nicolae, dr. hab. șt. med., conf. univ.

BODRUG Nicolae, dr. hab. șt. med., prof. univ.

GUDUMAC Valentin, dr. hab. șt. med., prof. univ.

RUDIC Valeriu, dr. hab. șt. med., prof. univ., academician

Susținerea va avea loc la 28.06. 2018, ora 12⁰⁰ în ședința Consiliului științific specializat DH 50.321.09-01 din cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova (Bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 165, Chișinău, MD-2004).

Teza de doctor habilitat și autoreferatul pot fi consultate la biblioteca Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova (Bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 165, Chișinău, MD-2004) și pe pagina web a CNAA/ANACEC (www.cnaa.md).

Autoreferatul a fost expediat la _____ 2018

Secretar științific al Consiliului științific specializat:

COJUHARI Lilia

dr. șt. med., conf. univ.

Consultanți științifici:

DUMBRAVA Vlada-Tatiana, dr. hab. șt. med.,
prof. univ., Om Emerit

PÂNTEA Victor, dr. hab. șt. med., prof. univ.

Autor:

Raba Tatiana, dr șt. med., conf. univ.

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea temei. Hepatitele virale B (HVBC) și C (HVCC) cronice la copii reprezintă o problemă importantă pentru sistemul de sănătate publică, cu un impact social comparabil cu cel al infecției HIV, tuberculozei și malariei [1, 3, 18]. În ciuda progreselor științifice avansate, aplicării programelor globale și naționale de profilaxie nespecifică și specifică prin vaccinare antiHVB a copiilor, tratamentului antiviral puțin eficient recomandat la ora actuală la copii, VHB și VHC rămân cei mai importanți factori etiologici infecțioși, cu risc major de cronicizare începând din copilărie [4, 20, 21]. La copii ponderea infecțiilor cronice cu VHB și VHC în structura morbidității și mortalității în plan mondial rămâne puțin cunoscută [8, 19, 20]. Cel mai frecvent sursa de infecție cu VHB sau VHC pentru copii sunt mamele lor purtătoare de AgHBs sau cu HVBC sau HVCC [14, 22, 24]. Infectarea cu VHC a copiilor poate avea loc prenatal (intrauterin, transplacentar), intranatal (în perioada travaliului) de către femeile gravide infectate cronic cu VHC, sau postnatal, în primele luni după naștere, în perioada de îngrijire [10, 24, 25]. Contractarea VHB de către nou-născut în travaliu conduce în 90% din cazuri la cronicizare, iar de copiii de vârstă 1-5 ani – în 20-50% [5, 7, 11]. Infecția cu VHB sau VHC realizată la o vârstă mică a copilului duce la cronicizare precoce și o evoluție nefavorabilă a maladiei hepatice, cu efecte invalidante la vârsta adultului tânăr, apt de muncă [6, 15, 16].

Descrierea situației în domeniu și identificarea problemelor de cercetare. Studiile recente efectuate în populația pediatrică estimează că 3-5% dintre copii și 0,01-0,03% dintre adolescenții cu HVBC dezvoltă ciroza hepatică (CH) sau hepatocarcinomul (HCC) înainte de a atinge vârsta maturității [9, 11, 22]. Mecanismele imunopatogenetice și a celor de fibrozare hepatică induse de VHB și VHC sunt complexe și au la bază interacțiunea virusului cu sistemul imun al copilului infectat [11, 12, 17]. Modificările patologice produse de VHB sau VHC la copiii infectați se presupune că sunt mediate imunologic și endocrin [6, 10, 13]. Cercetările din ultimii ani au fost direcționate spre studierea reacțiilor și a mecanismelor imune în HVBC și HVCC la copii [8, 9, 18]. Rolul imunității congenitale în imunopatogeneza HVBC și HVCC la copii, în special al limfocitelor T (CD3) și al subpopulațiilor lor, a citokinelor proinflamatorii nu a fost studiat îndeajuns. Aceste aspecte reprezintă punctul-cheie în domeniul cercetărilor științifice actuale ce vizează problematica HVBC și HVCC la copii [8, 9, 13].

Scopul cercetării: stabilirea particularităților etiopatogenetice, clinico-imunologice și evolutive ale diferitor forme clinice de HVBC și HVCC la copii, monitorizarea procesului evolutiv cronic, determinarea factorilor de risc pentru cronicizare și progresie a diverselor forme clinice ale

acestor boli, elaborarea algoritmilor de diagnostic precoce și diferențial, optimizarea tratamentului antiviral, pentru creșterea șanselor de vindecare și ameliorare a calității vieții acestor pacienți.

Obiectivele cercetării:

1. Studiarea particularităților clinico-evolutive ale HVCB și HVCC la copii, în funcție de vârstă, gen, durata bolii, forma clinică, și estimarea sindroamelor clinice de bază (citoliză, coleastăză, hepatopriv, dishormonal), în funcție de etiologia virală și activitatea procesului cronic hepatic la copii de diferite vârste în vederea scăderii riscului de evoluție nefavorabilă a acestor maladii.
2. Aprecierea statusului imun celular și umoral la pacienții cu HVCB și HVCC luați în studiu, în funcție de viremia VHB sau VHC și activitatea procesului inflamator hepatic, cu explicarea aspectelor noi vizând patogeneza și particularitățile imunologice, în funcție de forma clinică și activitatea bolii, pentru individualizarea strategiilor terapeutice aplicate.
3. Analiza interacțiunilor corelative și a interdependenței dintre parametrii clinici, faza procesului viral și gradul de activitate al procesului cronic inflamator hepatic.
4. Evidențierea modificărilor ecografice, histologice și ale elasticității hepatice la copiii cu HVBC și HVCC, în funcție de activitatea procesului cronic inflamator hepatic.
5. Determinarea criteriilor sensibile de diagnostic diferențial dintre diverse forme clinice de HVBC și HVCC la copiii de diferite vârste.
6. Evaluarea eficacității tratamentului antiviral cu INF alfa 2b pegilat (sau standard) monoterapie în HVBC și combinat cu ribavirină în HVCC la copii de diferită vârstă, în dependență de activitatea procesului cronic hepatic.
7. Evaluarea eficacității remediului autohton pacovirină cu acțiune imunomodulatorie, antivirală, antioxidantă, ca inductor de interferon, în comparație cu tratamentul standard cu hepatoprotectoare în HVBC și HVCC la copii, în funcție de activitatea procesului cronic hepatic și optimizarea principiilor de tratament.
8. Elaborarea algoritmului diagnostic pentru pacienții cu HVBC și cei cu HVCC de vârste diferite.
9. Completarea algoritmilor de tratament antiviral și neviral în HVBC și HVCC la copii în funcție de viremie și activitatea procesului inflamator hepatic.

Metodologia generală a cercetării. Pentru realizarea scopului și obiectivelor cercetării propuse au fost efectuate trei tipuri de studii: **descriptiv**, cu descrierea unor aspecte epidemiologice ale HVBC și HVCC la copiii din Republica Moldova, în perioada anilor 2006-2016; **de cohortă transversal**, cu determinarea eșantionului principal al cercetării; **clinic controlat**, cu determinarea eficacității metodelor de tratament antiviral și neviral. Drept instrument de cercetare au fost utilizate datele statisticii oficiale despre morbiditate, invaliditate și mortalitate generate de HVBC și HVCC,

la copii în Republica Moldova. Acest studiu științific a fost realizat conform prevederilor a două Programe Naționale de combatere a hepatitelor virale B, C, D în Republica Moldova, în perioada anilor 2008-2012, respectiv 2012-2016 (coordonator de programe - Spînu Constantin, Om Emerit, dr. hab. șt. med., prof. universitar, ANSP - Agenția Națională de Sănătate Publică, specialist principal în virusologie al Ministerului Sănătății, Republica Moldova) în trei etape, descrise în capitolul „Material și metode”. Rezultatele obținute au fost evaluate și analizate prin intermediul programelor Statistica 6.0 (Statsoft Inc) și EXCEL, utilizând funcțiile și modulele acestor programe.

Noutatea și originalitatea științifică. În premieră, în Republica Moldova, pentru copiii cu HVBC și HVCC a fost propusă o nouă viziune de abordare a imunității celulare, în special a celulelor CD3 și a subpopulațiilor lor determinate prin metoda care utilizează anticorpi (Ac) monoclonali, ca și criteriu important de diagnostic și prognostic, în funcție de gradul de fibroză și activitatea procesului inflamator hepatic. Prin contribuțiile autoarei, pentru prima dată în plan național, a fost elaborat programul de tratament antiviral al HVBC și HVCC la copii, cu interferon alfa 2b pegilat (monoterapie) în HVBC și combinat cu ribavirină în HVCC, care este aplicat și în prezent. Pentru prima dată în Republica Moldova, dar și în plan mondial, în tratamentul HVBC și HVCC, la copii, a fost utilizat fitoremediul autohton pacovirina, ca metodă alternativă de tratament, care posedă proprietăți ca inductor de interferon, cu efect antiviral, antioxidant și imunomodulator. Au fost elaborate criteriile de monitorizare pe termen lung și determinarea în dinamică a limfocitelor T (CD3) și a subpopulațiilor lor, la copiii cu HVBC și HVCC, supuși anterior tratamentului antiviral. A fost propusă o viziune nouă de abordare a mecanismelor imunopatogenetice de cronicizare a HVBC și HVCC la copii prin intermediul stresului cronic infecțios mediat imuno-endocrin. S-a efectuat stadializarea procesului cronic inflamator hepatic în HVBC și HVCC pentru copii, prin metode invazive (histologice) și neinvazive (elastometrie și FibroTest).

Rezultatele principal noi de cercetare în știință și practică, obținute în urma studiilor efectuate, a fost fundamentată o viziune nouă privind implicațiile imunității celulare în patogeneza HVBC și HVCC, cu formarea dezechilibrului cantitativ al celulelor T limfocitare CD3 și a subpopulațiilor lor, pe fundalul evidențierii sindromului de stres cronic infecțios și a insuficienței imune cronice. Rezultatele obținute au demonstrat rolul important al citokinelor proinflamatorii (IL-2, IL-6, TNF- α) și interacțiunea lor cu celulele T limfocitare CD3 pozitive, și a subpopulațiilor lor, ca mediatori imuno-endocrini în procesul cronic inflamator viral, în special a IL-2, și rolul acestora în patogeneza HVBC și HVCC la copii și menținerea persistentă a stresului cronic infecțios. Aceasta permite selectarea cu precauție a pacienților cu aceste hepatopatii pentru tratamentul etiopatogenetic, inclusiv cu utilizarea remediilor de alternativă.

Semnificația teoretică. Rezultatele cercetării au permis, în premieră elucidarea aspectelor contemporane imunologice vizând patogeneza HVBC și HVCC în funcție de vârstă, forma clinică, activitatea procesului cronic hepatic viral, diagnosticul și particularitățile de evoluție ale diferitor forme clinice la copii. A fost fundamentată semnificația clinică a mediatorilor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α în patogeneza HVBC și HVCC la copii, corelația lor cu nivelul viremiei VHB sau VHC și activitatea procesului cronic inflamator hepatic. Au fost prezentate separat modificările statusului imunității umorale și celulare pentru fiecare formă a bolii pretratament și pe parcursul tratamentului antiviral în HVBC (monoterapie cu interferon alfa 2b) și HVCC (combinat cu ribavirină) la copii. Pentru prima dată în plan național, dar și mondial la copiii cu HVBC și HVCC cu vârsta de 3-18 ani și contraindicații la tratamentul clasic antiviral cu interferon alfa 2b sau/și ribavirină a fost demonstrată eficacitatea remediei fitoterapeutice autohtone pacovirina cu acțiune antivirală, imunomodulatorie, antioxidantă, ca inductor de interferon în comparație cu remediile hepatoprotectoare. Au fost prezentate separat modificările statusului imunității umorale și celulare pentru fiecare formă a bolii pretratament și pe parcursul tratamentului antiviral în HVBC (monoterapie cu interferon alfa 2b) și HVCC (combinat cu ribavirină) la copii. Pentru prima dată, la 33 de copii cu HVBC și HVCC cu vârsta de 3-18 ani și contraindicații la tratamentul clasic antiviral cu interferon alfa 2b sau/și ribavirină, a fost utilizat remediu fitoterapeutic autohton pacovirina cu acțiune antivirală, imunomodulatorie, antioxidantă, ca inductor de interferon, cu estimarea eficacității în comparație cu tratamentul standard cu remedii hepatoprotectoare.

Valoarea aplicativă a lucrării. Rezultatele cercetării demonstrează necesitatea de a investiga toți copiii de diferită vârstă, depistați primar cu hepatomegalie și tulburări ale funcțiilor hepatice, la marcherii de fază acută și cronică a VHB și VHC, în scopul depistării precoce a formelor cronice. Pentru prevenirea infectării perinatale a nou-născuților cu VHB sau VHC de către mamele infectate cronic, este necesară creșterea nivelului de educație sanitară a populației generale și examinarea femeilor de vârstă fertilă nu numai la AgHBs și antiVHC totali, dar și la AgHBe și ADN VHB (în cazul celor cu AgHBs pozitiv) și ARN VHC cantitativ în caz de antiVHC totali pozitivi în perioada adolescenței, preconcepțională, în trimestrele I și II ale sarcinii. Copiii mamelor infectate cu VHB în faza de viremie activă necesită vaccinare antiHVB în primele 12 ore după naștere și administrarea concomitentă a imunoglobulinei specifice IgHVB, cu efectuarea vaccinării cu următoarele 3 doze, conform Calendarului Național de Imunoprofilaxie. Tratamentul antiviral în HVBC și HVCC la copii cu interferon alfa 2b pegilat, dar și neviral cu pacovirină și remedii hepatoprotectoare ameliorează starea generală a pacienților pediatrici, suprimă viremia, contribuind la creșterea ratei de vindecare sau ameliorare.

Rezultatele științifice principale înaintate spre susținere: 1) Prin studii complexe interdisciplinare au fost evidențiate particularitățile clinico-paraclinice și anatomomorfologice ale HVBC și HVCC în funcție de vârstă, sex, faza procesului viral și de formele clinice evolutive. 2) La copiii de diferite vârste suferinzi de HVBC și HVCC au fost identificați factorii de risc major de infectare cu VHB și VHC, cu predominarea celui perinatal (intranatal și postnatal de la mamele infectate cronic) și parenteral. 3) *A fost determinată interrelația dintre activitatea procesului viral indus de VHB sau VHC și reacția inflamatorie, cu analiza eficacității tratamentului antiviral cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard) la copiii cu HVBC și HVCC.* 4) *Au fost elaborați algoritmi de diagnostic precoce și diferențial în diferite forme evolutive de HVBC și HVCC, inclusiv în cazul copiilor infectați perinatal.* 5) *Au fost elaborate metode originale de tratament alternativ și inofensiv pentru copiii de diferite vârste, prin utilizarea remediului autohton pacovirină, optimizate principiile de tratament pentru copiii cu HVBC și HVCC.* 6) Au fost prezentate separat modificările statusului imunității umorale și celulare pentru fiecare formă a bolii manifestate pretratament și pe parcursul tratamentului antiviral (monoterapie cu interferon alfa 2b în HVBC și combinată cu ribavirină în HVCC) la copii cu necesitatea determinării în dinamică a statusului imun celular. 7) Au fost evidențiate particularitățile biochimice, imunologice și anatomomorfologice ale HVBC și HVCC la copii de diferite vârste, care vor permite medicului practician identificarea semnelor precoce ale maladiei și selectarea diferențiată a tratamentului optim antiviral și neviral. 8) *A fost demonstrate faptul că fitopreparatul autohton de origine vegetală pacovirina are proprietăți de inductor al interferonului endogen și indirecte cu diminuare lentă a viremiei și a activității procesului inflamator în HVBC și HVCC la copii.* 9) Au fost elaborate criterii precoce de diagnostic diferențial al diferitor forme clinice evolutive și a celor asimptomatice de HVBC și HVCC la copii. 10) În funcție de forma evolutivă a HVBC și HVCC la copii, au fost elucidate mecanismele imunologice - aspecte noi cu privire la patogeneză, ținând cont de agentul etiologic, nivelul viremiei și activitatea procesului cronic inflamator hepatic.

Implementarea rezultatelor științifice: rezultatele obținute au fost utilizate în activitatea secției de hepatologie a SCRC “Em. Coțaga” în perioada anilor 2006-2015, în cadrul procesului didactic de instruire a studenților, medicilor rezidenți, cursanților (monografie, indicație metodică, compartiment în manualul “Pediatrie” sub redacția prof. univ. Revenco N.) și în practica medicală cotidiană a medicilor de familie din teritoriile republicii. Autorul a avut contribuție personală, în calitate de membru al grupului de lucru, la elaborarea și realizarea măsurilor profilactice și curative din cadrul celor 3 Programe Naționale de combatere a hepatitelor virale B, C, D (pentru anii 2004-2008; 2008-2012; 2012-2016), precum și prin inițierea pentru prima dată a programului de tratament antiviral cu interferon alfa 2b pegilat la copiii cu HVBC și HVCC.

Aprobarea rezultatelor. Rezultatele studiilor cuprinse în această teză, au fost prezentate și discutate la următoarele foruri: conferințele anuale dedicate zilelor Universității de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu” (Chișinău, 2003; 2004; 2008); Conferința anuală “Simpozia Professorum”, Universitatea Liberă Internațională din Moldova (Chișinău, 2001); Conferința Internațională a pediatriilor din Republica Moldova consacrată jubileului de 40 ani de activitate a catedrei de pediatrie a Facultății de Perfecționare a Medicilor, USMF „Nicolae Testemițanu” (Chișinău, 2003); Congresului al V-lea al igieniștilor, epidemiologilor și microbiologilor din Republica Moldova (Chișinău, 2004); Conferința Științifico-Practică consacrată jubileului de 50 de ani de la fondarea SCRC „Em. Coțaga” (Chișinău, 2005); Conferința Științifico-Practică a Spitalului Clinic Republican pentru Copii „Em. Coțaga” cu participare internațională “Aspecte și perspective în medicina specializată pediatrică” (Chișinău, 2008); Congresele I și II Naționale ale imunologilor și alergologilor cu participare internațională din Republica Moldova (Chișinău, 2000; 2007); Conferința științifico-practică cu participare internațională “Actualități în ftizio pneumologie. Metode de limfologie clinică și reabilitare endo-ecologică în pneumologie, fiziologie și terapie generală” (Chișinău, 2006); Conferința republicană “Hepatitele cronice virale B, C, D și sarcina” în cadrul AM “Hepateg” din Republica Moldova (Chișinău, 2009; 2016); Conferința științifico-practică „Сучасний стан та проблеми інфекційної захворюваності в Україні” посвященної 125-летию рождения академика Л. В. Громашевского (Kiev, 2012); Expoziția Internațională The XVII-th Internațională Exhibition of Research, Innovatin and Technological Transfer „INVENTICA 2013”, (Iași, 2013); Expoziția Internațională Specializată INFO INVENT (Chișinău, 2013; 2015; 2017); Conferințele Naționale de Gastroenterologie și Hepatologie cu participare internațională (Chișinău, 2003; 2009; 2014-2017); Научно-Практическая Конференция с международным участием “Актуальные вопросы эпидемиологии”, посвященной 90-летию Научно-Исследовательского Института Эпидемиологии, Вирусологии, Паразитологии им. А. Б. Алексаняна (Erevan, 2013); Salonul Internațional de Inventică PRO INVENT, ediția a XI-a, (Chișinău, 2013); Международная Конференция „Актуальные проблемы детских инфекций у детей”; Государственный Беларусский Медицинский Университет (Минск, 2013); Congresul Internațional al Societății Latino-Americane - 23 Congreso de la Asociacion Latino-Americana para el Estudio del Higado (Cancun I, Mexica, 2014); Congresul Internațional European al Academiei Societății Pediatriche - The 5 th Congress of the European Academy of Paediatric Societies (EAPS), (Barselona, 2014); Ședința Societății medicilor Infecționiști din Republica Moldova (Chișinău, 2015); EASL - ILC 2016-RS-2605 - The International Liver Congress, 2016 (Barcelona, 2016); Conferința Națională Interdisciplinară cu participare internațională “Cum diagnosticăm și cum tratăm bolile renourinare la copii” (București, 2016); Conferința Internațională Bială Chișinău-Sibiu organizată de

Societatea de Pediatrie din Republica Moldova în comun cu Facultatea de Medicină, Universitatea “Lucian Blaga” din Sibiu (Chișinău, 2017).

Teza a fost discutată la ședința comună a Departamentului pediatrie, Facultatea de Medicină nr. 2 și Catedrei de Boli infecțioase a Facultății de Medicină nr. 1 (proces verbal nr. 13 din 21.06.2017), la ședința Seminarului științific extern de profil din cadrul Consiliului Școlii Doctorale a IOSUD UMF „Grigore T. Popa”, Iași, România (proces verbal nr. 15619 din 27 iulie 2017) și la ședința Seminarului științific de profil Boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală, specialitatea 321.09 (proces verbal nr. 2 din 06.10.2017).

Publicații la tema tezei. Rezultatele studiului au fost expuse în 42 de lucrări științifice publicate, dintre care 1 monografie monoautor, 3 monografii cu coautorat, 18 articole dintre care 4 în ediții internaționale 3 cu IF și 1 indexat Google Scholar, 14 teze cu comunicări naționale și internaționale, 3 brevete de invenție, 1 lucrare științifică metodică-didactică în manualul “Pediatrie” pentru învățământul superior, 2 indicații metodice.

Volumul și structura tezei. Teza este scrisă în limba română, tehnoredactată la calculator, compartimentată tradițional și include: foaia de titlu, foaia privind dreptul de autor, rezumate în limbile română, engleză și rusă, lista abrevierilor, cuprins, introducere, 5 capitole, concluzii generale și recomandări, referințe bibliografice, anexe, declarația privind asumarea răspunderii, CV-ul autorului. Teza este expusă pe 215 pagini text de bază, conține 17 anexe, 65 de figuri, 20 de tabele, fundamentată pe 198 de referințe bibliografice.

Cuvinte-cheie: hepatită virală cronică, virus hepatic, copii, viremie, activitate inflamatorie, remedii antivirale

CONȚINUTUL TEZEI

1. CONCEPȚII ACTUALE PRIVIND ETIOLOGIA, EPIDEMIOLOGIA, IMUNOPATOGENEZA, TABLOUL CLINIC ȘI TRATAMENTUL HEPATITELOR VIRALE B ȘI C CRONICE LA COPII

Este expusă sinteza cercetărilor efectuate în domeniul HVBC și HVCC la copii, cu menționarea rolului important al prezenței infecției cronice cu VHB la femeile de vârstă fertilă și la gravide în forme asimptomatice, cu replicare virală persistentă, existența riscului înalt de infectare perinatală a nou-născuților și a ratei înalte de cronicizare timpurie în 90% din cazuri [5, 22]. Contractarea infecției cu VHB la copiii de vârstă fragedă duce la formarea HVBC în 20-50% cazuri, iar la vârsta între 6-10 ani are riscul de evoluție spre ciroză hepatică în 1,7-4,5% și de malignizare în 2,5-5% din cazuri pe an [24]. Infectarea copiilor cu VHC este similară celei cu VHB,

predominant pe cale perinatală, cu formarea HVCC primar cronic în 10% din cazuri, sursa de infecție fiind mamele lor infectate cronic cu VHC [5, 6]. Riscul de infectare cu VHC al copiilor în urma multiplelor transfuzii de sânge testat necalitativ, sau prin manopere parenterale cu instrumente medicale sterilizate necalitativ rămâne unul frecvent și are semnificație epidemiologică. Transmiterea infecției cu VHB sau VHC copiilor pe cale orizontală, habitual, este posibilă intrafamiliar, de la rudele de prima linie infectate cronic, sau de la copil la copil, cu însemnătate în menținerea lanțului epidemiologic. În acest capitol sunt reflectate particularitățile evoluției HVBC la copii, cu evoluție blândă, undulantă, persistența îndelungată a VHB (faza de imunotoleranță), grad înalt de viremie persistentă timp de 10-30 de ani, activitate biochimică și necroinflamatorie hepatică minimală și fluctuantă, seroconversie parțială AgHBe/antiHBe în timp și episoade de reactivare a VHB [19, 23].

HVCC la copii în 70% din cazuri evoluează frecvent subclinic sau asimptomatic, fiind diagnosticată ca primar cronică, manifestându-se prin indici minimali sau moderați ai activității biochimice, viremiei VHC și fibrozei hepatice, cu predominarea genotipului 1 VHC [23, 25]. Sunt descrise mecanismele imunopatogenetice ale proceselor cronice inflamatorii virale și de fibrozare hepatică în HVBC și HVCC la copii, care au la bază interacțiunea VHB și VHC cu sistemul imun al organismului-gazdă, fiind mediate imun și endocrin [17]. Este menționat rolul imunității congenitale și al citokinelor proinflamatorii în imunopatogeneza HVBC și HVCC la copii, în special al celulelor T limfocite CD3 și al subpopulațiilor lor care necesită studii fundamentale [14, 17]. De asemenea sunt analizate rezultatele obținute de alți autori privind eficacitatea terapiei cu INF alfa 2b pegilat sau analogi nucleotidici (-zidici) în HVBC la copii, care este una redusă și impune elaborarea unor scheme noi efective de tratament și optimizarea celor existente.

2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

Materialul clinic a fost acumulat în perioada anilor 2006-2016, investigațiile primare fiind efectuate la baza clinică universitară, subdiviziunea hepatologie din cadrul Spitalului Clinic Republican pentru Copii “Em. Coțaga”. Pacienții cu HVBC și HVCC au fost selectați din numărul celor spitalizați cu hepatomegalie, modificări persistente ale probelor hepatice o perioadă mai mare de 6 luni. După confirmarea diagnosticului de HVBC sau HVCC cronică și efectuarea celui diferențial cu formele subclinice acute, pacienții au fost incluși în studiu, cu acordul verbal și scris al pacientului și familiei lui. Toți pacienții incluși în cercetare au fost supravegheați lunar apoi o dată în 3, 6 luni, fiind reexaminați în condiții de ambulatoriu fiecare 6 luni, peste 1,5-3-5 ani după anularea terapiei antivirale cu efectuarea examenelor: clinic, biochimic; imunologic, elastometriei hepatice sau a FibroTestului pretratament și posttratament; sonografiei abdominale o dată în 12 luni. Pentru realizarea obiectivelor cercetării au fost utilizate 3 tipuri de studii: *descriptiv, clinic controlat*

și de cohortă transversal, efectuate în trei etape. În studiu au fost incluși 289 de copii cu vârsta între 0,6-18 ani, inclusiv: 181 cu HVBC (lotul LB=107), HVCC (lotul LC=74) și 108 copii “somatic sănătoși” drept caz-control (lotul LS).

La prima etapă, din numărul celor spitalizați, au fost selectați copiii cu hepatomegalie, modificări ale probelor funcționale hepatice și marcheri pozitivi pentru HVBC (LB) și HVCC (LC), (Figura 2.1). Colectarea informației generale și a datelor clinice s-a efectuat cu ajutorul anchetei individuale a fiecărui pacient inclus în studiu, elaborată de autor, cu precizarea datelor epidemiologice, clinice și paraclinice. Diagnosticul de HVBC și HVCC a fost confirmat în baza Clasificării Internaționale a hepatitelor cronice, aprobată la Congresul Internațional al Gastroenterologilor la Los-Angeles, 1994-1995 și formulat în baza Clasificării Internaționale a Maladiilor, versiunea X-a (CIM-X): HVBC fără agent D (B 18.1); HVBC cu agent D (B 18.0); HVCC (B 18.2). Examenul clinico-paraclinic al pacienților cu HVBC și HVCC a inclus: hemoleucograma, trombocitele, bilirubina totală și fracțiile ei, ALT, AST, albumina serică, proteina totală, gamaGT, FA, coagulograma, marcherii virali VHB de fază acută și cronică (AgHBs, antiHBs, antiHBcor IgM și totali) și VHC (antiHCV IgM și totali); la toți pacienții a fost efectuată sonografia abdominală standard, iar cei cu AgHBs pozitiv au fost testați la antiHVD IgM și totali, determinați prin metoda imunoenzimatică (ELISA) în Laboratorul clinico-biochimic și imunologic al SCRC “Em. Coțaga”.

În cazurile de prezență a splenomegaliei s-a efectuat sonografia abdominală cu doppler portal, la indicații clinice – gastroscopia (în subdiviziunea Diagnostic Funcțional SCRC “Em.Coțaga”, scintigrafia hepatică cu Tc (în cadrul Centrului Republican de Diagnosticare Medicală, or. Chișinău, director general – dl Testemițanu A., dr. șt. med., conf. univ.,). Gradul de activitate biochimică al procesului cronic hepatic a fost determinat în baza criteriilor clinico-biochimice, cu indicarea severității proceselor necroinflamatorii, iar clinic – după gradul de majorare al ALT (valoarea normală de referință < 30 ui/l) în sângele pacientului: activitate minimală – majorarea ALT cu 1,5-2 valori; activitate ușoară – majorarea ALT cu 2-3 valori; activitate moderată – majorarea ALT cu 4-10 valori; activitate severă – majorarea ALT cu mai mult de 10 valori față de cele normale de referință [87]. Marcherii VHB testați la copiii incluși în studiu au fost următorii: HBsAg, antiHBs, antiHBcor totali, HBeAg, antiHBe, antiVHD totali, ADN VHB, ARN VHD semicantitativ și în timp real, prin metoda PCR, cu utilizarea echipamentului Corbett Rotor-GENE Abbott 2000RT. La pacienții cu HVCC au fost cercetați următorii marcheri serologici: antiVHC IgM și totali, genotipul VHC, ARN VHC semicantitativ și în timp real, prin metoda PCR, cu utilizarea echipamentului Corbett Rotor-GENE Abbott 2000RT cu pragul de depistare <10 ui/ml. Funcția tiroidei la copiii cu HVBC și HVCC a fost apreciată prin determinarea în sânge a hormonilor tiroidieni (T₃ liber, T₄ liber,

TSH) și a anticorpilor antitirodieni (antiTPO și antiTG) la 29 de pacienți, iar aprecierea funcției endocrine a pancreasului prin examinarea glicemiei nictemerale, a hemoglobinei glicolizate și a peptidei C a fost efectuată la 17 pacienți.

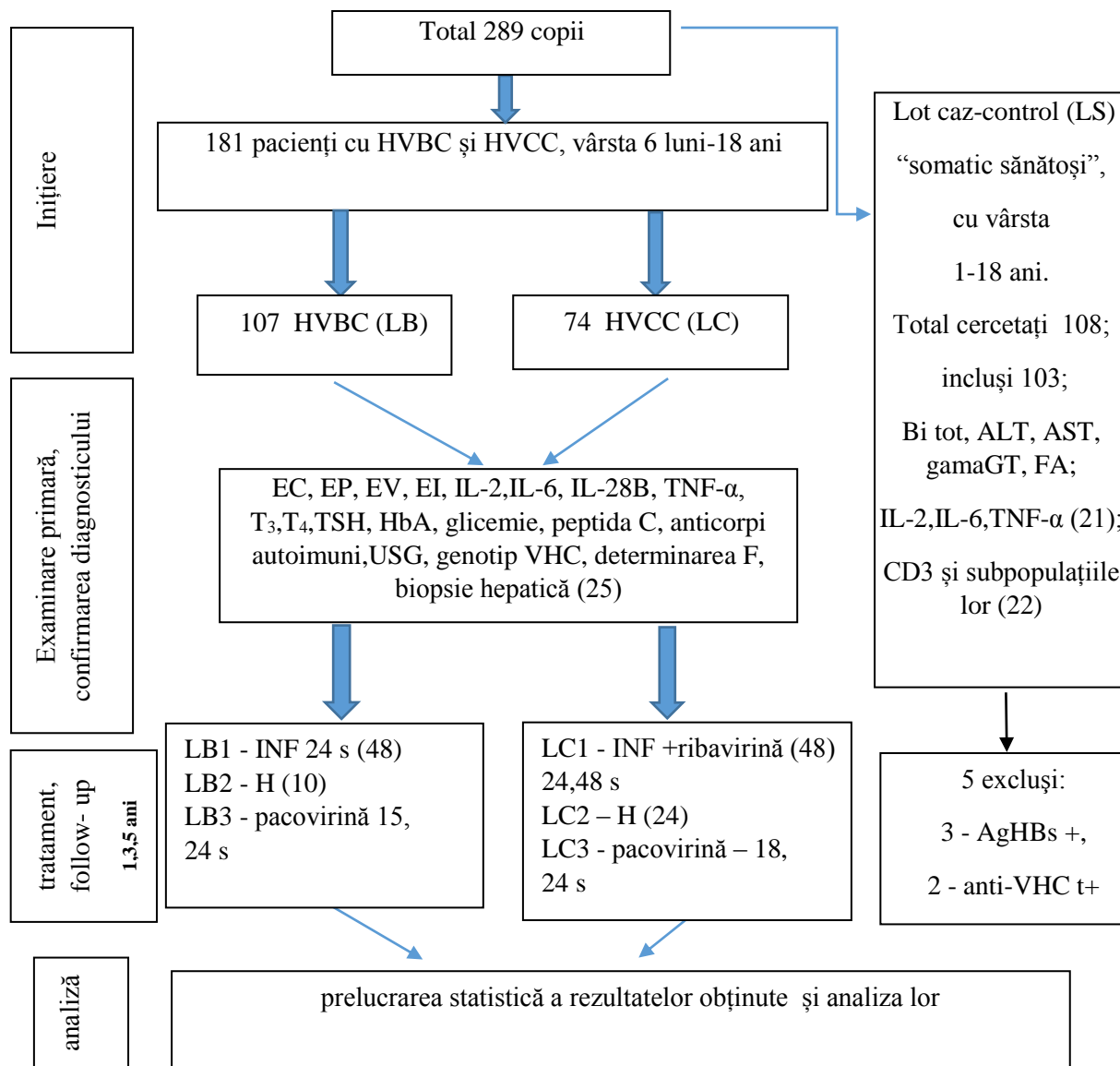


Fig. 2.1. Designul cercetării

Notă: EC – examenul clinic; EP – examinarea paraclinică (Bi, ALT, AST, gamaGT, creatinina, PT, albumina, hemograma, coagulograma, Fe seric); EV – markerii VHB, VHC, VHD; ADN VHB, ARN VHC, ARN VHC; EI – examinarea imunității umorale și celulare, USG abd – ecografia abdominală, F – fibroză hepatică, H - hepatoprotectori.

Gradul de fibroză hepatică a fost stabilit prin metoda elastometriei la 60 (33%) copii la aparatul Echosens FibroScan 502, Franța (Centrul de Diagnostic German, Manager General – dl Gutu A., Chișinău). Stadiul HVBC și HVCC a fost apreciat în baza cuantificării gradului de fibroză hepatică prin examinarea histologică a țesutului hepatic, elastometrie (utilizând scala Metavir, 1996) sau FibroTest (Laboratorul Synevo, or. Chișinău) la copiii cu vârsta mai mare de 2 ani și la cei la care nu a fost posibilă efectuarea biopsiei hepatice: stadiul 0 – absența fibrozei (F0); stadiul 1 –

F1, fibroză portală cu lărgirea spațiului portal, fără septuri; stadiul 2 – F2, fibroză portală cu lărgirea spațiului portal, cu septuri; stadiul 3 – F3, numeroase septuri fără regenerare nodulară; stadiul 4 – F4, ciroză cu prezența pseudolobulului hepatic [Bedossa P., Poynard T., 1996; Poynard T. et al., 1997].

La etapa a II-a a fost inițiat studiul clinic controlat, în scopul determinării eficacității tratamentului cu pacovirină în HVBC și HVCC la copii, cu formarea unui lot (LC3) de 33 de pacienți și a unui sublot (“caz-control” pentru compararea valorii medii), tratați doar cu hepatoprotectori (34). Criterii de includere în tratamentul cu pacovirină: vârstă mai mare de 3 ani, nivel de viremie ADN VHB sau ARN VHC măsurat cantitativ, toleranță de către pacient a formei capsulate de pacovirină, prezența acordului informat din partea părinților. Criteriile de excludere din tratamentul cu pacovirină au fost: absența marcherilor caracteristici infecției cronice cu VHB sau VHC, absența viremiei ADN VHB sau ARN VHC, vârsta copiilor sub 3 ani, lipsa acordului informat din partea părinților pacientului, lipsa complianței familiei sau a pacientului la tratament. La această etapă a continuat selectarea pacienților cu HVBC și HVCC (181 de copii) cu diferite forme clinice evolutive, precizarea diagnosticului prin utilizarea metodelor complexe imunologice, virusologice de înaltă sensibilitate, inclusiv a celor moleculare prin determinarea semicantitativă, apoi cantitativă a ADN VHB, ARN VHC, ARN VHD (PCR prin metoda Real Time), determinarea IgA, IgM, IgG și a hormonilor tiroidieni T_3 liber, T_4 liber, TSH, antiTPO, antiTG, marcherilor autoimuni antihepatici (antiANA, antiLC, antiSLM, antiAMA) la 51 copii cu scop de diagnostic diferențial cu hepatita autoimună, efectuate în cadrul Centrului Republican de Diagnosticare Medicală (șef de laborator – dna L. Rațiuc, medic laborant de categorie superioară) și MedExpert (director - dr.șt.m. Rață S., medic epidemiolog). Examenul prin tomografie computerizată și rezonanță magnetică nucleară abdominală a fost efectuat la indicații clinice în IMSP Centrul Republican de Diagnosticare Medicală și Centrul Medical “Euromed Diagnostic”, (director – dl Șevciuc I.).

Cuantificarea activității procesului necroinflamator în ficat a fost efectuată prin examinarea țesutului hepatic prelevat prin puncție biopsie hepatică cu acul Menghini la 14% (25) din pacienți, respectând normele de etică, efectuată de autor în sala de operații, cu utilizarea tehnicii asistate de anestezie generale și a regulilor de aseptică). Cercetarea histologică a țesutului hepatic, prelevat de autor prin biopsie hepatică, a fost efectuată în Laboratorul morfopatologic al Institutului Mamei și Copilului (șef – medic morfo-patolog, dr.șt.med., cercetător științific superior – dl Petrovici V.), inclusiv în 2 cazuri prin țesut prelevat la necropsie. Explorările morfopatologice au inclus examinarea biopstatelor (țesut hepatic), prealabil fixate în *Sol. Formol* 4%, cu transmiterea lor timp de 1 oră de la prelevare, ulterior tratate conform protocolului standard, utilizând rețeaua de

histoprocésare și colorație automatizată „DIAPATH” (Italia). Testele histologice s-au obținut prin confecționarea la microtomul semiautomat SLEE MAINZ-CUT 6062 (Germania) a câte 3-4 secțiuni, cu grosimea de $\approx 3,5 \mu$. La etapa de colorație au fost utilizate metodele: *hematoxilină-eozină* (H&E) și *Van Gieson* (VG) – în evidențierea fibrelor conjunctive 100%. Examinarea histologică s-a efectuat la microscopia fonică convențională, cu utilizarea microscopelor: Nikon Labophot-2 (Japonia) și Carl Zeiss (Germania) la obiectivele $\times 2,5$; $\times 4$; $\times 10$; $\times 20$; $\times 40$. Imaginile au fost realizate cu ajutorul Canon PowerShot A1000IS, captate în format JPEG. În fiecare caz a fost calculat indicele de activitate histologică (IAH) și gradul de fibroză hepatică, exprimat în puncte (0 - 22 puncte după Knodell), obținute prin suma primelor trei componente [13, 20-22, 28]. IAH în HVBC și HVCC a fost calculat în baza cuantificării prevăzută de Clasificarea Internațională a hepatitelor cronice (Los-Angeles, 1994-1995 și modificată pe parcurs): gradul I – 1-3 puncte, activitate histologică absentă – A 0; gradul II – 4-8 puncte, activitate histologică minimală – A1; gradul III – 9-12 puncte, activitate histologică moderată – A2; gradul IV – 3-18 puncte, activitate histologică severă – A3.

La această etapă a fost continuat **studiul clinic controlat** pentru determinarea eficacității tratamentului antiviral la 96 (HVBC – 48; HVCC – 48) de copii, cu INF alfa 2b pegilat (sau standard), în scopul creșterii șanselor de vindecare și ameliorare a calității vieții acestor pacienți. Criteriile de includere în tratamentul cu INF alfa 2b pegilat (sau standard) pentru copiii cu HVBC și HVCC au fost următoarele: vârsta mai mare de 3 ani (*ESPGHAN Clinical Practice Guidelines. Consensus of an expert panel on behalf of the European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Journal of Hepatology, 2013. Vol. 59. P. 463-467; Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. European Association for the Study of the liver. J. Hepatology, 2014. V. 60. P. 814-829*); HVBC cu viremie VHB mai mare de 2000 ui/ml, ALT mai mare de 30 ui/l și AST majorat; HVCC cu genotip VHC determinat, viremie exprimată prin ARN VHC pozitivă și măsurată cantitativ; durată mai mare de 6 luni a sindromului de citoliză peste 2 valori normale; absența maladiilor psihice, afecțiunilor organice ale SNC, a sindromului convulsiv în antecedentă, malformațiilor congenitale decompensate de cord și renale, imunodeficienței primare, cirozei hepatice în stadiile Child A, B, C; prezența acordului informat al părinților și pacientului. *Criteriile de excludere din tratamentul antiviral cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard) monoterapie (HVBC) sau combinat cu ribavirină (HVCC):* vârsta copiilor mai mică de 3 ani; lipsa acordului informat și a complianței la tratament a părinților și copilului; absența viremiei VHB și VHC exprimată prin ADN VHB și ARN VHC; reacțiile alergice în antecedentă și apărute la inițierea tratamentului, intoleranța remediilor antivirale INF alfa 2b pegilat (sau standard) sau a ribavirinei.

La a III-a etapă a cercetării, la 49 de pacienți (27%) cu HVBC și HVCC, în funcție de faza procesului viral VHB sau VHC și de activitatea procesului cronic inflamator hepatic, au fost determinate valorile serice ale citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α (în Laboratorul Imunologic al IMSP SCRC “Em. Coțağa”, medic de laborator, imunolog – dna T. Mereniuc). Reactivii au fost oferii de IP USMF „Nicolae Testemițanu” în cadrul proiectului științific “Optimizarea sistemului de profilaxie primară, secundară și terțiară în hepatite, ciroze și cancer hepatic primar” (conducător – dl Prisacari V., dr. hab. șt. med, prof. univ., membru corespondent al Academiei de Științe din Republica Moldova, Om Emerit, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”). Nivelul seric al IL-2, IL-6 și TNF- α , markerii serici AgHBs și antiVHC totali la copiii din lotul „caz-control” (LS) au fost testați în laboratorul imunologic SCRC „Em. Coțağa”, prin utilizarea metodelor imunoenzimatiche. Statusul imun umoral a inclus determinarea IgA, IgM, IgG după metoda Mancini la 81 (45%) de pacienți cu HVBC și HVCC, iar cel celular – a celulelor T limfocitare CD3 și imunofenotiparea lor, cu utilizarea reactivilor cu anticorpilor monoclonali (Bekrop Bect, Rusia) prin metoda automatizată de citometrie de flux (Laboratorul imunologic, MedExpert - dna E. Somatii, dr. șt. med., medic imunolog,) în 50 de cazuri. Sângele pentru testarea statusului imun celular a fost colectat și transportat în primele 3 ore după colectare. Refrigerarea materialului biologic nu a fost admisă. De asemenea, a fost apreciat numărul relativ și absolut al celulelor T limfocitare CD3 și al subpopulațiilor lor. Toate rezultatele obținute au fost incluse în ancheta individuală a pacientului și codificate în fișa-cod. Suportul informațional medical a fost documentația medicală oficială: “Fișa medicală a bolnavului de staționar (Formularul 003/e), fișele medicale primare (Formularele 112/e, 025/e), copiile rezultatelor cercetării clinico-paraclinice efectuate în condiții de ambulatoriu, aprobate de Ministerul Sănătății al Republicii Moldova (ordin nr. 828 din 31.10.2011).

3. HEPATITELE VIRALE B ȘI C CRONICE LA COPII. FRECVENȚA, FACTORII DE RISC, PARTICULARITĂȚILE EPIDEMIOLOGICE, CLINICE, ANATOMO-MORFOLOGICE, FORMELE EVOLUTIVE ȘI PRINCIPIILE DE OPTIMIZARE A TRATAMENTULUI

3.1. Caracteristici generale, frecvența, factorii de risc în HVBC și HVCC la copii

Datorită realizării măsurilor profilactice, în perioada anilor 2006-2016 în Republica Moldova se constată o dinamică pozitivă a indicilor morbidității prin HVBC și HVCC la copii cu diminuarea prevalenței: prin HVBC a diminuat de 6 ori de la 128,9 (2006) până la 19,8 (2016) la 10 000 de copii, iar prin HVCC - de 2,7 ori de la 24,6 (2006) până la 9,0 (2016) la 10 000 copii (Figura 3.1.1). Conform datelor Centrului Național de Management în Sănătate (CNMS) pentru anii 2006-2017, incidența prin HVBC la copii în această perioadă s-a micșorat de 4 ori (de la 12,9 la 2,9 la 10 000 copii) și doar de 1,4 ori prin HVCC – de la 3,4 până la 2,3 la 10 000 copii (Figura 3.1.2). Analiza

dinamicii numărului absolut al copiilor de vârstă 0 - 17 ani 11 luni 29 zile ani diagnosticați cu HVBC și HVCC, aflați în evidență în ultimii 10 ani, a constat o dinamică pozitivă, cu diminuarea

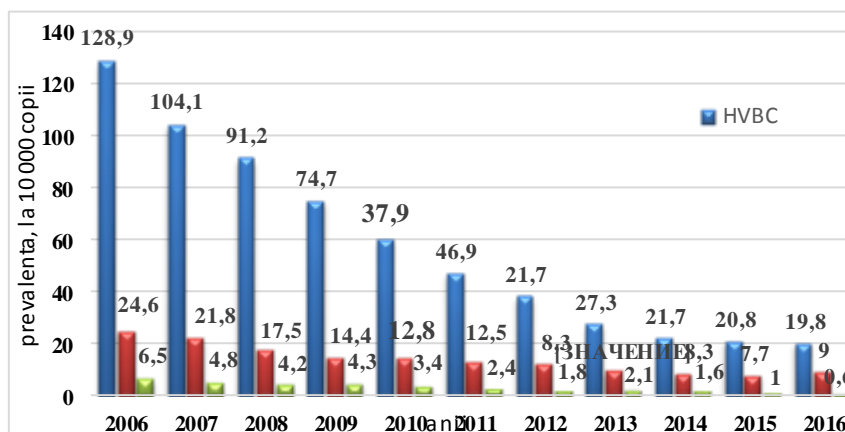


Fig. 3.1.1. Dinamica prevalenței hepatitelor virale B, C, D cronice la copii în perioada anilor 2006-2016, Centrul Național de Management în Sănătate, 2017

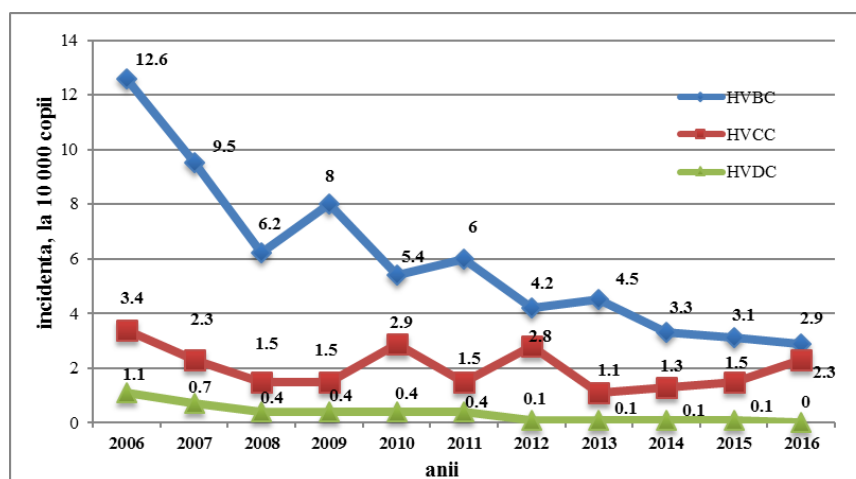


Fig. 3.1.2. Dinamica incidenței prin HVBC, HVCC și HVDC la copii în perioada anilor 2006-2016 (CNMS, 2017)

lor dramatică, care poate fi explicată prin succesele și realizările sistemului de sănătate publică în plan național și eficacitatea măsurilor profilactice specifice și nespecifice aplicate. Astfel, la momentul actual, în Republica Moldova în supravegherea medicilor de familie se află 249 de copii cu vârstă sub 18 ani, cu hepatite virale B și C cronice confirmate, dintre care: 139 (56%) cu HVBC fără agent delta, 55 (22%) – cu HVCC și doar 4 (1,6%) cazuri de HVBC cu agent delta (Figura 3.1.3).

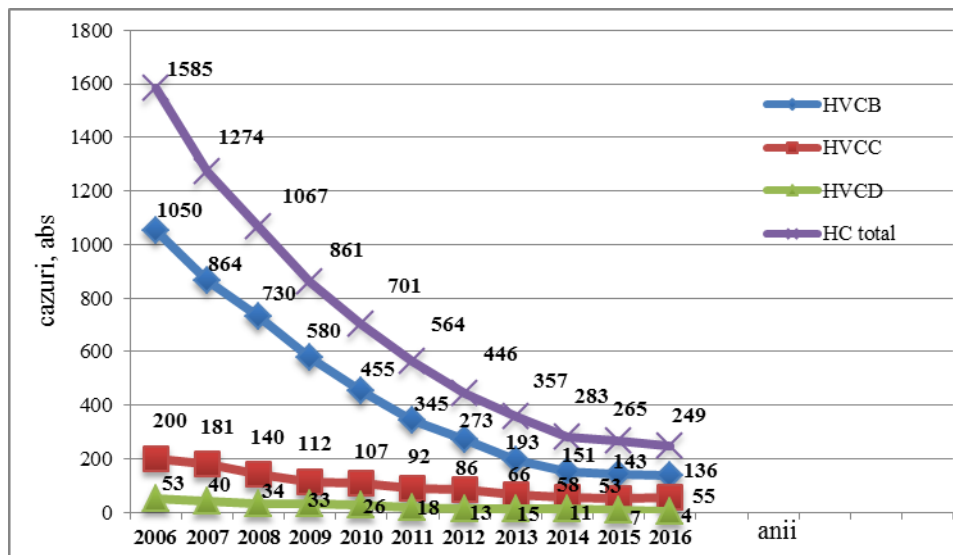


Fig. 3.1.3. Dinamica copiilor (abs) cu hepatită cronică aflați în evidență în perioada anilor 2006-2016 (CNMS, 2017)

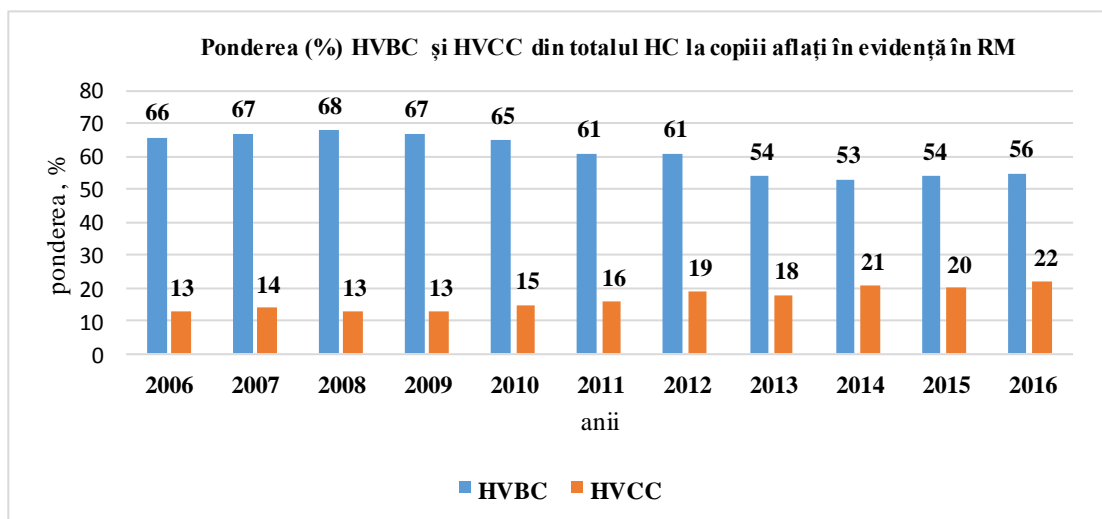


Fig. 3.1.4. Ponderea HVBC și HVCC (%) din totalul de hepatite cronice la copii în Republica Moldova în perioada anilor 2006-2017, CNMS [28]

Structura etiologică a hepatitelor cronice la copii în Republica Moldova (Figura 3.1.4) arată că HVBC la copii este una predominantă, cu toate că incidența și prevalența prin această maladie sunt în descreștere pe fundalul imunoprofilaxiei specifice. Ponderea HVCC la copii în ultimii ani are o dinamică spre majorare. Conform datelor statistice prezentate mai sus, din numărul total de 249 de copii cu hepatite cronice aflați în evidența medicilor de familie în întreaga republică, 73% (181) au fost incluși în cercetarea de față, dintre care: cu HVBC - 59,1% (107 copii); cu HVCC - 40,9% (74 copii), (Figura 3.1.5).

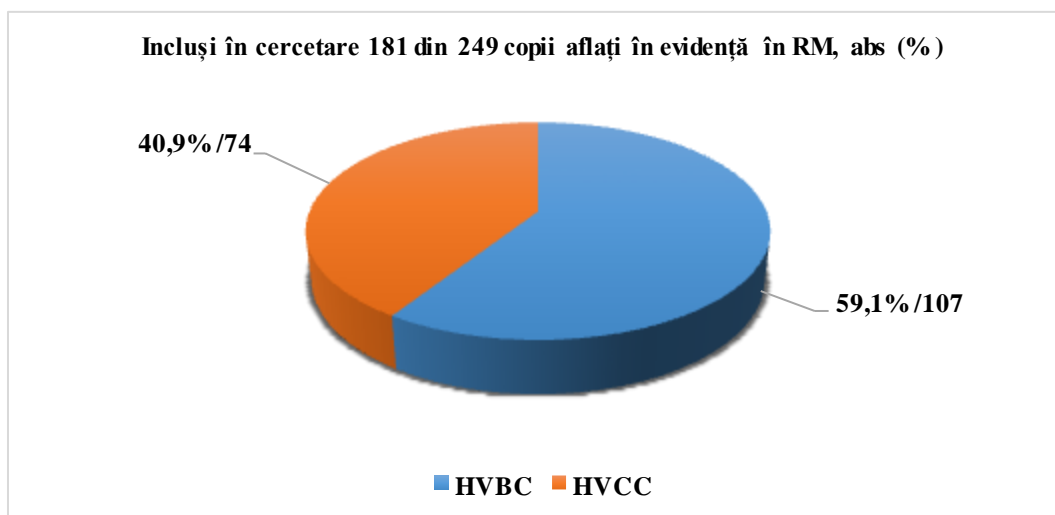


Fig. 3.1.5. Ponderea copiilor (%/abs) cu HVBC și HVCC incluși în cercetare

Ponderea mică a copiilor cu HVBC și HVCC aflați în evidență, pe de o parte, este îmbucurătoare, iar pe de altă parte nu reflectă situația reală existentă în prezent, aceștia fiind mult mai mulți și nediagnosticați. Cele mai dificile în plan diagnostic rămân formele “oculte” de infecție cronică cu VHB sau VHC, care necesită investigații repetate și costisitoare la markerii virali, inclusiv cu utilizarea metodelor virusologice prin PCR și supravegherea de către specialiști experimentați în domeniu. Copiii cu HVBC incluși în cercetare aveau vârsta medie de $10,7 \pm 0,5$ ani, iar cei cu HVCC – de $11,4 \pm 0,5$ ani; cu predominarea sexului masculin – 60,8% ($p > 0,05$) și a celor din mediul rural – 63% (Figura 3.1.7), ($p < 0,05$). Conform aspectului de etnie, 80,6% din pacienți cu HVBC și HVCC erau moldoveni (HVBC – 86 copii; HVCC – 60 copii), ($p > 0,05$). Vârsta medie a copiilor la care a fost depistată HVBC era de $6,3 \pm 5,3$ ani, iar a celor cu HVCC – de $5,4 \pm 0,5$ ani, cu o semnificație statistică relevantă ($p < 0,05$). Datele prezentate în Figura 3.1.6 relevă, că hepatitele virale B și C cronice cel mai frecvent sunt întâlnite la copiii de vârsta adolescenței, aceasta fiind una vulnerabilă prin fenomenul particularității fiziologice, exprimat de restructurările în sistemul imun umoral și celular al copilului în creștere, a statusului endocrin și, în special, al funcționalității glandei tiroide. Analizând dependența formei cronice de infecție cu VHB sau VHC de mediul de trai al copiilor incluși în cercetare (Figura 3.1.7), se poate constata că în 69% HVBC și în 54% din cazuri HVCC are o frecvență mai mare la cei din mediul rural, comparativ cu cei din mediul urban ($p_1, p_2 < 0,05$).

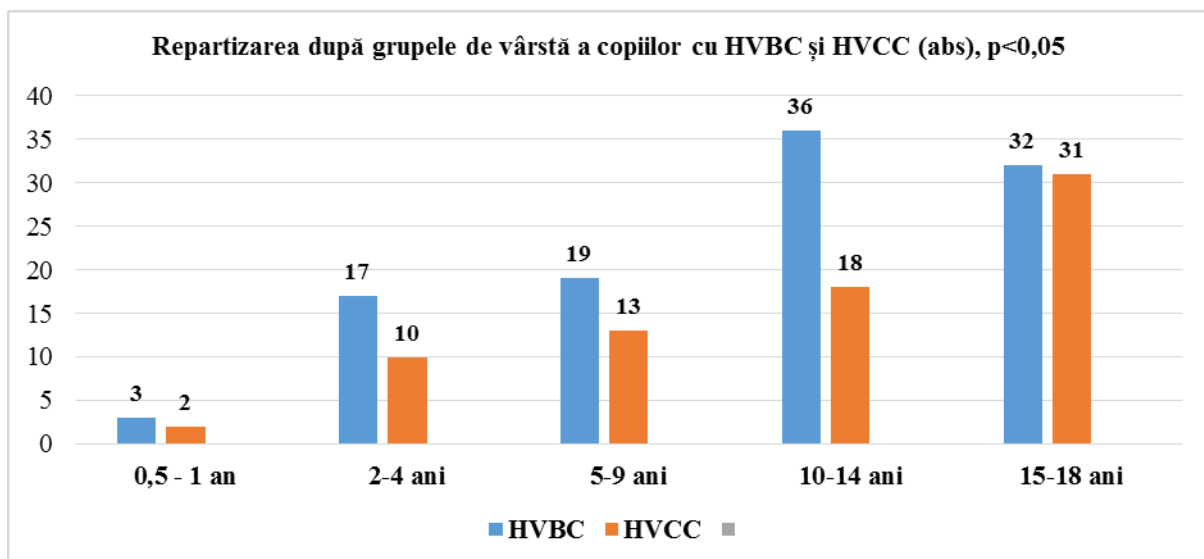


Fig. 3.1.6. Repartizarea după grupele de vârstă a copiilor cu HVBC și HVCC incluși în studiu

Repartizarea copiilor în funcție de mediul de trai și geografia teritorială a pacienților diagnosticați cu HVBC și HVCC (Figura 3.1.7) a fost neuniformă, cu o înaltă veridicitate statistică ($p < 0,05$), reprezentată de 30 de raioane administrative ale Republicii Moldova: municipiile Chișinău (54) și Bălți (6); raioanele: Hâncești (15), Ungheni (10), Ciadâr-Lunga (9), Ialoveni (8) și Anenii Noi (8), Cahul (7) și Strășeni (7), ponderea cea mai mare revenind regiunilor centrală și sudică.

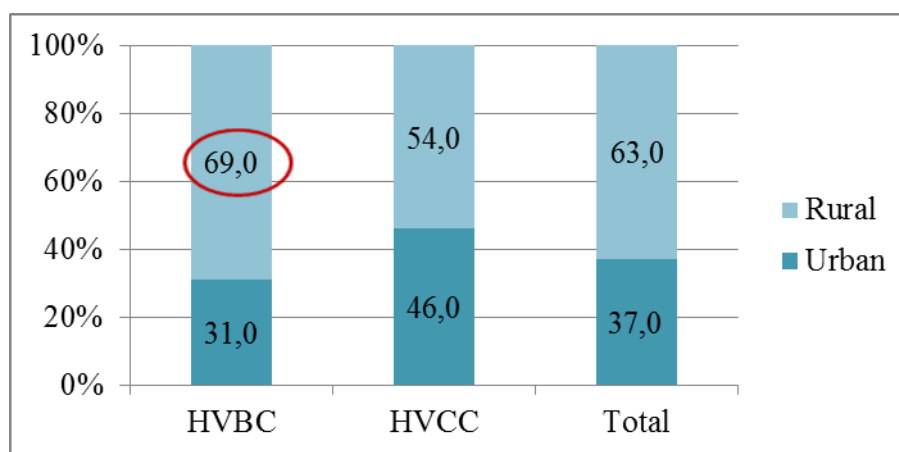


Fig. 3.1.7. Repartizarea copiilor cu HVBC și HVCC în funcție de mediul de trai (%), ($p_1, p_2 < 0,05$).

Dezvoltarea fizică a copiilor cu HVBC și HVCC la momentul includerii în cercetarea actuală era una armonioasă, cu un status nutrițional corespunzător și valoare medie a IMC Kettle de $18,5 \pm 2,7 \text{ kg/m}^2$ și un status psiho-neurologic adecvat vârstei. Diagnosticul de HVBC și HVCC la copiii incluși în cercetare a fost presupus pentru prima dată la vârsta medie a copiilor de $6,3 \pm 0,4$ ani (în HVBC – $5,8 \pm 0,5$ ani; HVCC – $7,7 \pm 0,6$ ani), odată cu depistarea primară a markerilor specifici

($p < 0,05$). Durata medie a perioadei de confirmare a diagnosticului de HVBC și HVCC, de la momentul posibilei infectări și până la constatarea semnelor clinico-biologice caracteristice a fost de $5,8 \pm 0,5$ ani în HVBC și de $3,8 \pm 0,4$ ani în HVCC, cu o înaltă veridicitate statistică ($p < 0,05$). Anamnestical vietei și istoricul HVBC și HVCC la fiecare pacient inclus în studiu a evidențiat că în 85% din cazuri evoluția sarcinii date a fost fiziologică și doar în 15% din cazuri graviditatea a evoluat cu gestoza pe toată perioada. Analiza statusului social al familiilor din care proveneau copiii cu HVBC și HVCC a relevat că 83,4% din pacienți erau originari din familii nucleare, 11% – din monoparentale, iar 5,5% din copii erau adoptați de rudele părinților. În 56,4% din cazuri familiile copiilor au declarat un statut ierarhic social-economic scăzut, iar 37,6% – mijlociu.

Rezultatele anchetării epidemiologice a pacienților incluși în cercetare și a mamelor lor au demonstrat, cu semnificație statistică relevantă, prezența riscului infectării perinatale cu VHB sau VHC, pe cale verticală, în 41,5% din cazuri, inclusiv: în HVBC – 50%; HVCC – 30% ($p < 0,05$). În lotul copiilor cu HVBC, în 20,6% (22) din cazuri, mamele acestor pacienți presarcină au fost diagnosticate cu AgHBs persistent în sânge, iar alte 29% (31) din ele se aflau în evidența medicului de familie sau a infecționistului cu diagnosticul confirmat de HVBC. O parte din mamele acestor copii erau incluse în lista de așteptare a tratamentului antiviral ($p < 0,05$). În cazul copiilor cu HVCC, în 24,3% (18) din mamele lor sufereau de HVCC (Figura 3.1.8), acestea fiind în supraveghere specialiștilor.

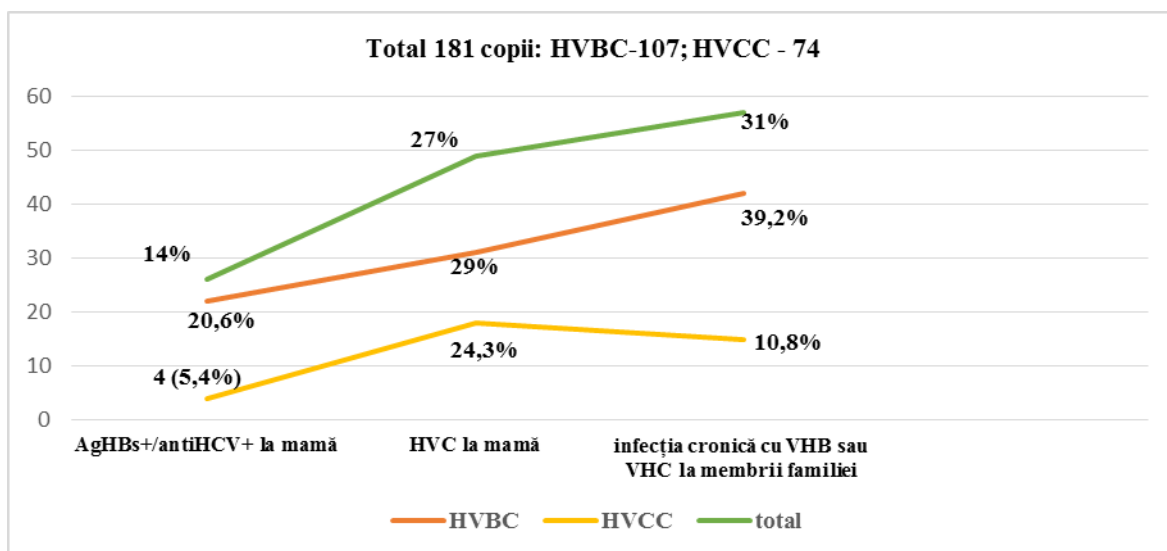


Fig. 3.1.8. Prezența markerilor VHB și VHC la mamele copiilor incluși în cercetare și membrii familiilor lor (de I și a II-a linie de rudenie), ($p < 0,001$)

Decelarea antiVHC totali presarcină la mamele pacienților cu HVCC a fost menționată în doar 5,4% (4) din cazuri, acestea fiind asimptomatice, deci fără semne clinice și biologice caracteristice HVCC ($p < 0,05$). Riscului contractării VHB sau VHC pe cale orizontală,

intrafamilial, de la membrii familiei sau rudele de prima sau a doua linie, aflate în evidența medicului cu HVBC sau HVCC (Figura 3.1.8), a fost demonstrat statistic semnificativ, prin existența unei rate înalte de circulație a VHB sau VHC la membrii familiei acestor copii. Printre copiii cu HVBC în 39,2% (42) din cazuri AgHBs a fost decelat la membrii familiei, inclusiv: la surori/frați (18), tată (13), bunică (11), ($p<0,001$). În lotul copiilor cu HVCC circulația antiVHC totali la membrii familiei a fost determinată în doar 10,8% din cazuri: antiVHC totali pozitivi sau prezența HVCC la surori/frați (1), tată (5), bunică (2), cu un risc minimal de transmitere a VHC pe cale orizontală ($p<0,001$). 62% dintre copiii cu HVBC și HVCC incluși în studiu nu au fost vaccinați antiVHB la naștere, fiind neîncadrați în calendarul vaccinal, iar restul de 38% au fost vaccinați cu trei doze de vaccin conform schemei 0-1-6.

Analiza factorilor predispozanți și nocivi alimentari pentru infectarea și cronicizarea infecției cu VHB sau VHC la copiii incluși în studiu a constatat existența la 1% (7) din aceștia a preferințelor de consum abuziv de glucide și carbohidrați, la 9,4% (17) – de utilizare frecventă a produselor condimentate, iar la 0,6% (1) – prezența tabagismului ($p<0,05$). Anchetarea epidemiologică a copiilor cu HVBC și HVCC și a părinților lor privind utilizarea individuală a obiectelor tăioase în familie (foarfece, ace, cuțite, obiecte de manichiură, pedichiură, a periștelor de dinți, obiectelor de bărbierit și altele tăioase) a constatat că în 63,5% din cazuri riscul infectării cu VHB sau VHC intrafamilial, pe cale habituală, deoarece copiii utilizau în comun cu părinții lor și alți membri ai familiei lor obiectele tăioase cu destinație individuală. În 65,7% din cazuri HVBC și HVCC au fost diagnosticate ca primar cronice, iar doar 21,5% (39) din copii au suportat în antecedente hepatita acută virală și cronicizarea maladiei peste 6 luni de la debut. Riscul contaminării cu VHB și VHC a copiilor prin intermediul mecanismelor parenterale este prezentat în Figura 3.1.9. Conform datelor obținute, infectarea copiilor cu VHB sau VHC a fost presupusă în 15,5% (28) din cazuri ca fiind rezultatul multiplelor manopere parenterale cu scop diagnostic și curativ suportate de respondenți, al perfuziilor de plasmă și sânge – în 14,9% (27), intervențiilor chirurgicale – în 5% (9), tratamentului stomatologic cu instrumente sterilizate insuficient – în 2,2% (4), iar în 20,4% (37) din cazuri cauzele infectării nu au putut fi stabilite. Infectarea copiilor cu VHC cel mai frecvent a fost posibilă în urma multiplelor transfuzii de sânge și plasmă – 27% (20), infectarea perinatală (pe cale verticală) – a constituit 24,3% (18), sursa de infecție cu VHC fiind mamele lor infectate cronic ($p<0,001$). Pentru 9,5% (7) din pacienții cu HVCC posibila sursă de infectare au fost multiplele manopere parenterale, în 6,8% (5) – intervențiile chirurgicale, în 4% (2) – tratamentele stomatologice cu instrumente sterilizate necalitativ, iar infectarea habituală cu VHC a fost presupusă în doar 1,4% (1) din cazuri, ($p<0,001$).

Contaminarea cu VHB a copiilor incluși în cercetare (Figura 3.1.9) în 21% din cazuri a fost posibilă ca rezultat al multiplelor manopere i/v sau i/m efectuate cu scop diagnostic și curativ. Aceste date, care s-au demonstrat a fi statistic înalt relevante ($p < 0,001$), avertizează despre riscurile și consecințele actului medical invaziv privind transmiterea infecției cu VHB și VHC și necesitatea adoptării unui complex de măsuri profilactice sigure și inofensive.

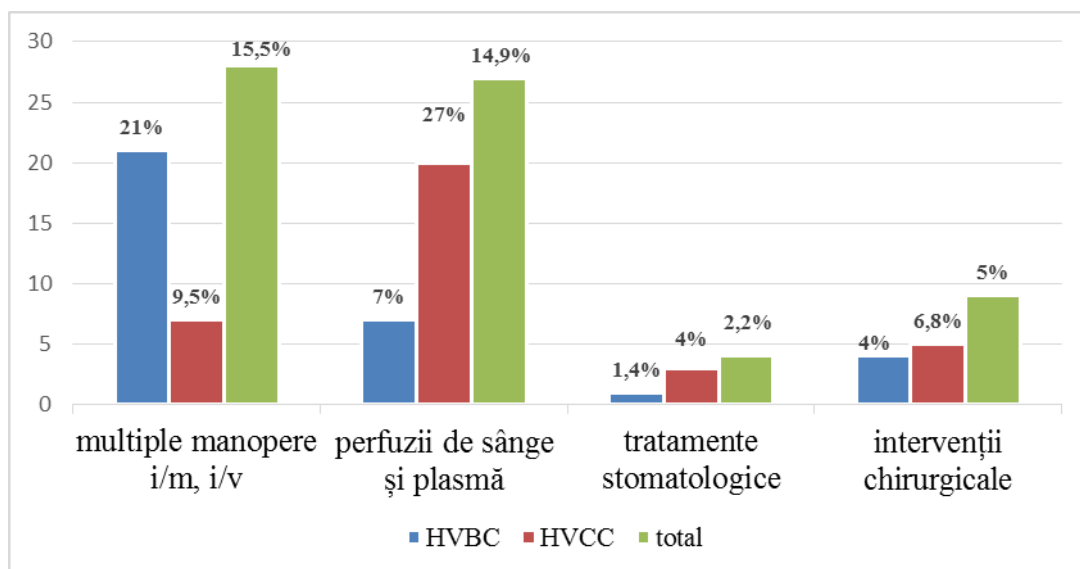


Fig. 3.1.9. Riscul parenteral (%) de infectare cu VHB și VHC a copiilor cu HVBC și HVCC incluși în cercetare ($p < 0,001$)

HVBC și HVCC la copii pot fi frecvent asociate cu alte maladii acute sau cronice ale altor sisteme și organe, cele mai frecvente comorbidități fiind următoarele: afecțiuni cronice ale tractului digestiv superior – în 28% (49) din cazuri (gastrite, duodenite cronice, boală ulceroasă, pancreatită cronică); afecțiuni cronice ale veziculei și căilor biliare în 28% (49) de cazuri: dischinezii hipomotorii asociate cu sludj-ul biliar – 13 copii, colecistită cronică acalculoasă cu sludj biliar – 33, litiază biliară – 3; infecții respiratorii acute frecvente cu 3 și mai multe episoade/an ale tractului respirator superior și inferior – în 7% (15) din cazuri (rinite, faringite, bronșite, pneumonii acute); malformații congenitale ale cordului (MCC) – în 2,2% (4) și maladii organice ale sistemului nervos central, corectate chirurgical – 2,2% (4): hidrocefalie cu instalarea șuntului ventriculo-abdominal, tumori craniene operate; diabet zaharat insulinodependent – 1,7% (3); anemie deficitară – 1,7% (3); hemofilie B – 0,6% (1), hepatom – 0,6% (1), infecții ale tractului reno-urinar – 0,6% (1) din cazuri ($p = 0,01$).

3.2. Semnele clinice și tabloul biologic în HVBC și HVCC la copii

Tabloul clinic al HVBC și HVCC la copiii incluși în studiu a fost unul polimorf și multisindromal (Tabelul 3.2.1, Figura 3.2.1), reprezentând în ansamblu un complex de criterii generale cu semne clinice și biologice nespecifice.

Tabelul 3.2.1. Caracteristici generale ale semnelor clinice în HVBC și HVCC la copiii incluși în cercetare

Semnele și sindroamele clinice	HVBC (n=107 pacienți)		HVCC (n=74 pacienți)		p
	n	%	n	%	
Sindrom asteno-vegetativ	58	54,2	33	44,6	>0,05
Dispeptic	49	46	43	58	>0,05
Algic în hipocondrul drept	67	62,6	41	55,4	>0,05
Icteric	3	3	1	1,4	>0,05
Hepatomegalie:					
< 2 cm	67	63	53	72	>0,05
3-4 cm	21	20	15	20	
>5 cm	13	12	5	7	
Splenomegalie:					
< 2 cm	11	10	3	4	>0,05
> 3 cm	4	3,7	-	-	
Manifestări extrahepatice: artralgii reactive	3	3	12	16,2	=0,001
Performanțe școlare reduse	22	21	5	7	=0,01

Printre semnele și sindroamele principale, caracteristice HVBC la copii, pot fi regăsite următoarele, cu o predominare în 62,6% din cazuri a sindromului algic în hipocondrul drept, asteno-vegetativ – 54,2%, dispeptic – 46%, hepatomegalia moderată cu 2 cm sub rebordul costal drept, ficatul fiind de consistență medie – la 63% din copii, prezența splenomegaliei ușoare (10%) și moderată (3,7%), ($p>0,05$). Manifestările clinice ale HVCC la copiii incluși în studiu au fost similare celor din HVBC, cu o expresie mai accentuată a hepatomegaliei cu deplasarea ficatului cu 2 cm sub rebordul costal drept, de consistență mediu dură și indolor – în 72% din cazuri, prezența splenomegaliei minimale la doar 4% din pacienți, cu proeminența organului cu 1-2 cm sub rebordul costal stâng și retragere la ameliorarea stării generale; prezența sindroamelor clinice: dispeptic – în 58%, dolor în hipocondrul drept – în 55,4%, asteno-vegetativ – în 44,6% din cazuri, acestea variind individual de la caz la caz, fără o specificitate etiologică ($p>0,05$). Doar 20% dintre copiii cu HVBC au prezentat hepatomegalie cu 3-4 cm și 12% – cu 5 cm sub rebordul costal drept, ficatul fiind indolor, de consistență dură și o margine rotundă, ($p>0,05$). Pentru HVCC la copii a fost caracteristică predominarea hepatomegaliei ușoare cu proeminența cu 2 cm (72%) și moderate cu 3-4 cm (20%) și doar la 7% din pacienți hepatomegalia depășea 5 cm. Pentru HVCC la copiii incluși în studiu splenomegalia a fost prezentă în doar 4% din cazuri, fiind atestată o evoluție mai blândă a procesului cronic infecțios viral C, comparativ cu cea în HVBC, ($p>0,05$).

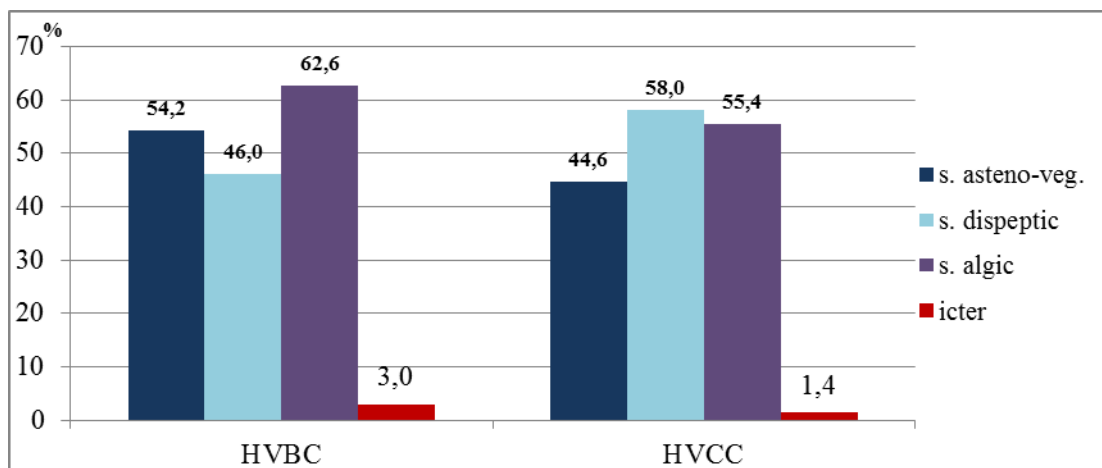


Fig. 3.2.1. Semnele clinice predominante în HVBC și HVCC la copiii incluși în studiu (%)

Manifestările extrahepatice ale HVBC și HVCC la copii au fost rar întâlnite și exprimate prin artralgiile reactive tranzitorii, constatate în 3% din cazuri în HVBC și 16,2% în HVCC, cu o semnificație statistică relevantă, ($p=0,001$). La copiii investigați în 21% de cazuri cu HVBC și 7% cu HVCC s-a constatat reducerea performanțelor școlare, drept manifestare extrahepatică nespecifică ($p=0,01$). Sindromul de citoliză, exprimat prin majorarea ALT și AST (Tabelul 3.2.2), este unul important și semnificativ în HVBC și HVCC la copii, datorită faptului de mare valoare și precizie a hepatonecrozei ($p_{1,2,3}<0,001$). În ambele forme etiologice de hepatită cronică ALT a fost majorată minimal, cu 2-2,5 valori față de cele de referință (Figurile 3.2.4 și 3.2.5), în timp ce AST a fost neesențial majorată, doar de 1,5 valori de referință, ($p_{1,2,3}<0,001$). Sindromul de colestază a fost predominant la copiii cu HVCC, fiind exprimat prin majorare a gama-glutamiltranspeptidazei și având valoare medie de $59\pm 6,5$ mmol/l și o relevanță statistică mare, comparativ cu copiii cu HVBC și cei din lotul „caz-control” ($p_{1,2}<0,01$; $p_{1,3}<0,05$). Evaluarea sindromului hepatopriv la pacienții cu HVBC și HVCC nu a evidențiat modificări patologice ale proteinei totale, albuminei, indicelui de protrombină și a fibrinogenului, fenomen ce confirmă compensarea capacităților funcționale ale ficatului. Acești parametri de laborator au o mare valoare clinică și necesită a fi examinați pe parcursul supravegherii copiilor cu HVBC și HVCC ($p_{2,3}<0,05$).

Aprecierea statusului imunității umorale în HVBC și HVCC la copiii incluși în cercetare a evidențiat majorarea valorilor serice ale IgA, IgM și IgG, care corelează relevant cu intensitatea și gradul de severitate al procesului cronic inflamator viral în ficat. În studiul nostru, valorile medii ale IgA și IgM serice la copiii cu HVBC și HVCC au fost mai reduse, iar cele ale IgG au fost evident crescute, comparativ cu copiii din lotul „caz-control” ($p_{1,2,3}>0,05$). Valorile ne semnificativ diminuate ale IgA au fost determinate la copiii cu HVBC, comparativ cu cei din lotul „caz-control” și cei cu HVCC. Acest aspect al statusului imun umoral este un argument ce confirmă existența

dezechilibrului în sistemul limfocitelor B, fiind în asociere frecventă cu alte comorbidități, cum ar fi cele ale tractului respirator.

La o parte din copii cu HVBC și HVCC a fost studiat statusul hormonal pancreatic și tiroidian, care a constatat prezența sindromului dishormonal (Tabelul 3.2.2). La copiii investigați de noi era prezentă o evoluție spre majorare în sânge a peptidei C, aceasta fiind mult mai exprimată în HVCC ($p_{2,3}<0,05$) și prezența valorilor normale ale glicemiei nictemerale și a celei glicolizate HbA1 (valoarea medie $5,2\pm 0,4\%$), $p_{2,3}>0,05$. Studiarea particularităților statusului hormonal al tiroidei la copiii cu HVBC și HVCC s-a axat pe determinarea în sânge a fracțiilor libere ale T_3 , T_4 și TSH. Rezultatele obținute denotă că valori crescute ale T_3 aveau doar copiii cu HVCC, comparativ cu cei cu HVBC ($p_{2,3}<0,05$). Nivelul seric normal al T_4 și ușor majorat al T_3 în HVBC și HVCC la copiii examinați poate fi explicată cu predominarea vârstei adolescenței și prin restructurările funcționale ale glandei tiroide caracteristice acestei perioade. De menționat, că pentru pacienții cu HVCC, față de cei cu HVBC, a fost mai relevantă prezența sindromului de coleastăză ($p_{1,3}<0,05$), citoliză ($p_{1,2,3}<0,001$), hepatopriv ($p_{2,3}<0,05$), dishormonal manifestat prin tulburări ale funcției incretorii a pancreasului și tendința spre majorare a peptidei C, cu modificări parțiale ale funcției glandei tiroide și majorarea neesențială a fracției libere a T_3 , tulburărilor renale semnificate de creșterea valorilor cerice ale creatininei, cu o înaltă semnificație statistică ($p_{2,3}<0,05$).

Statutul imunoserologic în HVBC și HVCC la copiii investigați (Tabelul 3.2.3.) a constatat că, HVBC a evoluat în 95% din cazuri în faza de viremie activă a VHB și în 65% din cazuri cu AgHBe pozitiv ($p<0,001$): faza I (de imunotoleranță) cu viremie înaltă și valoare medie ADN VHB de $1,97\times 10^9$ ui/l ($p<0,001$) în 68% din cazuri. În 22% din cazuri procesul viral cronic cu VHB a evoluat în faza II (imunoreactivă), cu grad înalt de viremie și ADN VHB între 2 000-20 000 000 ui/ml ($p<0,001$). În 10% din cazuri HVBC a evoluat în faza virală neactivă VHB (faza III) cu valori scăzute ale ADN VHB sub 2000 ui/ml și AgHBe negativ la 35% din copii. În 15% din cazuri HVBC la copii a fost asociată cu prezența antiVHD totali, procesul evoluând în formă de suprainfecție. HVBC cu agent D suprainfecție în 12% din cazuri a fost exprimat prin viremie înaltă VHD și nivel mediu ARN VHD de $3,9\times 10^7 \pm 6,5 \times 10^5$ ui/ml, ($p >0,05$). În 5% din cazuri HVBC a evoluat în formă “ocultă”, caracterizată cu valori sub 200 ui/ml a ADN VHB la ½ din copii sau nedetectabil în sânge. În 68% din cazuri nivelul viremiei VHB în HVBC la copiii incluși în studiu a fost unul foarte înalt, cu ADN VHB mai mare de 20 000 000 ui/ml, în 22% - moderat cu ADN VHB între 2 000-20 000 000 ui/ml, iar la 10% din pacienți – minimal. În 91% (67) din cazuri HVCC la pacienții incluși în cercetare a evoluat cu faza de replicare activă înaltă și în doar 9% (7) procesul viral a fost neactiv (Tabelul 3.2.3). 55% dintre copiii cu viremie înaltă VHC au prezentat valori ARN VHC mai mari de 600 000 ui/ml, media fiind de $2,9\times 10^6 \pm 1,1\times 10^6$ ui/ml. În 26% din cazuri

HVCC a evoluat în faza de replicare moderată, cu valori ale ARN VHC sub 600 000 ui/ml și doar 9% dintre pacienți au prezentat viremie sub 200 ui/ml sau aviremie ($p > 0,05$).

Tabelul 3.2.2. Sindroamele biologice în HVBC și HVCC la copiii incluși în cercetare

Sindroamele biologice	"Caz-control" (n=103 pacienți)		HVBC (n=107 pacienți)		HVCC (n=74 pacienți)		p _{1,2,3}
	1		2		3		
	n	M _± m	n	M _± m	n	M _± m	
Sindromul de citoliză: ALT, u/l AST, u/l Fe seric, mmol/l	103	18 _± 0,5	107	66 _± 5,6*	74	73 _± 9,8*	p _{1,2,3} <0,001 p _{1,2,3} <0,001 p _{2,3} >0,05
Sindromul de coleastăză: bilirubina totală, mcmol/l gamaGT, mmol/l	103	11,9 _± 0,4	107	15,8 _± 1,1*	74	20,1 _± 3,2*	p _{1,2} <0,01 p _{1,3} <0,05
Sindromul hepatopriv: proteina totală, g/l albumina, g/l IP, % Fibrinogen, g/l			107	69 _± 0,6 107	74	67 _± 0,5 40 _± 0,6	p _{2,3} <0,05 p _{2,3} >0,05 p _{2,3} >0,05 p _{2,3} >0,05
Sindromul imunoinflamator: leucocite, 10 ⁹ /l IgA, g/l IgM g/l IgG, g/l			107	6,7 _± 0,21 17	74	6,5 _± 0,3 1,14 _± 0,15	p _{2,3} >0,05 p _{2,3} >0,05 p _{1,2,3} >0,05 p _{1,2,3} >0,05
Sindromul dishormonal: HbA1, % Peptida C, ng/ml T3 liber, nmol/l T4 liber, nmol/l TSH, ui/l			16	5,2 _± 0,4 17	40	5,2 _± 0,1 1,4 _± 0,2	p _{2,3} >0,05 p _{2,3} <0,05 p _{2,3} <0,05 p _{2,3} >0,05 p _{2,3} >0,05
Sindromul disfuncției renale: creatinina serică, umol/l			56	60 _± 1,4	49	68 _± 1,9	p _{2,3} <0,05

Notă: * – p_{2,3}>0,05;

Pentru copiii cu HVCC incluși în studiul dat a fost caracteristică predominarea genotipul 1b VHC în 89,1%, genotipul 3a - la 8,2%, iar genotipul 2 - 2,7% din pacienți (Figura 3.2.2).

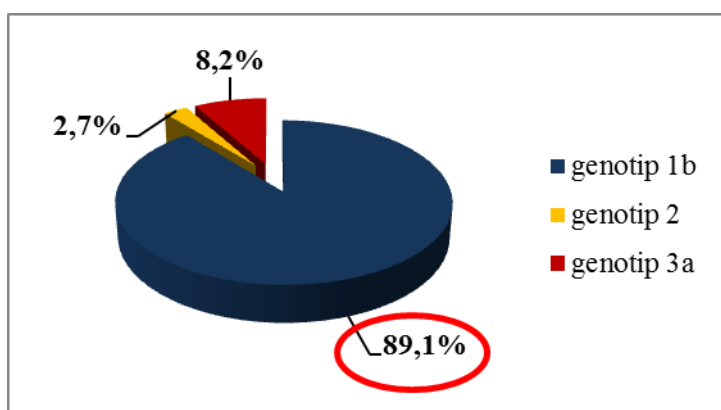


Fig. 3.2.2. Genotipurile VHC la copiii cu HVCC incluși în cercetare (%)

Tabelul 3.2.3. Statutul imunoserologic al markerilor VHB și VHC în HVBC și HVCC la copiii investigați

Marcherii virali	HVBC (n=107)		HVCC (n=74)		p
	n	%	n	%	
AgHBe pozitiv	70	65			<0,001
antiHBe	37	35			<0,001
antiVHD sumar pozitiv	16	15			<0,05
ADN VHB, pozitiv, ui/ml valoarea medie $1,97 \times 10^9 \pm 1,3 \times 10^9$ ui/ml, inclusiv:	102	95			<0,001
> 20 000 000 ui/ml (faza I imunotoleranță)	69	68			
>2 000 - 20 000 000 ui/ml (faza II imunoreactivă)	23	22			
<2000 ui/ml (faza III neactivă)	10	10			
ADN VHB negativ (ocultă), <200 ui/ml	5	5			
ARN VHD pozitiv, $3,9 \times 10^7 \pm 6,5 \times 10^5$ ui/ml	10	12			>0,05
ARN VHC pozitiv, ui/ml valoare medie $2,9 \times 10^6 \pm 1,1 \times 10^6$, inclusiv:			67	91	>0,05
> 600 000 ui/ml			41	55	
< 600 000 ui/ml			19	26	
ARN VHC negativ			7	9	

Examenul prin sonografie abdominală în 12% din cazuri de HVBC și 8% de HVCC nu a constatat modificări structural-anatomice ale parenchimului ficatului ($p < 0,05$). La o treime din pacienții cu HVBC s-a determinat hiperecogenitate difuză ușoară, la 33% – moderată și la 26% din cazuri – hiperecogenitate pronunțată ($p < 0,05$), astfel fiind confirmată importanța clinică a acestei exploarări instrumentale la etapa de precizare a diagnosticului. Modificările ecografice ale ficatului la pacienții cu HVCC au indicau predominarea hiperecogenității difuze pronunțate în 46% cazuri, ușoare – în 30% și moderate – în 16% din cazuri, comparativ cu cele la pacienții cu HVBC

($p < 0,05$). În ambele loturi de bază au fost constatate semne ecografice caracteristice colecistitei cronice acalculoase, cu pereți îngroșați ai veziculei biliare (HVBC - 40%; HVCC - 45%), fenomenul "sludj-ului" biliar cu sedimentarea și stratificarea bilei (HVBC - 19%; HVCC - 18%), semne ale dischineziei hipomotorii ale veziculei biliare. Examinarea pacienților prin aplicație Doppler portal color nu a depistat majorarea diametrului venei portale și lienale la nici un pacient, astfel confirmând absența semnelor de hipertensiune portală ($p > 0,05$). Viteza medie de circulație splanhnică a sângelui în v. portală și v. lienală, atât la pacienții cu HVBC cât și cei cu HVCC, a fost sub valorile de referință la subiecții sănătoși ($p > 0,05$).

Din numărul total de pacienți cu HVBC și HVCC incluși în cercetare, au fost reexaminați clinic și paraclinic peste 1 și 3 ani 111 copii (HVBC – 68; HVCC – 43). La toți pacienții (100%) a fost constatată o dinamică pozitivă cu ameliorarea stării generale, stabilizarea parametrilor clinici și biochimici modificați anterior ($p = 0,001$). Stare generală satisfăcătoare au prezentat 69% (HVBC) și 91% (HVCC) din pacienți ($p < 0,05$). În 31% din cazuri de HVBC și 9% cu HVCC pacienții au acuzat persistența semnelor clinice, așa ca: sindrom asteno-vegetativ, cefalee remitentă, tulburări de ritm ale somnului, durerilor surde periodice în hipocondrul drept sau epigastru postprandiale, a grețurilor și inapetenței ($p < 0,05$). Examenul fizic efectuat în dinamică a constatat în 54% (HVBC) și 49% (HVCC) de cazuri persistența hepatomegaliei și proeminarea cu 3 cm sub rebordul costal drept, ficat de consistență mediu dură, iar în 2 cazuri de HVBC – a hepatomegaliei importante de 4-5 cm ($p > 0,005$). În 67% din cazuri HVBC a fost apreciată ca formă cu AgHBe+ ($p < 0,001$) și lipsa antiHBe, prezența citolizei moderate cu ALT majorat de 3 ori față de valorile de referință, viremiei înaltă VHB, fără tulburări patologice ale funcției de sinteză a ficatului și metabolismului bilirubinei. La toți pacienții examinați prin ecografie abdominală în dinamică, nu a fost constatată progresarea semnelor structural-anatomice depistate la examenul anterior ($p > 0,05$). Cercetările imunoserologice ale dinamicii viremiei VHC la copiii cu HVCC la o distanță de un an au remarcat persistența fazei de viremie în 95% din cazuri în absența citolizei, cu nivel mediu al ARN VHC de $1,2 \times 10^6$ ui/ml la 41 de pacienți. Reevaluarea gradului de elasticitate hepatică la cei monitorizați peste un an a constatat absența creșterii indicelui și o valoare medie a elasticității de 6,2 kpa în HVBC și de 5,8 kpa în HVCC, fapt ce corespunde persistenței în timp a gradului minimal de fibroză hepatică în ambele loturi ($p > 0,05$). Aceste date ne-au permis a concluziona că evoluția pe termen scurt a HVBC și HVCC la copii a fost una blândă, fără progresare spre forme severe.

În supraveghere timp de 5 ani s-au aflat doar 8 pacienți (HVBC – 5 și HVCC – 3) la care au persistat manifestările clinice și biologice caracteristice unei faze active, inclusiv cu persistența sindromului asteno-vegetativ, dolor în hipocondrul drept, a citolizei recurente și a nivelului

fluctuant al viremiei cu reparația ARN VHB sau ARN VHC. Pe parcursul a 3-5 ani de monitorizare a pacienților cu HVBC și HVCC nu a fost constatat nici un caz de progresare spre ciroză hepatică.

În studiul de față am efectuat estimarea componentelor structurale în țesutul hepatic prelevat prin metoda biopsiei hepatice oarbă. Cercetarea histologică a țesutului hepatic prelevat la copiii cu HVBC și HVCC a constatat leziuni necro-inflamatorii minimale și moderate, cu indice de activitate histologică (IAH după scorul Knodell): în HVBC $8,3 \pm 1,9$ puncte; în HVCC $4,3 \pm 2,1$ puncte, ($p > 0,05$). Evaluarea stadiului maladiei cronice a constatat că, în 58% (HVBC) și 17% (HVCC) din cazuri au evoluat fără fibroză hepatică ($p > 0,05$). Fibroza hepatică minimală apreciată în tractul portal, fără organizarea în septuri de țesut conjunctiv a fost determinată la doar 2 copii cu HVBC și 4 cu HVCC. Fibroza hepatică prezentă în tractul portal și intralobular, cu formarea septurilor de țesut conjunctiv, fără formarea pseudolobulului hepatic, a fost constatată în doar 2 cazuri de HVBC și absentă în HVCC. Fibroza avansată porto-portală și prezența pseudolobulului hepatic au fost apreciate în doar 2 cazuri de HVBC și un caz de HVCC, fapt ce confirmă prezența dezorganizării arhitectonicii lobulului hepatic și prezența caracteristicilor specifice unui stadiu mai avansat de maladie, ca trecerea în ciroză hepatică. Conform datelor obținute de noi (Figura 3.2.3), HVBC în 63% și HVCC în 82% din cazuri au evoluat cu fibroză hepatică minimală F0-F1, ceea ce corespunde stadiului 0-1 al maladiei hepatice cronice cu o veridicitate statistică relevantă la compararea datelor între loturi ($p < 0,05$).

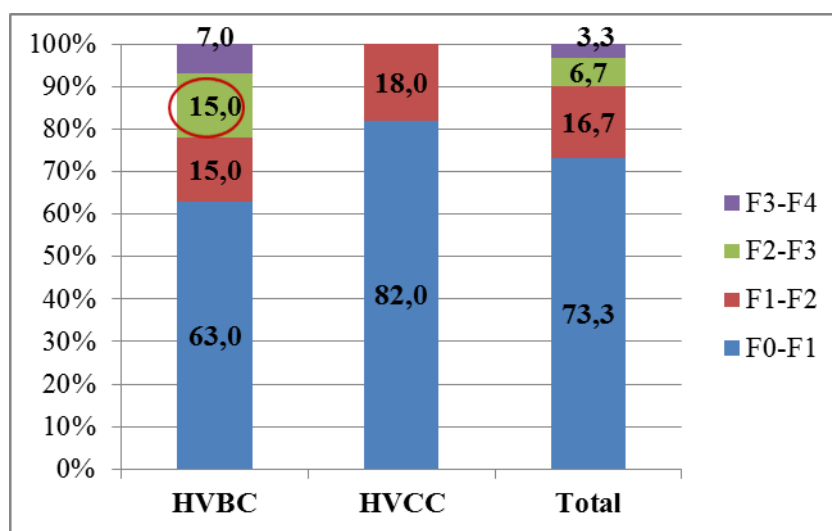


Fig. 3.2.3. Gradul de fibroză hepatică (%) în HVBC și HVCC la copiii investigați

Fibroza hepatică de gradul II (F2) a fost constatată în 15% din cazuri de HVBC și 18% de HVCC, fibroza hepatică de gradul III (F3) – la doar 15% din cazuri cu HVBC, iar gradul IV (F4) – la 7% (2) pacienți cu HVBC, patognomonic și semnificativ statistic pentru ciroza hepatică ($p < 0,05$). Valoarea medie a elasticității hepatice la copiii cu HVBC a fost de $5,8 \pm 0,4$ kpa, iar la cei cu HVCC – de $5,4 \pm 0,2$ kpa, fără semnificație statistică relevantă între loturi ($p > 0,05$). Valoarea medie a

elasticității hepatice în HVCC la copii a fost mai mică comparativ cu cei cu HVBC, cu predominarea în 82% din cazuri a F0-F1 și în 18% – a F2. Fibroză hepatică avansată F3 și F4 a fost determinată în doar 7% din cazuri de HVBC, fapt ce confirmă o evoluție mai severă a acestei forme clinice ($p < 0,05$).

4. ROLUL IMUNITĂȚII CELULARE ȘI A CITOKINELOR PROINFLAMATORII IL-2, IL-6, TNF- α ÎN PATOGENEZA HVBC ȘI HVCC LA COPII

4.1. Semnificația clinică a T limfocitelor (CD3) și a subpopulațiilor lor în HVBC și HVCC la copii

În scopul determinării particularităților imunității celulare la 50 de copii cu HVBC (25) și HVCC (25) a fost studiat statusul imun celular al T limfocitelor CD3 și subpopulațiilor lor, pretratament și posttratament antiviral. Pentru compararea valorilor medii ale celulelor T și B limfocitare ale copiilor cu HVBC și HVCC cu cele ale copiilor din lotul martor „caz-control”, statusul imun celular a fost examinat la 22 de copii considerați anterior condiționat „somatic sănătoși”. În ambele loturi de pacienți cu HVBC și HVCC s-a constatat un dezechilibru ponderal al limfocitelor T totale și al subpopulațiilor lor, cu veridicitate înaltă statistică, atât la compararea între loturile de bază (Figura 4.1.1), cât și cu cei din lotul „caz-control” ($p_{1,2} < 0,001$; $p_{1,3} < 0,01$; $p_{2,3} < 0,01$). Diminuarea limfocitelor T (CD3) și limfocitelor B (CD19) este un indicator al prezenței imunodeficienței congenitale a celulelor T limfocitare, cu relevanță statistică maximală la comparare între loturi ($p_{1,2} < 0,001$; $p_{1,3} < 0,01$; $p_{2,3} < 0,01$).

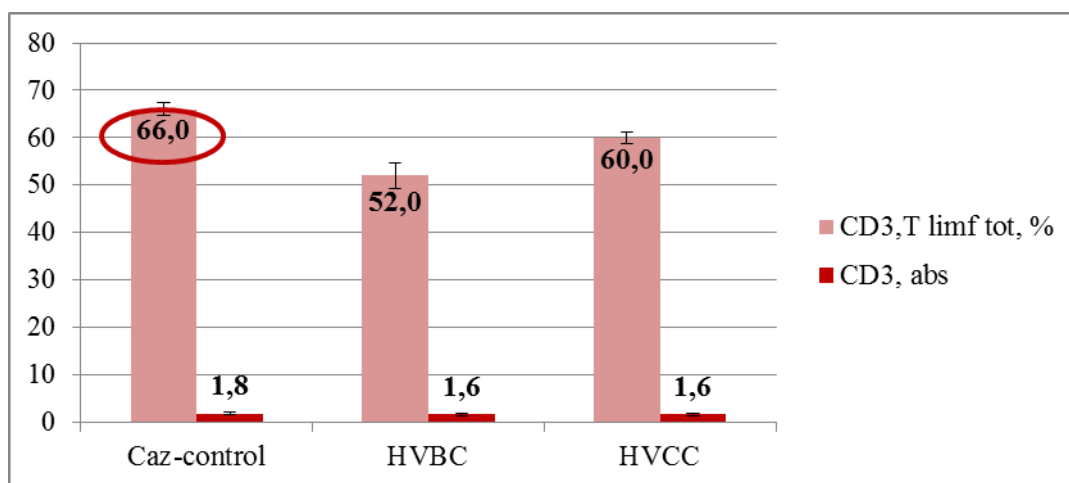


Fig. 4.1.1. Celulele T limfocitare totale (CD3 în % și abs) în HVBC și HVCC la copiii investigați. Dezechilibrul celulelor B (CD19) cu diminuarea acestora, indică prezența imunodeficienței secundare și a fenomenului migrării lor în organul-țintă (ficat) afectat, sau poate presupune existența imunodeficienței congenitale B celulare cu o relevanță semnificativă statistică la compararea între loturi ($p_{1,2} < 0,05$; $p_{1,3} < 0,001$; $p_{2,3} > 0,05$). Deficiențele congenitale sau secundare existente la pacienții cu HVBC sau HVCC stau la baza unui răspuns imun neadecvat și întârziat, cu

riscul major al evoluției persistente a acestor maladii pe parcursul a zeci de ani. Cantitatea absolută și relativă a celulelor T supresor (CD8+) era diminuată mai evocator la copiii cu HVBC comparativ cu cei cu HVCC, semnificând prezența componentului autoimun și migrarea celulelor CD8+ spre organul-țintă afectat ($p_{1,2}<0,01$; $p_{1,3}<0,05$; $p_{2,3}<0,05$). La subiecții sănătoși cu vârsta între 1-6 ani raportul imunoreglator CD4+/CD8+ a variat între 1,0-1,6, iar la cei de 7-17 ani – între 1,0-1,4. În cazurile pacienților cu HVBC și HVCC, acest raport s-a prezentat cu valori majorate de 3 ori în HVBC și de 2 ori în HVCC, indicând prezența fenomenelor autoimune.

Raportul (CD4+CD8)/CD3 la pacienții cu HVBC, comparativ cu cel din lotul copiilor „somatic sănătoși” și cu HVCC, a fost relativ mare, dar fără o relevanță statistică ($p>0,05$). În viziunea noastră, raportul imunoreglator (CD4+CD8)/CD3 reflectă capacitatea de maturizare a limfocitelor T și poate fi exprimat în 2 forme: „dublu negativ” (CD4-, CD8-) și „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+). Între indicii imunoreglatori CD4+/CD8+ și (CD4+CD8)/CD3 a fost determinată o legătură direct proporțională, cu semnalarea componentei autoimune. Rezultatele obținute ne-au permis determinarea fenotipului „dublu negativ” (CD4-, CD8-)<CD3 într-o proporție majorată de 21,4% a limfocitelor T (CD3) în 32% din cazuri la cei cu HVCC și în doar 4% din cazuri cu HVBC. Fenotipul „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+)>CD3 al celulelor T limfocitare (CD3) cu valori majorate de 21,6% a fost determinat în 41% din cazuri de HVCC și în 36% – cu HVBC. În sângele periferic la subiecții sănătoși celulele T limfocitare în formă „dublu negativ” (CD4-, CD8-) constituiau 3-5%, iar cele în forma „dublu pozitiv” – nu depășeau 5%. Majorarea celulelor T limfocitare (CD3+) în forma fenomenului „dublu negativ” (CD4-, CD8-) în sângele periferic poate fi un indicator al tulburărilor procesului de maturizare a limfocitelor T, frecvent întâlnit în procesele autoimune. Numărului celulelor T limfocitare (CD3) cu fenotipul „dublu negativ” (CD4-, CD8-) și „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+) poate fi calculată prin determinarea diferenței între suma (CD4+ și CD8+) și CD3, apoi cu aprecierea ponderii (%) acestei diferențe din numărul total de celule T limfocitare CD3.

O pondere diminuată a limfocitelor T mature (CD5) a fost constatată în ambele loturi de bază, cu relevanță statistică valoroasă la compararea indicilor, inclusiv cu cei din LS ($p_{1,2}<0,001$; $p_{2,3}<0,001$). La copiii cu HVBC și HVCC, comparativ cu cei din lotul LS, am depistat cu o veridicitate statistică, valori crescute ale celulelor T limfocitare CD16 (kileri naturali), caracteristice procesului activ cronic viral. Majorarea cantitativă a numărului celulelor T limfocitare CD16 este specifică proceselor cronice virale, acestea corelând clinic cu procesul intens și persistent de stimulare antigenică, cu implicarea mecanismelor nespecifice și specifice de eliminare a VHB și VHC. Limfocitele T activate cu fenotipul CD HLA DR reprezintă un marker de implicare tardivă a răspunsului imun celular și reflectă procesele de hiperreactivitate. Semnificația clinică a acestui

marcher poate fi regăsită în forma și tipul răspunsului imun. Fenotipul CD HLA DR la pacienții cu HVCC prezenta valori scăzute, comparativ cu cei cu HVBC, cu o veridicitate statistică importantă, comparativ cu cei din lotul martor ($p_{1,2}<0,001$; $p_{2,3}<0,01$).

4.2. Citokinele proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α și rolul lor în patogeneza HVBC și HVCC la copii

În scopul determinării rolului citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α în imunopatogeneza HVBC și HVCC la copii ne-am propus cercetarea limfocitelor T CD3 și a subpopulațiilor lor la 49 de pacienți cu HVBC (30), HVCC (19) și 21 de copii considerați anterior condiționat „somatic sănătoși” (Tabelul 4.2.1). Datele obținute în studiul dat confirmă rolul important al IL-2, IL-6, TNF- α în imunopatogeneza HVBC și HVCC la copii, justificând prezența imunodeficienței celulare secundare, menținerea procesului inflamator și reproducerea virală îndelungată. Analiza corelației valorilor serice ale citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6 și TNF- α în sângele copiilor incluși în cercetare și a nivelului de replicare VHB a evidențiat o majorare a IL-2 și IL-6 la pacienții cu HVBC în faza II (imunoreactivă) a procesului viral cu ADN VHB > 2000 – 10⁸ ui/ml, cu o veridicitate statistică relevantă la compararea între loturi ($p<0,05$), în timp ce la cei cu faza neactivă sau viremie minimală, exprimată prin ADN VHB < 2000 ui/ml – valorile serice ale IL-2 și IL-6 erau mai diminuate ($p>0,05$).

Tabelul 4.2.1. Citokinele proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α în HVBC și HVCC la copiii investigați

Citokinele	„Caz control” (n=22)		HVBC (nr=107)		HVCC (nr=74)		p _{1,2} ; p _{1,3} ; p _{2,3}
	1		2		3		
	nr	M \pm m	nr	M \pm m	nr	M \pm m	
IL-2, pg/ml	21	1,5 \pm 0,3	30	108 \pm 47	19	113 \pm 34	<0,05 <0,05 >0,05
IL-6, pg/ml	21	4,5 \pm 0,4	30	41 \pm 22	19	29 \pm 14	>0,05 >0,05 >0,05
TNF- α , pg/l	21	4 \pm 0,5	30	7,6 \pm 0,7	19	7 \pm 0,5	>0,05 >0,05 >0,05

Notă: M \pm m – valoarea medie și eroarea statistică; p – semnificația statistică între loturi; teste statistice: t-Student; criteriul Fisher

Nivelul seric al IL-2 și IL-6 la copiii cu HVCC și ARN VHC < 600 000 ui/ml au fost majorate, comparativ cu indicii la care ARN VHC depășea 600 000 ui/ml ($p>0,05$). Concentrația serică a TNF- α la pacienții cu HVBC și HVCC a fost ușor crescută, comparativ cu cei din lotul „caz-control”. Rezultatele obținute în studiul dat au demonstrat prezența concentrației serice majorate a IL-2 și diminuată a IL-6, TNF- α la copiii cu HVBC și HVCC și fază de viremie activă.

Intensitatea sintezei citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α este dependentă de mecanismele complicate imunoreglatorii ale sistemului celular T și B limfocitar și reflectă interacțiunea nemijlocită a multitudinii de factori ai sistemului imun celular și umoral, prin activarea sau stoparea producerii acestora sau a celor antiinflamatorii. Corelarea diferitor factori ai imunității celulare și umorale la copiii cu HVBC și HVCC este una decisivă și valoroasă a pentru tipul răspunsului imun, exercitând rolul factorilor-cheie în procesul de cronicizare.

5. TRATAMENTUL ANTIVIRAL ȘI NEVIRAL ÎN HVBC ȘI HVCC LA COPII ȘI PRINCIPIILE DE OPTIMIZARE A LUI

5.1. Eficacitatea tratamentului cu interferon alfa 2b în HVBC și HVCC la copii

Scopul principal al terapiei antivirale în HVBC și HVCC este reducerea pe termen lung a nivelului de viremie, obținerea seroconversiei AgHBe/antiHBe la pacienții cu HVBC și AgHBe+, normalizarea ALT și a stării generale a pacientului, menținerea pe termen lung a aviremiei, reducerea activității procesului cronic inflamator, supresia totală a reproducerii VHB sau VHC cu seroconversia totală AgHBs/antiHBs, pentru creșterea șanselor de vindecare și ameliorare a calității vieții acestor pacienți [96]. Studiul nostru a inclus 98 de copii – 49 cu HVBC și 49 cu HVCC, având vârsta cuprinsă între 3-18 ani, viremie măsurată cantitativ și sindrom de citoliză prezent. Durata tratamentului cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard) monoterapie a fost de 24-48 de săptămâni în HVBC, iar a celui combinat cu ribavirină în HVCC – de 24-48 de săptămâni, în funcție de genotipul VHC. Interferonul alfa 2b standard a fost administrat parenteral în doze 3 mln x 3 ori/săptămână, iar forma pegilată – în doză de 60 mcg/m²/săptămână (echivalent cu 1,5 mcg/kg/săptămână) timp de 24 de săptămâni în HVBC fără agent D și 48 de săptămâni – asociată cu agentul D. În 13 cazuri de HVBC la copiii de vârstă sub 5 ani, care nu au fost încadrați în tratamentul cu interferon alfa 2b, la acordul familiei pacientului, a fost administrată lamivudina în doză de 3 mg/kg/24 de ore pentru o perioadă de 48 de săptămâni.

Fiecare pacient înrolat în tratamentul antiviral a fost reevaluat fizic, clinic și imunologic la 1, 3, 6, 9 și 12 luni de tratament. Măsurarea cantitativă a ADN VHB, ARN VHD (în cazurile de prezență a agentului delta) și ARN VHC a fost efectuată la 4, 12, 24, 48 de săptămâni și peste 6 luni după terminarea tratamentului antiviral. Din cei 98 de copii cu HVBC și HVCC înrolați în tratamentul antiviral, cura deplină a fost încheiată de 96, iar 2 pacienți au fost excluși din motive individuale. Reacțiile adverse constatate pe parcursul tratamentului antiviral cu INF alfa 2b (monoterapie) sau combinat cu ribavirină au fost următoarele: sindrom gripal în 25 (100%) din cazuri de HVBC și 24 (49%) de HVCC, exprimat prin cefalee, nosee, subfebrilitate sau febră 38,5-39,5⁰C, slăbiciuni generale, dereglări de somn, anxietate, diminuarea apetitului care au dispărut peste 3-4 luni de la debutul tratamentului (p<0,001). 24% (6) din pacienți cu HVBC și 35%

(17) cu HVCC au manifestat tulburări nutriționale și diminuarea greutatei ponderale cu 3-5 kg pe parcursul primelor 3 luni de tratament, necesitând suplimentarea rației alimentare cu produse bogate în proteină și reechilibrarea aportului de vitamine ($p < 0,001$).

Modificări ale hemoleucogramei au fost determinate în 28% (7) din cazuri de HVBC și 33% (16) de HVCC, exprimate prin diminuarea nivelului Hb până la 9-10 g/l și leucopenie moderată ($p < 0,001$). În 3 cazuri de HVCC genotip 1b doza de ribavirină a fost redusă cu 50%, iar a INF alfa 2b pegilat - până la 1.0 mcg/kg/săptămână. Într-un caz de HVCC genotip 1b cu viremie înaltă, fibroză hepatică F1-F2 la a 41-a săptămână de tratament a fost semnalată tahicardia postinjecțională, iar într-un caz de HVBC - epistaxisul în ziua injectării remediei, tratamentul fiind suplimentat cu administrarea vitaminei K. În câte un caz (HVBC – 1; HVCC – 1) injectarea INF alfa 2b la copii a dezvoltat necroza locală a mușchiului deltoid, fiind necesar tratamentul local chirurgical. Toți cei 4 pacienți au terminat cura deplină de tratament de 48 de săptămâni, cu obținerea RVS. În 8 (16%) cazuri de HVCC genotip 1b s-a atestat recăderea și reapariția viremiei VHC. 50% din pacienții cu HVBC tratați cu interferon alfa 2b (standard sau pegilat) au realizat un răspuns virusologic parțial (RVP), iar 19% din pacienți nu au răspuns la terapia efectuată ($p < 0,001$). Tratamentul combinat antiviral cu INF-alfa 2b pegilat și ribavirină în HVCC la copiii încadrați s-a soldat în 60% din cazuri cu răspuns virusologic susținut (RVS), în 10% din cazuri – cu răspuns virusologic parțial (RVP). Din numărul total de copii cu HVCC, încadrați în tratamentul antiviral combinat, 30% din cazuri cu genotipul 1b VHC nu au fost respondenți la tratament ($p < 0,001$). Pacienții cu HVCC genotip 2 VHC (2) și 3a (6) au dezvoltat RVS în 100% de cazuri, prezentând aviremie la 3 luni de la debutul terapiei și menținut timp de 5 ani de supraveghere dinamică.

Tabelul 5.1.1. Remediile antivirale utilizate și ponderea copiilor (%) tratați cu INF alfa 2b (monoterapie în HVBC și combinat cu ribavirină în HVCC)

Remediile antivirale	HVBC (n=48)	HVCC (n=48)	p
INF alfa 2b pegilat	25 (52%)	-	<0,001
INF alfa 2b standard	10 (21%)	6 (12%)	<0,001
Lamivudină	13 (27%)	-	<0,001
INF alfa 2b pegilat combinat cu ribavirină	-	42 (88%)	<0,001

Managementul terapeutic al HVBC și HVCC la copii continuă să prezinte o problemă dificilă și nerezolvată în practica pediatrică [161]. La copii sunt raportate date insuficiente privind eficacitatea terapiei antivirale pe termen lung. Rezultatele obținute pe termen lung ale tratamentului

cu lamivudină ale copiilor de vârstă 3-12 ani indică la o rată redusă a RVS între 15-34% din cazuri, existând riscul major pentru instalarea acidozei lactice, a hiperamilazemiei, dezvoltării pancreatitei acute sau apariției mutațiilor rezistente în timp. Cu toate acestea, tratamentul HVBC la copii rămâne limitat doar la interferon alfa 2b sau 2a pegilat sau la lamivudină în cazul contraindicațiilor la INF. Utilizarea analogilor nucleozidici, așa ca adefovirul, entecavirul, tenofovirul, aprobate în tratamentul HVBC la copiii mai mari de 12-15 ani, este neaccesibil prin costuri crescute și absența programelor naționale la copii susținute financiar, unicul remediu de alternativă fiind doar lamivudina.

În scopul determinării proporționalității corelaționale a unor parametri clinici și biologici caracteristici HVBC și HVCC la copii, care ar facilita selectarea reușită a schemelor de tratament, ne-am propus analiza coeficientului de corelare Pearson a unor parametri fizici, biochimici și virusologici. Conform datelor prezentate, a fost determinată o distribuție uniformă a variabilelor comparabile și o legătură strict liniară între anumiți parametri fizici, clinici și anatomo-biologici ce caracterizează HVBC și HVCC la copiii incluși în cercetare: a fost evidențiată o corelație foarte strânsă între ALT și AST ($r=0,87$), nivelul viremiei inițiale și celei de la 3 luni ($r=0,71$), 6 luni și peste 1 an de tratament ($r=0,99$), dintre gradul de fibroză F exprimat numeric și valoare în kpa ($r=0,79$), datele fiind prezentate în Figurile 5.1.3-5.1.5, cu semnificație statistică relevantă ($p < 0,001$). Supravegherea în dinamică a 111 pacienți cu HVBC și HVCC timp de 3 ani nu a evidențiat agravarea stării generale, a parametrilor clinici, biochimici, imunologici și anatomo-morfologici. Pentru HVBC a fost caracteristică persistența AgHBe ($p < 0,001$), a sindromului de citoliză ($p < 0,05$), persistența fibrozei minimale ($p > 0,05$), menținerea fazei de imunotoleranță VHB, iar în HVCC – absența sindromului de citoliză cu normalizarea ALT și AST ($p < 0,05$), persistența fibrozei hepatice minimale și a fazei de viremie înaltă VHC la majoritatea pacienților.

5.2. Tratamentul de alternativă în HVBC și HVCC cu pacovirină la copii și principiile de optimizare a lui

Pacovirina este un remediu fitoterapeutic autohton elaborat de savanții Spînu C., dr.hab.șt.med., prof.univ. și Chintea P., dr.hab.șt.med., prof. univ., după o tehnologie avansată, cu un procent sporit de substanță biologic activă și aplicat cu succes în practica medicală la adulți. Utilizarea pacovirinei a fost aprobată pentru tratamentul hepatitelor virale la adulți și copii prin ordinul Ministerului Sănătății al Republicii Moldova (nr. 301 din 16.12.1997) și a aplicat în practică în cadrul Programului de Stat „Hepatitele și cirozele, profilaxie și metode avansate de tratament”. Inițial au fost selectați pentru a fi incluși în studiu 41 de pacienți cu HVBC și HVCC, dintre care doar 33 au finalizat tratamentul, iar 8 au fost excluși în prima lună din diverse motive familiale și din lipsă a compliancei. După aplicarea criteriilor de includere și excludere, în studiu au fost eligibili 67 de pacienți cu HVBC și HVCC, cu vârsta cuprinsă între 3-18 ani, aleator repartizați în două

loturi: 33 tratați cu pacovirină (HVBC–15, HVCC–18) și 34 – fără pacovirină, cu hepatoprotectori. Semnele clinice ale HVBC și HVCC la copiii din lotul cu pacovirină, comparativ cu cele din lotul fără pacovirină, au fost mai evocatoare și semnificative statistic ($p < 0,001$). Modificările paraclinice în HVBC și HVCC la pacienții tratați cu pacovirină au fost determinate de citoliză (55%) și coleastăză (36%), comparativ cu cei tratați fără pacovirină – 59% și 30% respectiv. Pacovirina a fost administrată în formă de capsulă și doza de 100 mg/zi în două prize, cu 30 minute înainte de mesele de dimineață și seara, timp de 24 de săptămâni. Concomitent, toți pacienții din ambele loturi au beneficiat de un regim igienico-dietetic și tratament simptomatic similar. Studiul dat a demonstrat că pacovirină, utilizată pentru prima dată la copii în tratamentul HVBC și HVCC în fază de viremie, are proprietăți antivirale indirecte și lente, imunomodulatoare și ca inductor de interferon, contribuind la diminuarea ADN VHB în 30% și ARN VHC – în 32% din cazuri ($p_1 < 0,05$; $p_2 < 0,05$).

CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI

CONCLUZII

1. Hepatitele virale B și C cronice la copii ocupă o pondere importantă în structura etiologică a hepatitelor virale cronice la copii, cu predominarea HVBC (59,1%) și a HVCC (40,9%), afectare preponderentă a vârstei adolescenților ($11 \pm 5,2$ ani), celor din mediul rural (63%) și a sexului masculin (60,8%), confirmând importanța acestei probleme ca una amenințătoare pentru sănătatea publică începând din copilărie [p. 119].
2. Infectarea copiilor cu VHB sau VHC s-a produs în 41,5% pe cale parenterală (HVBC – 50%; HVCC – 30%). Sursa principală de contaminare a copiilor cu VHB (46,7%) și VHC (30%) sunt mamele lor purtătoare de AgHBs sau cu HVBC și HVCC în fază activă virală. Riscul infectării cu VHB sau VHC a copiilor pe cale parenterală a fost mai mare la pacienții cu HVBC (19,6%), comparativ cu cei cu HVCC (9,5%), ca rezultat al transfuziilor de sânge sau plasmă – la o treime din cei cu HVCC (27%) față de pacienții cu HVBC (6,5%). Transmiterea infecției cu VHC copiilor poate fi realizată prin utilizarea instrumentarului chirurgical sterilizat necalitativ în 6,8% și a manoperelor stomatologice în 4%, fenomen ce reflectă importanța actului medical în menținerea lanțului epidemiologic [p.119].
3. Vârsta medie a copiilor la care a fost confirmată HVBC a fost de $5,8 \pm 0,5$ ani, iar în HVCC – de $7,7 \pm 0,6$ ani, cu o durată medie de cronicizare de $5 \pm 0,36$ ani. Durata medie de evoluție a maladiei hepatice cronice virale a fost de $5 \pm 0,36$ ani (HVBC – $5,8 \pm 0,5$; HVCC – $3,8 \pm 0,4$). Aceste date denotă o prudență insuficientă în procesul de supraveghere a copiilor de vârstă fragedă cu risc sporit privind infecția cu VHB sau VHC, ce provin din focare familiale și sugerează un diagnostic tardiv [p.119].

4. Manifestările clinice ale HVBC la copii sunt multisindromale, nespecifice, evoluția maladiei cronice virale fiind predominantă în 65,4% cazuri cu AgHBe pozitiv, activitate biochimică minimală, fază de imunotoleranță și ADN VHB $> 1,9 \times 10^9$ ui/ml, indice de activitate necroinflamatorie minimal (IAH) de $8 \pm 1,8$ puncte, fibroză hepatică minimală F0-F1 (63%) și indice mediu de elasticitate $5,8 \pm 0,4$ kpa (după scala Metavir) [p.119].
5. HVCC la copii a fost depistată ca primar cronică, cu evoluție latentă și puțin simptomatică, manifestată prin indici de activitate necroinflamatorie minimali (IAH de $4 \pm 2,1$ puncte), fază de replicare VHC înaltă în 82% cazuri și ARN VHC $> 600\,000$ ui/ml (valoarea medie de $2,8 \times 10^6$ ui/ml), cu predominarea genotipului 1 VHC (89%), 3a (8%), fibroză hepatică minimală F0-F1 (după scala Metavir) [p.119].
6. Cercetarea statusului imunității celulare a copiilor cu HVBC și HVCC a relevat prezența dezechilibrului total al celulelor limfocitare T, exprimat prin diminuarea CD3, CD19, CD4+, CD8+, CD5, CD HLA DR statistic confirmat, cu majorarea indicelui imunoreglator CD4+/CD8+, creșterea ponderii celulelor T kileri naturali CD16. Prezența fenotipului „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+)>CD3 la 36% din copiii cu HVBC și la 41% din pacienți cu HVCC, confirmă prezența mecanismelor autoimune de autoapărare în situația de „stres cronic infecțios” la stimulările antigenice virale pe fundalul insuficienței imune celulare a limfocitelor T. Acest fenomen explică importanța statusului imun celular în imunopatogeneza HVBC și HVCC la copii și mecanismele evoluției silențioase, cu viremie înaltă, dar cu activitate necroinflamatorie și fibroză minimală [p.136].
7. Citokinele proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α au un rol important în imunopatogeneza și determinarea prognosticului HVBC și HVCC la copii cu predominarea activității majorate a IL-2, ca manifestare imunologică a persistenței “stresului cronic infecțios” și a instalării sindromului de imunodepresie. IL-2 nu influențează direct procesul de replicare virală VHB sau VHC, dar contribuie la maturizarea limfocitelor B și stimularea secreției de către hepatocit a proteinelor proinflamatorii de fază acută, amplificând funcția neutrofilelor și a celulelor kileri naturali (CD16) pentru menținerea echilibrului celulelor imunocompetente [p.137].
8. Tratamentul antiviral cu interferon alfa 2b pegilat (standard sau lamivudină) la pacienții cu HVBC a fost eficient în 31% din cazuri și la cei cu HVCC (combinat cu ribavirină) – în 60% din cazuri, cu dobândirea răspunsului virusologic așteptat și susținut. Pacienții cu HVCC și genotip 2 sau 3 au avut o rată a răspunsului virusologic așteptat în 100% de cazuri, susținut timp de 5 ani, fără recădere B [p.159].
9. Utilizarea remediului fitoterapeutic autohton pacovirină, administrat copiilor cu HVBC și HVCC și optimizarea schemei de tratament neviral au contribuit la reducerea importantă a ADN VHB (24% din cazuri) cu 30% și a ARN VHC (48% din cazuri) cu 32%, ceea ce a

condus la ameliorarea semnificativă clinico-paraclinică a maladiei și diminuarea viremiei VHB și VHC [p.159].

10. Scopul acestui studiu științific a fost atins pe deplin cu determinarea ponderii HVBC și HVCC în structura afecțiunilor cronice ale ficatului la copii în Republica Moldova. Au fost precizate particularitățile etiopatogenetice, clinico-imunologice ale diverselor forme evolutive de HVBC și HVCC la copii, evidențiați factorii și mecanismele cronicizării infecției cu VHB sau VHC. Prin cercetări fundamentale imunologice a fost demonstrat rolul celulelor T linfocitare CD3 și a subpopulațiilor lor, citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α și a stresului cronic infecțios în imunopatogeneza HVBC și HVCC la copii, cu activarea proceselor autoimune și menținerea reproducerii virale pe termen lung. Pentru prima dată la copiii cu HVBC și HVCC au fost estimate rezultatele tratamentului antiviral cu INF alfa 2b (pegilat sau standard) și fitoremediul autohton pacovirină care au contribuit la reducerea viremiei VHB sau VHC. Rezultatele cercetării de față ne-au permis elaborarea algoritmilor de diagnostic precoce și a celui diferențial, precum și optimizarea principiilor de tratament antiviral și neviral în HVBC și HVCC la copii, pentru creșterea șanselor de vindecare și ameliorare a calității vieții acestor pacienți.

RECOMANDĂRI PRACTICE

1. Copiii cu hepatomegalie depistată primar, cu ALT și AST majorate $> 1,5-2$ N necesită examinare la markerii de fază acută și cronică ai VHB (AgHBs, AgHBe, anti-HBs, anti-HBe, anti-HBcor IgM, anti-HBcor totali), VHC (anti-HCV IgM, anti-HCV totali). Pacienții cu AgHBs pozitiv necesită examinarea AgHBe, ADN VHB prin metode semicantitative (la prima etapă) și cantitative în timp real (la următoarele etape), efectuarea sonografiei abdominale pentru diagnosticul precoce al hepatitei virale B, C cronice.
2. Pacienții minori cu AgHBs pozitiv mai mult de 6 luni și tulburări ale funcțiilor de bază ale ficatului necesită examinare la anti-VHD IgM și anti-VHD totali, ARN VHD semicantitativ și cantitativ în timp real, în scopul depistării active a infecției cronice cu VHD la copii.
3. Copiii din focarele familiale de infecție cronică cu VHB sau VHC determinată la unul din membrii familiei necesită supraveghere în grupul de risc și examinare primară complexă și reexaminare în dinamică la 6 luni pentru markerii VHB și VHC de fază acută și cronică.
4. Adolescențele și femeile de vârstă fertilă cu AgHBs pozitiv necesită testare la AgHBe/anti-HBe, anti-VHD IgM, ADN VHB și anti-HCV totali și ARN VHC (semicantitativ și cantitativ) pentru depistarea precoce a infecției cronice și prevenirea infectării perinatale (vertical) a nou-născutului.

5. Copiii nou-născuți de mame cu AgHBe pozitiv și ADN VHB pozitiv, determinați pe parcursul sarcinii, necesită vaccinare anti-HVB în primele 12 ore după naștere, cu administrarea concomitentă cu prima doză de vaccin anti-HVB și a imunoglobulinei specifice anti-HVB (IgHVB), cu aplicarea ulterioară a schemei de vaccinare antiVHB 0, 1, 2, 6/12, cu monitorizare clinică și paraclinică a copilului în primele 3 luni și pe parcursul primului an de viață, examinarea AgHBs și anti-HBs cantitativ, iar alăptarea copilului la sân nu este contraindicată.
6. Copiii vaccinați anterior anti-HVB și cu titrul anti-HBs sub 10 ui/ml sunt considerați persoane cu imunitate protectivă diminuată și necesită revaccinare anti-HVB cu o doză buster la fiecare 5-7 ani, în scopul menținerii imunității specifice dobândite postvaccinal și profilaxiei infecției cu VHB și VHD.
7. Copiii născuți de mamele cu anti-HCV totali pozitivi și ARN VHC pozitiv vor fi supravegheați clinic în dinamică și testați la anti-HCV totali și anti-HCV IgM, Bi și fracțiile ei, ALT, AST și ARN VHC semicantitativ la vârsta de 6, 12, 18 și 24 de luni de viață. În caz de prezență a hepatomegaliei, sindromului de citoliză și a anti-HCV totali, la copii se va aprecia ARN VHC cantitativ în timp real, genotipul VHC în scopul stabilirii diagnosticului de HVCC precoce. Copiii născuți de mame cu anti-HCV totali pozitivi și ARN VHC pozitiv nu au contraindicație pentru alăptarea la sân, având precauții doar în caz de traumatizare cutanată mamelară.
8. Copiii cu hepatită virală B sau C cronică necesită determinarea activității procesului inflamator hepatic prin examinarea bilirubinei și fracțiilor ei, a albuminei, proteinei totale, ALT și AST, gamaGT, fosfatazei alcaline, ureei, creatininei, indicelui de protrombină, fibrinogenului, hemoleucogramei și trombocitelor, hormonilor tirioidieni T₃, T₄, TSH, funcției endogene a pancreasului cu determinarea glucozei, lipazei serice, a insulinei serice, gradului de fibroză hepatică prin utilizarea metodelor neinvazive așa ca elastometria (FibroScan) sau FibroTest-ul, iar în cazuri diagnostic dificile – prin biopsie hepatică și cercetare histologică a țesutului hepatic.
9. Copiii cu hepatite virale B, C cronice și ALT majorat cu 2N și viremie mai mare de 2 000 ui/ml sunt eligibili pentru tratamentul antiviral cu interferon alfa 2b sau 2a pegilat sau cu analogi nucleotidici (-zidici) monoterapie în HVBC, iar pentru cei cu HVCC se va aplica terapia combinată cu interferon alfa 2b sau 2a pegilat și ribavirină. În scopul prevenirii reacțiilor autoimune nedorite, se recomandă pretratament examinarea statusului imun celular cu determinarea prin metodă imunofenotipării a celulelor T limfocitare CD3 și a subpopulațiilor lor, cu calcularea ratei fenomenelor “dublu negativ” sau „dublu pozitiv”, a citokinelor

proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α ca criterii diagnostice și prognostice ale severității procesului inflamator hepatic.

10. Pacienții cu HVBC sau HVCC și contraindicații la tratamentul clasic antiviral cu interferon alfa 2b sau 2a pegilat, pot fi tratați prin metoda optimizată de alternativă cu remediul fitoterapeutic autohton pacovirină, în scopul ameliorării calității vieții acestor pacienți și reducerii viremiei.

BIBLIOGRAFIE

1. Babiuc C., Dumbrava V-T. Medicina internă. Vol. II. Gastroenterologie. Hepatologie. Reumatologie. Chishinău, 2007. 640 p.
2. Dumbrava V.T. ș a. Hepatita cronică și ciroza hepatică de etiologie virală B și D la adulți. Protocol Clinic Național. Ministerul Sănătății al Republicii Moldova. Chișinău, 2015. Accesat 08.02.2017. Available from: www.office@ms.gov.md.
3. Holban T. Hepatitele virale B, C acute, cronice și mixte (particularități clinice, evolutive, imunologice și de tratament). Teza de dr.hab.în șt.medicale. Chisinau, 2009, 213 p.
4. Lupașco I. Hepatitele virale B și C la adulți (factori de risc, particularități clinico-evolutive, hormonal metabolice, imunologice și optimizarea metodelor de tratament). Teza de doctor habilitat în științe medicale. Chișinău, 2017. 302 p.
5. Moraru E. Hepatita cronică la copil. Iași: Polirom, 1999. 511 p.
6. Андриуца К. А., Вязов С. Д., Блохина Н. П. Вирусный гепатит дельта. Кишинев, 1998. Типография Штиинца. 138 с.
7. Вольнец Г.В., Потапов А.С., Скворцова Т. А. Хронический вирусный гепатит С у детей: проблемы и перспективы. В: Актуальные вопросы педиатрии. Вестник РАМН, 2014, № 11 - 12, с. 46 - 53.
8. Гриневич В. В. Нейроэндокринные взаимодействия в гипоталамусе и их роль в адаптивных реакциях организма: Автореф.дисс. док.мед.наук, М., 2000. 25 с.
9. Калинина Н. М. и др..В: Журнал “Цитокины и воспаление”, 2005, Т.46 № 1. с. 28 - 35. Available from: www.cytokines.ru. (accesat 02.02.2017).
10. Кетлинский С. А. Цитокины. СПб. ООО «Издательство Фолиант», 2008. 552 с
11. Крамарев С. А. Вирусные гепатиты у детей. В: Журнал “Здоровье Украины”, 2013. <http://www.health-ua.org>. (accesat februarie, 2017).
12. Лобзин Ю. В. Иммунопатогенез вирусного гепатита С. Иммунологические маркеры прогрессирования заболевания. В: Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, Москва, 2007, № 6, с. 75-84.
13. Логинов А. С. Интерлейкины при хроническом вирусном гепатите . В: Терапевтический архив, 2001, № 2, с. 17 - 20.
14. Раба Т. Хронический вирусный гепатит В и С у детей, рожденных от инфицированных HBV и HCV матерей. В: Детские инфекции. Москва, 2017, т. 16, №1, с.12 - 15. IF 0,438. elibrary.ru, <http://detinf.elpub.ru>.
15. Beasley R.P. et al. The e antigen and vertical transmission of hepatitis B surface antigen. IN: Am J Epidemiol, 1977, v.105 (2), p. 94 – 98.

16. Bortolotti F. et al. Epidemiological Survey of Hepatitis C Virus Infection in Italian Children. În: Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, vol. 31, Suppl. 2, 2000. Abstract 775.
17. Trautwein C. et al. Hepatic fibrosis: concept of treatment. In: J of Hepatology, 2015, v. 62, S15-S24.
18. Global Health Sector Strategy On Viral Hepatitis, 2016-2021. Switzerland. WHO/HIV/2016.06. 56 p. E-mail: hepatitis@who.int (Vizitat 15 mai, 2017).
19. GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study, 2013. In: Lancet, 2015. V. 385 (9963), p.117 – 171.
20. GAVI. Hepatitis B vaccine at birth GAVI responds to MSF, 2014. <http://www.gavi.org> (Vizitat 01.06.2017).
21. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. Updated version, April 2016. Geneva: World Health Organization; 2016. <http://apps.who.int/iris>. (Vizitat 7 aprilie, 2017).
22. Mohan P. et al. Evaluating progression of liver disease from repeat liver biopsies in children with chronic hepatitis C: a retrospective study. In: Hepatology, 2013, V. 58 (5), p.1580-1586.
23. Mauss S. et al. Hepatology. A clinical textbook, 7th edition, 2016. 709 p.
24. Sokal E.M. et al. Management of chronic hepatitis B in childhood: ESPGHAN Clinical Practice Guidelines. In: Journal of Hepatology, 2013, V. 59, p. 814-829.
25. Sunbul M. Hepatitis B virus genotypes: Global distribution and clinical importance. In: World J Gastroenterol, 2014, V. 20 (18), p. 5427-5434. Published online, 2014. <http://www.wjgnet.com>. (Vizitat 14 aprilie, 2017).

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE, ȘTIINȚIFICO-METODICE, DIDACTICE PUBLICATE LA TEMA TEZEI

● Monografii monoautor

1. **Raba T.** Hepatitele virale B, C, D cronice la copii. Chișinău, 2016. 180 p. ISBN 978-9975-57-200-2. 616.36-002-08-053-2, R 11.

● Monografii colective

2. Spînu C., Sajen O., Holban T., Spînu I., Isac M., Cebotari S., **Raba T.** ș.a. Hepatita virală C în grupurile cu risc sporit de infectare. Chișinău, 2016. 206 p. ISBN 978-9975-53-710-0. 616.36-002. S 72.
3. **Raba T.** Metoda de tratament a hepatitei virale C la copii cu contraindicații la tratamentul standard antiviral. În: Spînu C., Holban T., Guriev V., Spînu I., Isac M., Raba T. și a. Hepatite virale și HIV. Chișinău, 2013, p. 249-260. ISBN 978-9975-118-12-5.
4. **Raba T.** Contribuții în tratamentul hepatitelor virale cronice B, C și D la copii prin utilizarea pacovirinei. În: Actualități în tratamentul și profilaxia infecțiilor virale, sub redacția Spînu I., Spînu C. Chișinău: Editura „Sirius”, 2012, p. 63-69. ISBN 978-9975-57-023-7. 619.98-022-08. S 73.

● Articole în reviste științifice internaționale cotate ISI – Thomson și SCOPUS

5. **Раба Т.** Особенности клинических проявлений и диагностики хронического вирусного гепатита G у ребенка 12 лет. В: Вопросы практической педиатрии. Москва, 2017, с. 63-69. SCOPUS. ISSN 2414-9705. **IF: 0,222** <http://www.phdynasty.ru>

6. **Раба Т.** Провоспалительные интерлейкины и их роль в патогенезе хронических вирусных гепатитов В и С у детей. В: Вестник науки и образования. Москва, Россия, 2017, №3 (27), т.1, с. 108-113. ISSN 2541-7851 (Online). **IF: 3,38**. <http://scientificjournal.ru>
7. **Раба Т.** Хронический вирусный гепатит В и С у детей, рожденных от инфицированных HBV и HCV матерей. В: Детские инфекции. Москва, Россия, 2017, т. 16, №1, с.12-15. **IF: 0,438**. ISSN 2072-8107. <http://detinf.elpub.ru>.
8. **Raba T.** Proinflammatory Cytokines IL-2, IL-6 and TNF Alfa as Immunoserologic Indicators of Chronic Viral Hepatitis B and C in Children. In: Universal Journal of Medical Science 6(1), 2018, p.1-7. <http://www.hrpub.org>. **Indexes Google Scholar**.

● **Articole în revistele științifice din Registrul Național al revistelor de profil, cu indicarea categoriei:**

Categoria B

9. **Raba T.** Tratamentul antiviral cu interferon alfa 2b pegilat și ribavirină în hepatita cronică virală C la copii în Republica Moldova. Conferința Națională de Gastroenterologie și Hepatologie cu participare internațională. În: Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. Chișinău, 2014, nr. 5, p.73-76. ISSN 1729-8687.
10. Spînu C., **Raba T.**, Guriev V. ș. a. Realizări inovative în tratamentul hepatitei virale C la copii. În: Intellectus. Chișinău, 2014, v. 2, p. 96-100. ISSN 1810-7079. [www.agepi.gov.md intellectus_02-2014. pdf](http://www.agepi.gov.md/intellectus_02-2014.pdf).
11. **Raba T.** Sindromul tahicardiei posturale ortostatică în hepatita cronică virală C la adolescent. Conferința Națională de Gastroenterologie și Hepatologie cu participare internațională. În: Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. Chișinău, 2015, nr. 4 (61)/2015, p. 63-66. ISSN 1729-8687.
12. **Raba T.** Rolul imunității celulare și al citokinelor proinflamatorii în imunopatogeneza hepatitelor virale B cronice la copii. Conferința Națională de Gastroenterologie și Hepatologie cu participare internațională „Actualități în gastroenterologie și hepatologie”. În: Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. Chișinău, 2016, nr. 4 (68)/2016, p. 78-82. ISSN 1729-8687.
13. **Raba T.** Sindromul hepatorenal la copii: probleme diagnostice și terapeutice. În: Buletin de Perinatologie. Chișinău, 2017, nr. 1 (73), p. 76-81. ISSN 1810-5289.

Categoria C

14. **Raba T.**, Grosu G., Petrovici V., Vîntu A. ș. a. Erorile în vaccinarea copilului sugar. În: Buletin de Perinatologie. Chișinău, 2004, p. 220-228. ISSN 1810-5289.
15. **Raba T.**, Vîntu A. Terapia antivirală cu Intron A în hepatitele cronice virale B, C, D la copii. În: Anale Științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”, v. III. Probleme clinico-chirurgicale și ale sănătății mamei și copilului. Chișinău, 2004, p. 802-804. ISSN 1857-1719.
16. **Raba T.**, Vîntu A., Grossu G. ș.a. Caracteristica clinico-paraclinică a hepatitelor cronice virale B cu HBeAg negativ la copii. În: Anale Științifice ale USMF „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 2005, v. VI, p. 265-268. ISSN 1857-1719.
17. **Raba T.** Probleme actuale în hepato-logia pediatrică. Materialele Conferinței Științifico-Practice consacrată jubileului de 50 de ani de la fondarea SCRC „E. Coțaga”. În: Buletin de Perinatologie. Chișinău, 2005, nr. IV, p. 34-36. ISSN 1810-5289.

18. **Raba T.** Aspecte epidemiologice, de management diagnostic și terapeutic în hepatitele cronice la copiii născuți din mame infectate cu VHB, VHD și VHC. Revista literaturii. În: Buletin de Perinatologie. Chișinău, 2009, nr. 3 (43), p. 181-185. ISSN 1810-5289.
19. **Raba T., Spînu C.** Pacovirina în tratamentul hepatitelor virale B, C cronice la copii: studiu clinic prospectiv, comparativ. În: Moldovan Journal of Health Sciences. Revista de Științe ale Sănătății din Moldova. Chișinău, 2017, v. 11, 1/2017, p. 8-20. ISSN 2345-1467.
- **Articole în culegeri științifice naționale**
20. **Raba T.** Unele sechele precoce ale hepatitei cronice și cirozei hepatice virale B și D la copii. În: Simpozia professorum. Seria Medicină, ULIM, Chișinău, 2001, p. 95-98. ISBN 9975-920-07-1.
- **Articole în materialele conferințelor, congreselor, simpoziunelor științifice naționale**
21. **Raba T., Vîntu A., Ionaș A.** Colestaza cronică la copii. În: Materialele Conferinței a II-a Republicană a gastrohepatologilor, USMF „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, 2003, p. 268-273.
22. **Raba T., Ionaș A., Savciuc E. ș. a.** Importanța imunoglobulinelor serice IgA, IgM și IgG în hepatita cronică și ciroza hepatică de etiologie virală B, D la copii. În: Materialele Congresului II Național al imunologilor și alergologilor cu participare internațională „Actualități și performanțe în diagnosticul imunologic, tratamentul imunomodulator și profilaxia infecțiilor virale și bacteriene”. Chișinău, 2007, p. 49-54.
- **Teze în materialele congreselor, conferințelor, simpoziunelor științifice internaționale (peste hotare)**
23. **Raba T., Maximenco E., Grossu G. et al.** Preliminary study about the prevalence of hepatitis B and D in moldavian children. În: Acta Gastro-Enterologica Belgica, Bruxelles, 1998, v. 61, Fasc. 2, p. 249. ISSN 0001-5644. **IF: 0,87.**
24. Vrânceanu-Beneș A., Iarovoi P., Spînu C., **Raba T. ș. a.** Primary immune response following hepatitis B vaccination and the VHB infection prevalence among children born to HIV positive mother. În: Bacteriologia, Virusologia, Parazitologia, Epidemiologia. Revista Societății Române de Microbiologie și Epidemiologie. București, România, Editura ILEX, 2009, v. 54, nr. 3, p. 22. ISSN 1220-3696.
25. Спыну К., **Раба Т.,** Сажан О. и др. Некоторые предварительные результаты изучения генотипов ВГС циркулирующих в Республике Молдова. В: Научно-практична конференция „Сучасний станта проблеми інфекційної захворюваності України” присвячена 125-річчю з дня народження академіка Л. В. Громашевського. Київ, Україна, 2012, с. 24.
26. Spînu C., **Raba T., Sajen O. et al.** Method of treatment of viral hepatitis C in children with contraindication to antiviral standard therapy. In: The XVII-Th International Exhibition of Research, Innovation and Technological Transfer „INVENTICA 2013”, Iași, România, 2013, p. 723.
27. Спыну К., **Раба Т.,** Спыну И., Гурьев В. Оригинальный метод лечения хронического гепатита С у детей. В: Материалы научно-практической конференции с международным участием “Актуальные вопросы эпидемиологии”, посвященной 90-летию Научно-Исследовательского Института Эпидемиологии, Вирусологии, Паразитологии им. А.Б. Алексаняна. Ереван, Армения, 2013, с. 235.
28. **Raba T., Dumbrava V-T., Lupasco I.** The effectiveness of pegilated alfa 2b interferon and ribavirin treatment of chronic viral hepatitis C in children in Moldova. State University of

- Medicine and Pharmacy. 23 Congreso de la Asociacion Latino-Americana para el Estudio del Hgado. Cancun I, Mexica, 2014, p. 90.
29. **Raba T.**, Stiuca S. Efficiency of the combined antiviral therapy of chronic hepatitis C at children in Moldova. The 5 th Congress of the European Academy of Paediatric Societies (EAPS), Barselona, Spain, 2014. In: Arch Dis Child, 2014, v. 99, supliment 2, p. A296 doi:10.1136/archdisch 2014-307384.811. ISSN 00039888. **IF: 2,899.**
 30. Spînu C., **Raba T.**, Spînu I. et al. Method of treatment of chronic hepatitis B in children. În: Catalog PROINVENT, 2015. Salonul Internațional al cercetării, inovării și inventicii, ediția a XIII-a, Cluj-Napoca, România, 2015, p. 27.
 31. Spînu C., **Raba T.**, Spînu I. ș. a. Method of treatment of hepatitis B in children cholestasis syndrome. The XIX-th International conference of inventics. The XIX-th International exhibition of research, innovation and of tehnological transfer “INVENTICA”. În: Catalog INVENTICA, Iași, România, 2015, p. 340. ISSN: 1844-7880.
 32. **Raba T.**, Kalinski T. The role of cellular immunity and cytokines in the patogenesisi of chronic hepatitis B in children. ILC 2016-RS-2605. Abstract of The International Liver Congress, Journal of Hepatology, Barcelona, Spain, 2016, v. 64, supliment 2, pages S133-S942, THU-163, S378. **IF:11,336.** www.journal-of-hepatology.eu
 33. **Raba T.** Sindromul hepatorenal la copil. Conferința Națională Interdisciplinară cu participare internațională “Cum diagnosticăm și cum tratăm bolile renourinare la copii”. În: Volum de rezumate. București, România, 2016, p. 48.
 34. Liubarscaia S. **Raba T.** Aspecte clinico-diagnostice ale sludj-ului biliar la copiii cu hepatite virale B și C cronice. În: Volum de rezumate. Școala Medicală Pediatrică cu participare internațională, Iași, România, ediția a VI-a, 2018, p. 55.
- **Teze în materialele congreselor, conferințelor, simpozioanelor științifice internaționale în republică**
35. Spînu C., **Raba T.**, Spînu I. ș. a. Metoda de tratament a hepatitei virale C la copii cu contraindicații la tratamentul standard antiviral. În: Expoziția Internațională Specializată INFO INVENT, 2013. Chișinău, 2013, p. 89.
 36. Spînu C., **Raba T.**, Spînu I. ș. a. Metodă de tratament a hepatitei cronice virale B la copiii cu sindrom de coleastăză. În: AGEPI, Expoziția Internațională Specializată INFO INVENT 2015. Chișinău, 2015, p. 106.
- **Brevete de invenție**
37. Spînu C., **Raba T.**, Spînu I. ș.a. Metoda de tratament a hepatitei virale cronice C la copii. MD 596 Z 2013.09.30. Brevet de invenție de scurtă durată 596. Agenția de Stat pentru Proprietate Intelectuală. În: BOPI, Chișinău, 2013, nr. 2.
 38. Spînu C., **Raba T.**, Spînu I. ș. a. Metodă de tratament a hepatitei virale B cronice cu sindrom de coleastăză la copii. În: Buletin Oficial de Proprietate Intelectuală al Agenției de Stat pentru Proprietate Intelectuală. Hotărâre nr. 8203 din 07.09.2015. Chișinău, 2015, p. 36.
 39. Spînu C., Sajen O., Pînzaru I., Spînu I., Suveica L., Cebotari S., Roșca A., **Raba T.** ș. a. Hepatita C în grupurile de risc sporit de infectare. Certificat de înregistrare a obiectelor dreptului de autor: seria OȘ nr. 5625. AGEPI, INFOINVENT, Ediția a XV-a, Chișinău, 2017, p.115-116.

LUCRĂRI ȘTIINȚIFICO-METODICE ȘI DIDACTICE

• Manuale pentru învățământul universitar

40. Mișu I., Cerempei L., **Raba T.**, Bologa L. Gastroenterologia pediatrică. În: Pediatrie, manual sub redacția prof. univ. Revenco N. Chișinău, 2014, p. 333-414. ISBN 978-9975-4224-5-1.

• Indicații metodice

41. **Raba T.** Hepatita cronică virală B, C, D la copii. Indicație metodică pentru studenți, medici rezidenți, cursanți. USMF „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, CEP Medicina, 2014, 32 p. ISBN 978 – 9975-118-32-3.

42. **Raba T.** Afecțiunile sistemului biliar la copii. Indicație metodică pentru studenți, medici rezidenți, cursanți. USMF „Nicolae Testemițanu”. Chișinău, CEP Medicina, 2014, 44 p. ISBN 978 – 9975-118-37-8.

ADNOTARE

Raba Tatiana. Hepatitele virale B și C cronice la copii: particularitățile clinice, imunologice, evolutive și optimizarea tratamentului antiviral.

Teză de doctor habilitat în științe medicale, Chișinău, 2018.

Volumul și structura tezei: introducere, 5 capitole, sinteza rezultatelor obținute, concluzii și recomandări, bibliografie din 198 surse, 20 tabele, 65 figuri, 17 anexe, expuse pe 215 pagini.

Rezultatele cercetării au fost publicate în 42 de lucrări științifice. **Cuvinte-cheie:** hepatite virale B și C cronice, copii, semne clinice, imunitate, remedii antivirale. **Domeniul de cercetare:** boli infecțioase, hepatologie pediatrică

Scopul cercetării: stabilirea particularităților etiopatogenetice, clinico-imunologice și evolutive ale diferitor forme clinice de HVBC și HVCC la copii, monitorizarea procesului evolutiv cronic, determinarea factorilor de cronicizare și progresie a diverselor forme clinice, elaborarea algoritmilor de diagnostic precoce și algoritmului diferențial, optimizarea tratamentului antiviral la copii pentru creșterea șanselor de vindecare și ameliorare a calității vieții acestor pacienți.

Obiectivele cercetării. Studiarea particularităților clinico-evolutive ale HVCB și HVCC la copii în funcție de vârstă, gen, durată a bolii, forma clinică și estimarea sindroamelor clinice de bază ale HVCB și HVCC (citolică, colestatică, hepatoprovocată, dishormonală) în funcție de etiologia virală și activitatea procesului cronic hepatic la copii de diferite vârste în vederea scăderii riscului de evoluție nefavorabilă a acestei maladii. Aprecierea statutului imun celular și umoral la pacienții cu HVCB și HVCC luați în studiu în funcție de viremia VHB sau VHC și activitatea procesului inflamator hepatic, cu explicarea aspectelor noi vizând patogeniza HVCB și HVCC, și a particularităților imunologice, în funcție de forma clinică și activitatea bolii, pentru individualizarea strategiei terapeutice aplicate. Analiza interacțiunilor corelative și a interdependenței dintre parametrii clinici, faza procesului viral și gradul de activitate al procesului cronic inflamator hepatic. Evidențierea modificărilor ecografice, histologice și ale elasticității hepatice la copiii cu HVCB și HVCC, în funcție de activitatea procesului cronic inflamator hepatic. Analiza interrelațiilor și a interdependenței între activitatea procesului viral și hepatic inflamator. Determinarea criteriilor sensibile de diagnostic diferențial dintre diverse forme de HVBC și HVCC la copii de diferite vârste. Evaluarea eficacității tratamentului cu interferon alfa 2b pegilat (standard) monoterapie în HVBC și combinat cu ribavirină în HVCC la copii de diferită vârstă, în dependență de activitatea procesului cronic hepatic. Evaluarea eficacității remediei autohtonă pacovirină cu acțiune imunomodulatorie, antivirală, antioxidantă, ca inductor de interferon, în comparație cu tratamentul standard cu hepatoprotectoare în HVBC și HVCC la copii, în funcție de activitatea procesului cronic hepatic și optimizarea principiilor de tratament. Elaborarea algoritmului diagnostic pentru pacienții cu HVBC și cei cu HVCC de vârste diferite. Completarea algoritmilor de tratament antiviral și neviral în HVBC și HVCC la copii, în funcție de viremie și activitatea procesului inflamator hepatic.

Noutatea științifică: în premieră a fost propusă o nouă viziune de abordare a imunității celulare, cu determinarea celulelor CD3 și a subpopulațiilor lor prin metoda monoclonală, utilizată ca criteriu important în funcție de gradul de activitate al procesului inflamator în HVBC și HVCC la copii. Pentru prima dată în Republica Moldova și în plan mondial a fost utilizat remediul autohton pacovirina în tratamentul HVBC și HVCC la copii. Au fost elaborate criteriile de monitorizare pe termen lung a copiilor cu HVBC și HVCC supuși tratamentului antiviral. **Direcții noi de cercetare:** au fost elucidate fundamental implicațiile imunității celulare și a citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α în patogeneza HVBC și HVCC la copii, interrelația cu procesul viral și inflamator și au fost optimizate principiile de tratament antiviral cu interferon și pacovirină. **Valoarea teoretică și aplicativă:** completarea imunopatogenezei HVBC și HVCC la copii, au fost elaborate criterii de diagnostic diferențiat și de selectare a pacienților pentru tratament antiviral. A fost perfectată schema de monitorizare a copiilor cu HVBC și HVCC tratați cu antivirale în funcție de statusul imun celular și activitatea procesului inflamator. **Implementarea rezultatelor științifice:** rezultatele obținute au fost utilizate în cadrul procesului didactic, la elaborarea și implementarea a 3 programe naționale de combatere a hepatitelor virale B, C, D și de tratament antiviral.

ANNOTATION

Raba Tatiana. Chronic viral hepatitis B and C in children: clinical-immunological peculiarities and optimization of the antiviral therapy.

The thesis of Doctor Habilitat of Science in Medicine. Chisinau, 2018.

The volume and structure of the thesis: introduction, 5 chapters, the main conclusions and recommendations, bibliography of 198 sources, the main body of the text 215, 20 tables, 65 figures, 17 appendix. **The results** were published in 42 scientific papers. **Keywords:** viral hepatitis B and C, children, immunity, antiviral drugs.

Field of the study: infection disease, pediatric hepatology.

Purpose of the thesis: To establish the ethiopathogenetic, clinico-immunological and evolutive peculiarities of the different clinical forms of the chronic viral hepatitis B and C in children, monitoring the evolution of the chronic process, determining the risk factors of chronicity and progression of the different clinical forms, developing of the early diagnostics algorithms, optimization of the antiviral treatment in chronic infected children.

The study objectives: Study of the clinical and evolutive peculiarities of CVHB and CVHC in children related on age, gender, duration of illness and clinical forms, estimation of the baseline clinical syndromes of HVCB and HVCC depending on the viral etiology and the activity of the chronic liver disease in children of different ages. Assessment of cellular and humoral immune status in CVHB and CVHC patients of different ages according to VHB or VHC viremic load and activity of the hepatic inflammatory process and elucidation of new and immunological aspects regarding the pathogenesis of CVHB and CVHC depending on the clinical form and the activity of the disease. Analysis of the correlations between the paraclinical parameters and the phase of the viral replication and the activity of the chronic liver inflammatory process. Highlighting instrumental changes in patients with CVHB and CVHC in children according to the activity of the chronic liver inflammatory process. Analysis of interrelations between the activity of the viral process and the chronic liver inflammatory process. Determination of differential diagnostic criteria between different forms of CVHB and CVHC according to clinical data in children of different age. Optimization and assessing the efficacy of interferon therapy in CVHB and CVHC in children of different age depending on the activity of the chronic liver inflammatory process. Estimation of efficacy of locally produced pacovirin with immunomodulatory, antiviral, antioxidant, interferon-like action, compared to hepatoprotective treatment. Elaboration of diagnostic algorithm for CVHB and CVHC patients of different ages. Fulfillment of the antiviral and non-viral treatment algorithm of patients with CVHB and CVHC depending on viremia and liver function.

Scientific novelty: For the first time, a new vision of approaching cellular immunity, especially CD3 lymphocytes and its subpopulations by the monoclonal antibodies, was proposed as an

important criterion depending on the degree of liver fibrosis and activity of the liver inflammatory process in CVHB and CVHC in children. For the first time in the Republic of Moldova and worldwide, was used a locally remedy pacovirin as an alternative method of antiviral treatment in CVHB and CVHC in children. Long-term monitoring criteria have been developed for CVHB and CVHC children undergoing antiviral treatment.

New research directions: Implications of cellular immunity and proinflammatory cytokines in CVHB and CVHC pathogenesis were elucidated, interrelation between the viral and inflammatory process and the principles of antiviral treatment with interferon and pacovirin as an alternative method were optimized.

Theoretical and applicative value: is complementary with the etiopathogenetic vision of CVHB and CVHC in children, differential diagnostic criteria and selection of patients for antiviral treatment have been developed. A timetable has been developed for the monitoring of children with CVHB and CVHC undergoing antiviral therapy depending on the cellular immune status and the activity of the inflammatory process.

Implementation of the scientific results: the scientific results obtained were used in the didactic process and in medical practice (contributed by 3 national programs for control of viral hepatitis B, C, D and antiviral treatment).

АННОТАЦИЯ

Раба Татьяна. Хронические вирусные гепатиты В и С у детей: клинические, иммунологические особенности, течение и оптимизация противовирусной терапии

Диссертация доктора медицинских наук. Кишинев, 2018.

Объем и структура диссертации: введение, 5 глав, обсуждение полученных результатов, выводы и рекомендации, библиография 198 источников, 215 стр., 20 таблиц, 65 фигур, 17 приложений. **Полученные результаты** были опубликованы в 42 научных работах. **Ключевые слова:** хронический вирусный гепатит В и С, дети, клинические признаки, иммунитет, противовирусные препараты. **Область исследования:** инфекционные болезни, педиатрическая гепатология.

Цель исследования: изучение особенностей этиопатогенеза, клинического течения ХВГВ и ХВГС у детей, мониторинг хронического вирусного процесса, определение факторов способствующих хронизации и прогрессирования в зависимости от клинической формы, разработать алгоритм ранней и дифференциальной диагностики, оптимизировать принципы противовирусной терапии у детей.

Задачи исследования. Изучить особенности течения ХВГВ и ХВГС у детей в зависимости от возраста, пола, длительности течения и клинической формы, основных клинических синдромов, лабораторных, инструментальных в зависимости от активности воспалительного процесса. Оценить состояние клеточного и гуморального иммунитета у детей разного возраста в зависимости от степени виремии ВГВ и ВГС, активности воспалительного процесса, разработать новые современные иммунологические аспекты патогенеза ХВГВ и ХВГС у детей в зависимости от клинической формы и степени активности воспалительного процесса. Определить зависимость лабораторных показателей активности воспалительного процесса от степени фиброза от фазы виремии. Изучить взаимозависимость между степенью воспалительного процесса и виремией. Разработать критерии дифференциальной диагностики различных клинических форм ХВГВ и ХВГС в зависимости от клинико-лабораторных признаков у детей разного возраста. Изучить эффективность противовирусной терапии альфа 2b интерфероном при ХВГВ (монотерапия) и ХВГС (в сочетании с рибавирином), оптимизировать схемы лечения и оценить противовирусные свойства отечественного фитопрепарата паковирин, в сравнении с гепатопротекторами. Разработать алгоритм диагностики ХВГВ и ХВГС у детей разного возраста с ХВГВ и ХВГС у детей с учетом уровня виремии и активности воспалительного процесса.

Научная новизна: Впервые был предложен новый взгляд на роль клеточного иммунитета, инфекционного стресса в патогенезе ХВГВ и ХВГС у детей, Т-лимфоцитов и их субпопуляций, провоспалительных цитокинов как важные критерии при оценке степени воспалительного процесса и их взаимосвязь с фиброзом печени. Впервые в Молдове и в мире была изучена эффективность отечественного препарата паковирин как альтернативный метод терапии при ХВГВ и ХВГС у детей, были разработаны критерии длительного мониторинга клеточного иммунитета у получивших ранее противовирусную терапию.

Новые направления исследований: создано научное обоснование роли клеточного иммунитета и провоспалительных цитокинов ИЛ-2, ИЛ-6, TNF- α в патогенезе ХВГВ и ХВГС у детей, механизмы взаимосвязи виремии и степени воспаления, оптимизированы принципы противовирусной и не вирусной терапии у детей с ХВГВ и ХВГС.

Теоретическая и практическая значимость: предложен современный новый взгляд на иммунопатогенез ХВГВ и ХВГС у детей, разработаны дифференциально-диагностические критерии для отбора и мониторинга детей получивших противовирусную терапию с исследованием клеточного иммунитета.

Внедрение научных результатов: полученные результаты были использованны в учебном процессе и в практической деятельности, в разработке 3 национальных программ по борьбе с вирусными гепатитами и противовирусного лечения для детей.

Raba Tatiana

**HEPATITELE VIRALE B ȘI C CRONICE LA COPII:
PARTICULARITĂȚILE CLINICE, IMUNOLOGICE, EVOLUTIVE
ȘI OPTIMIZAREA TRATAMENTULUI ANTIVIRAL**

321.09 – Boli infecțioase, tropicale și parazitologie medicală

Autoreferatul tezei de doctor habilitat în științe medicale

Aprobat spre tipar: 22.05.2018	Formatul hârtiei 60x84 1/16
Hârtie ofset. Tipar ofset.	Tiraj 50 ex.
Coli de tipar: 3	Comanda nr. 1788

SRL Tipografie-Sirius

MD-, Chișinău, str. Lăpușneanu, 2

Tel. (022) 23 23 52