

**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**

Teză de doctor habilitat în științe medicale

Consultanți științifici:

Dumbrava Vlada-Tatiana

doctor habilitat în științe medicale,
profesor universitar, Om Emerit

Pântea Victor

doctor habilitat în științe medicale,
profesor universitar

Autor:

Raba Tatiana

CHIȘINĂU, 2018

© Raba Tatiana, 2018

CUPRINS

ADNOTARE (română, rusă, engleză)	5
LISTA ABREVIERILOR	8
INTRODUCERE	10
1. CONCEPȚII ACTUALE PRIVIND ETIOLOGIA, EPIDEMIOLOGIA, IMUNOPATOGENEZA, TABLOUL CLINIC ȘI TRATAMENTUL HEPATITELOR VIRALE B ȘI C CRONICE LA COPII	15
1.1. Caracteristici etiologice, epidemiologice, gradul de răspândire, factorii de risc și patogeneza HVBC la copii	15
1.2. Particularități etiologice, epidemiologice, gradul de răspândire, mecanismele patogenetice ale HVCC la copii	28
1.3. Manifestări clinice, anatomopatologice și diagnosticul HVBC și HVCC la copii	38
1.4. Concepții actuale privind tratamentul etiopatogenetic al HVBC și HVCC la copii	48
1.5. Concluzii la Capitolul 1	54
2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE	64
2.1. Caracteristica generală a cercetării și designul studiului	64
2.2. Descrierea metodelor de cercetare	67
2.3. Metodele de prelucrare statistică a bazei de date	75
2.4. Concluzii la Capitolul 2	76
3. HEPATITELE VIRALE B ȘI C CRONICE LA COPII ÎN REPUBLICA MOLDOVA. FRECVENȚA, FACTORII DE RISC, PARTICULARITĂȚILE EPIDEMIOLOGICE, CLINICE, PARACLINICE, FORMELE EVOLUTIVE	77
3.1 Caracteristici generale și epidemiologice, frecvența, factorii de risc ale HVBC și HVCC la copii	77
3.2. Particularitățile clinice, biologice și evolutive ale HVBC și HVCC la copii	92
3.3. Modificările anatomopatologice în HVBC și HVCC la copii	109
3.4. Concluzii la Capitolul 3	118
4. ROLUL IMUNITĂȚII CELULARE ȘI AL CITOKINELOR PROINFLAMATORII IL-2, IL-6, TNF-α ÎN PATOGENEZA HVBC ȘI HVCC LA COPII	120
4.1. Semnificația clinică a limfocitelor T (CD3) și a subpopulațiilor lor în HVBC și HVCC	

la copii	120
4.2. Citokinele proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α și rolul lor în patogeneza HVBC și HVCC la copii	130
4.3. Concluzii la Capitolul 4	136
5. TRATAMENTUL ANTIVIRAL ȘI NEVIRAL ÎN HEPATITELE VIRALE B ȘI C CRONICE LA COPII ȘI PRINCIPIILE DE OPTIMIZARE A LUI	138
5.1. Eficacitatea tratamentului cu interferon alfa 2b în HVBC și HVCC la copii	138
5.2. Tratamentul alternativ cu pacovirină în HVBC și HVCC la copii și principiile de optimizare a lui	152
5.3. Concluzii la Capitolul 5	159
SINTEZA REZULTATELOR OBȚINUTE	160
CONCLUZII GENERALE ȘI RECOMANDĂRI	175
BIBLIOGRAFIE	180
ANEXE	196
Anexa 1	196
Anexa 2	197
Anexa 3	198
Anexa 4	199
Anexa 5	200
Anexa 6	201
Anexa 7	202
Anexa 8	203
Anexa 9	204
Anexa 10	205
Anexa 11	206
Anexa 12	207
Anexa 13	208
Anexa 14	209
Anexa 15	210
Anexa 16	211
Anexa 17	212
DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII	213
CV-ul AUTORULUI	214

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 ale acestor boli, elaborarea algoritmilor de diagnostic precoce și 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 HVBC și HVCC la copii, în funcție de vârstă, gen, durata bolii, forma clinică, și estimarea sindroamelor clinice de bază (citolică, colestatică, hepatoprivă, dishormonală), 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. Aprecierea statusului imun celular și umoral la pacienții cu HVBC și HVCC luați în studiu, în funcție de viremie și activitatea procesului inflamator hepatic, cu explicarea aspectelor noi vizând patogenезa și particularitățile imunologice, în funcție de forma clinică și activitatea bolii, pentru individualizarea strategiilor 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 HVBC și HVCC, în funcție de activitatea procesului cronic inflamator hepatic. Determinarea criteriilor sensibile de diagnostic diferențial dintre diverse forme clinice de HVBC și HVCC la copiii de diferite vârste. 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. 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, 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 remediu autohton pacovirina în tratamentul HVBC și HVCC la copii. Au fost elaborate criteriile de monitorizare a copiilor cu HVBC și HVCC supuși tratamentului antiviral. **Direcții noi de cercetare:** au fost elucidate fundamental rolul imunității celulare și citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α în patogenезa HVBC și HVCC la copii, interrelația cu procesul viral și inflamator, au fost optimizate principiile de tratament antiviral cu interferon și pacovirină. **Valoarea teoretică și aplicativă:** completarea imunopatogenезei 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:** au fost utilizate în procesul 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 паковирина, 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 паковирина 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 использованы в учебном процессе и в практической деятельности, в разработке 3 национальных программ по борьбе с вирусными гепатитами и противовирусного лечения для детей.

LISTA ABREVIERILOR

AgHBs - antigenul de suprafață al VHB

AgHBc - antigenul miez al VHB

AgHBe – antigenul „e” al VHB

AgHBx – antigenul „x” al VHB

AgVHD – antigenul virusului hepatic delta

ADN – acid dezoxiribonucleinic

ANA – anticorpi antinucleari

anti-HBc IgM – anticorpi anti-VHB de clasa IgM

anti-HBc IgG – anticorpi anti-VHB de clasa IgG

anti-HBs – anticorpi anti-Ag VHB

anti-HBe – anticorpi anti-AgHBe

anti-HAV IgM – anticorpi anti-VHA de clasa IgM

anti-HAV IgG – anticorpi anti-VHA de clasa IgG

anti-HVD IgM – anticorpi anti-VHD de clasa IgM

anti-HVD IgG – anticorpi anti-VHD de clasa IgG

anti-HVD – anticorpi anti-VHD

anti-HCV - anticorpi anti-VHC

anti-HVC IgM – anticorpi anti-VHC de clasa IgM

anti-HVC IgG – anticorpi anti-VHC de clasa IgG

anti-LKM – anticorpi antimicrosomi hepatici-renali

anti-SLA - anticorpi anti-antigenul citoplasmatic liposolubil al hepatocitului

anti-SMA – anticorpi anti-fibrină musculară netedă

AASLD – *American Association for Study of the Liver*

ALT (TGO) – alaninaminotransferază

ARN – acid ribonucleinic

AST (TGP) – aspartataminotransferază

EMA – *European Medicines Agency* (Agenția Europeană Medicală)

EASL – *European Association for the Study of the Liver* (Societatea Europeană de Studii ale Ficatului)

ELISA – *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* - metoda imunoenzimatică

ESPGHAN – Societatea Europeană de Gastroenterologie Pediatrică, Hepatologie și Nutriție

FA – fosfatază alcalină

FDA – *Food and Drug Administration* – Agenția Națională a Medicamentelor din SUA

gamaGT – gamaglutamiltranspeptidază

HVBC – hepatită virală B cronică

HVCC – hepatită virală C cronică

HVDC – hepatită virală Delta cronică

HIV – virusul imunodeficienței umane

IAH – indice de activitate histologică

IgA – imunoglobulină A

IgM - imunoglobulină M

IgG – imunoglobulină G

IgHVB – imunoglobulină specifică antihepatită virală B

IL-2 – interleuchină 2

IL-6 – interleuchină 6

INF – interferon

IU – unități internaționale

NK - natural killer – celule natural ucigașe

NR – *non responder* – celule neresponsive

PCR – *Polymerase Chain Reaction* – reacția de polimerizare în lanț

RVS – răspuns virusologic susținut

RVR – răspuns virusologic rapid

RVP – răspuns virusologic parțial

TC – tomografie computerizată

TNF- α – *Tumor Necrosis Factor alfa* – factorul de necroză tumorală alfa

VHB – virusul hepatitei B

VHC – virusul hepatitei C

VHD – virusul hepatitei delta

INTRODUCERE

Actualitatea și importanța problemei. Hepatitele virale B și C cronice (HVBC și HVCC) la copii reprezintă o problemă importantă pentru sistemul de sănătate publică, cu un impact social comparabil cu infecția HIV, tuberculoza și malaria [95]. VHB și VHC sunt cei mai frecvenți factori etiologici ce duc la dezvoltarea HVBC și HVCC la copii [64, 162]. Infectarea copiilor cu VHB sau VHC la o vârstă fragedă se regăsește în timp la adultul tânăr [161]. Deseori sursa de infecție cu VHB sau VHC la copii sunt mamele lor purtătoare cronice de AgHBs sau cu hepatite virale cronice [64, 109, 162]. Contaminarea nou-născutului cu VHB conduce în 90% din cazuri la cronicizare, iar a celor de vârstă 1–5 ani – în 20-50% [11, 39, 49, 60, 71]. Profilaxia specifică a infecției cu VHB la copii poate fi obținută prin vaccinare anti - HVB începând din maternitate [95, 98, 135, 183]. În 2015 Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a estimat că, la nivel mondial, există aproximativ 257 (3,5%) de milioane de persoane adulte infectate cronic cu VHB și 71 de milioane cazuri noi raportate pentru infecția cronică cu VHC, majoritatea pacienților fiind născuți până la începutul campaniei globale de vaccinare anti-HVB în copilărie [91, 95, 117]. În țările Africii și ale Oceanului Pacific de Est, 68% din populația adultă sunt infectate cronic cu VHB [118]. Numai în 2015, printre adulți la nivel mondial, au fost constatate 1,34 mln decese ca rezultat al evoluției progresive a hepatitelor virale B, C, dintre care 720 000 cazuri – datorate cirozei hepatice virale [94, 97]. S-a estimat că, pentru adulți, infecțiile cu VHB și VHC sunt responsabile de mortalitatea prin dezvoltarea formelor severe și progresive de maladie hepatică în 96% din cazuri, iar la copii, ponderea acestora în structura morbidității și mortalității rămâne puțin cunoscută [95, 97].

Infecția cu VHB sau VHC realizată la o vârstă mică a copilului duce la cronicizare precoce și la o evoluție nefavorabilă a maladiei hepatice, cu efecte invalidante la vârsta adultului tânăr, apt de muncă [66, 75, 88]. Studiile recente efectuate în populația pediatrică estimează că 3-5% dintre copiii și 0,01-0,03% dintre adolescenții cu HVBC dezvoltă ciroza hepatică (CH) sau hepatocarcinom (HCC) înainte de a atinge vârsta maturității [100, 130, 134].

Cronicizarea formelor acute de hepatită virală B sau C la copii este determinată de particularitățile VHB sau VHC și de multipli factori legați de organismul-gazdă [18, 27]. Particularitățile fiziologice ale imunității copilului în creștere și maturizarea imunității umorale și celulare către vârsta de 6-10 ani, precum și restructurarea sistemului hormonal tiroidian al copilului în perioada adolescenței sunt o importantă provocare pentru pacientul pediatric față de infecția cu VHB sau VHC [41, 42]. Prezența infecției cu VHB sau VHC în forme asimptomatice și replicarea virală persistentă la femeile de vârstă fertilă și la gravide conduc la un risc înalt de infectare perinatală a nou-născuților, favorizează cronicizarea timpurie a infecției [64, 109, 162]. Chimizarea în exces a agriculturii, tulburările nutriționale existente datorate carențelor cronice

energetice și a celor deficitare prin conținut al rației alimentare în familiile nevoiașe la o mare parte dintre copii, precum și prezența comorbidităților somatice, - toate în ansamblu, se reflectă asupra imunității copiilor, predispunând la evoluția nefavorabilă a infecțiilor VHB sau VHC și la dereglarea rapidă a funcției hepatice [5, 9, 17].

La adulți, VHC este o cauză importantă a CH și HCC, deoarece acest virus poate exista ca cvasispecii, datorită variabilității genetice, cu ecluderea timp îndelungat a răspunsului imun și absența efectului la tratament [13, 56, 83]. Astfel VHC își creează condiții pentru supraviețuire, circulând în populația generală perioade îndelungate [142, 151]. În plan global, peste 170 mln de persoane sunt infectate cronic cu VHC [4, 81]. Menționăm că 27% din cazurile de CH și o pătrime din HCC la adulți au drept cauză infecția cronică cu VHC [1, 4, 81]. Infectarea copiilor cu VHC poate surveni 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 [147, 161, 168]. Diagnosticul de hepatită virală C perinatală la acești copii este unul dificil și incert din cauza circulației în sânge a anti-HCV materni, până la vârsta de 2 ani [162, 171, 175]. Frecvența cronicizării infecției cu VHC la copii, formele de evoluție clinică și impactul socio-economic în plan global sunt raportate preponderent doar în studiile care provin din regiunile geografice cu endemicitate crescută [42, 49, 52, 64].

Cercetările științifice multicentrice din ultimii 15 ani în domeniul diagnosticului și tratamentului HVBC și HVCC la copii au avansat considerabil și au permis modificarea schemelor de tratament etio-patogenetic. Astăzi replicarea virală la copiii cu HVBC poate fi suprimată prin administrarea analogilor nucleozidici (-otidici), cum sunt: lamivudina, entecavirul, adefovirul, tenofovirul sau interferonul alfa 2b sau 2a pegilat (standard), iar în HVCC – prin combinarea inductorilor de interferon cu ribavirină, pentru o perioadă de timp, dependentă de genotipul VHC [178, 181, 192]. Problemele diagnostice, terapeutice și impactul medico-social pe care le ridică HVBC și HVCC la copii au o semnificație deosebit de importantă asupra întregii comunități, ceea ce impune o abordare prioritara în politicile de sănătate de stat [84, 95, 97]. În ciuda progreselor științifice avansate, a programelor globale și naționale de profilaxie nespecifică și specifică prin vaccinare anti-HVB a copiilor, a tratamentului antiviral recomandat, infecțiile cu VHB și VHC rămân cei mai importanți factori etiologici infecțioși, cu risc major de cronicizare începând din copilărie [98, 105, 106]. Astăzi, eforturile colectivelor de cercetători la nivel mondial sunt îndreptate spre elaborarea vaccinului anti-HCV și a remediilor antivirale noi, cost-eficiente, pentru toate tipurile de genotip VHC și, în special, pentru genotipul 1b, cunoscut a fi neresponsiv la tratament [128, 163, 166, 174].

În 2016, OMS a aprobat Strategia Sectorului de Sănătate Globală (GHSS) privind hepatitele virale B și C pentru perioada 2016-2021 [94, 95, 96]. Scopul principal al acestei strategii este

eliminarea până în 2030 a hepatitelor virale ca o amenințare de sănătate publică, reducerea cu 90% (de la 6-10 mln de cazuri înregistrate în prezent, până la 0,9 cazuri în 2030) a cazurilor noi de infecție și a deceselor anuale cu 65% (de la 1,4 mln la 0,5 mln în 2030) provocate de aceste maladii [95]. Acoperirea mondială în 2015 cu 3 doze de vaccin anti-HVB în 85% din cazuri a copiilor a redus considerabil prevalența morbidității prin hepatită virală B până la 1,3% și, în special la cei cu vârsta sub 5 ani [126, 179]. Cu toate acestea, vaccinarea anti-HVB a nou-născuților în primele 24 de ore după naștere, în multe țări slab dezvoltate economic, este asigurată doar în 39% din cazuri [94, 123, 131].

O problemă dificilă în plan epidemiologic pentru sistemul de sănătate rămâne furnizarea de servicii medicale invazive cu instrumentar sterilizat necalitativ, acordarea măsurilor de îngrijiri medicale nesigure, care au riscul major de contaminare nosocomială (5%) cu VHB sau VHC [20, 94,183]. Ca urmare, numai în 2015, în plan mondial, au fost depistate 1,75 milioane cazuri noi de infecție cu VHC [20, 94].

Mecanismele imunopatogenetice ale proceselor inflamatorii virale cronice induse de VHB și VHC și ale celor de fibrozare hepatică sunt complexe și au la bază interacțiunea virusului cu sistemul imun al copilului infectat [50, 85, 121]. Răspunsul organismului copilului infectat cu VHB sau VHC și modificările patologice produse sunt mediate imunologic și endocrin [36, 47, 53]. Cercetările din ultimii ani în domeniul HVBC și HVCC la copii au fost direcționate asupra studierii reacțiilor și a mecanismelor imune [45, 46, 55]. Rolul imunității congenitale în imunopatogeneza HVBC și HVCC la copii, în special a limfocitelor T (CD3) și a subpopulațiilor lor, a citokinelor proinflamatorii, nu a fost studiat îndeajuns. Aceste aspecte reprezintă punctul-cheie la momentul actual în domeniul cercetărilor științifice ce vizează problematica HVBC și HVCC la copii [45, 46, 51, 55].

Implementarea celor trei Programe Naționale de combatere a hepatitelor virale B, C, D, începând cu anul 1995 până în prezent, cu imunizarea anti-HVB a copiilor nou-născuți din maternitate, lărgirea listei contingentelor cu risc sporit și implementarea măsurilor nespecifice de profilaxie au contribuit esențial la diminuarea incidenței și prevalenței îmbolnăvirilor prin HVBC și HVCC la copii. Conform datelor Centrului Național de Management în Sănătate, în a. 2017 din Republica Moldova, incidența și prevalența morbidității prin HVBC și HVCC la copiii de vârsta 0-18 ani este mult mai crescută, decât indicatorii similari europeni [10, 18, 29, 107]. Datorită măsurilor profilactice întreprinse în plan național, în ultimii ani, prevalența HVBC la copiii de vârsta 0-17 ani 11 luni 29 zile a scăzut de la 128,9 (2006) până la 19,8 (2016)/10 000 de copii, iar incidența acestei maladii de la 12,6 (2006) până la 2,9 (2016)/ 10 000 de copii; prevalența HVCC la copii a diminuat de la 24,6 (2006) până la 9 (2016)/ 10 000 de copii, iar incidența de 3,4 (2006) a scăzut doar până la 2,6 (2016)/10 000 de copii, atestând o ușoară creștere în ultimii 4 ani [10, 13,

18]. Aportul semnificativ al celor 3 Programe Naționale de combatere a hepatitelor virale B, C, D (2004 - 2016) a contribuit la reamplasarea Republicii Moldova din zonele geografice hiperendemicice în una cu endemicitate medie, markerii infecției cronice cu VHB sau VHC fiind evidențiați la 8-11% dintre adulți (în diferite regiuni ale țării) și la 0,6% din copii [13, 20]. Originea HVCC la adulți s-a demonstrat a fi asociată perioadei copilăriei, deoarece riscul cel mai înalt de infectare cu VHC poate fi realizat prin transmitere materno-fetală sau perinatal, apoi pe căi habituale sau raporturi sexuale timpurii, neprotejate la adolescenți [72, 140, 162]. Existența riscului de transmitere a VHB sau VHC perinatal de către femeile gravide ce prezintă AgHBe pozitiv sau/și viremie crescută VHB sau VHC nou-născuților, necesită revederea schemelor de vaccinare anti-HVB și depistarea precoce a acestor cazuri, deoarece o singură doză de vaccin anti-VHB administrată în primele 12-24 de ore după naștere nu induce formarea imunității protective la copil [112, 120, 124].

Infecția cronică cu VHC la copii poate fi eradicată astăzi prin aplicarea măsurilor sigure de securitate medicală. Schemele terapeutice cu interferon alfa 2b pegilat combinat cu ribavirină în HVCC la copii s-au dovedit a fi efective doar pentru genotipurile 2 și 3, genotipul 1, în special 1b, ducând, de regulă, la lipsa răspunsului la tratament [88, 194].

Progresele științifice și tehnologiile diagnostice avansate din ultimii 15-20 de ani, în plan global, cu producerea testelor imunologice de înaltă sensibilitate și a celor de cercetare genotipică fac posibilă precizarea definitivă a diagnosticului de hepatită virală B sau C cronică [64, 82, 128]. Copiii cu HVBC și HVCC pot beneficia în prezent de tratament antiviral etiopatogenetic, care este asigurat de programele statale din sistemul sănătății. În Republica Moldova, începând cu a. 2010, grație suportului financiar al Guvernului Republicii Moldova și al Ministerului Sănătății, a fost inițiat programul de tratament antiviral la copiii cu vârsta mai mare de 3 ani (monoterapie cu interferon alfa 2b pegilat) în HVBC și combinat cu ribavirină, în HVCC [17, 20, 33]. Actualmente, prorocoalele pediatrie de tratament antiviral în HVBC au fost parțial modificate, cu recomandarea administrării prioritare a analogilor nucleotidici (-zidici), ca entecavirul și lamivudina (la copii mai mari de 2 ani), sau adefovirul și tenofovirul (după vârsta de 12 ani), [73, 106, 108]. Aceste variante terapeutice au acțiune directă, sunt mai puțin ofensive și au o cost-eficiență mai mare, dar sunt dependente de vârsta copiilor [74, 101, 103]. Obținerea supresiei virale VHB sau VHC este obiectivul principal al strategiilor actuale de tratament antiviral în HVBC și HVCC la copii. Recent au fost revizuite indicațiile și criteriile de eligibilitate pentru inițierea tratamentului antiviral [93, 193, 198]. Toți pacienții cu HVBC și ADN VHB mai mare de 2000 ui/ml, ALT crescută/și sau leziuni histologice moderate pot fi încadrați în tratamentul antiviral, iar pierderea AgHBs este considerată drept un rezultat final optim [89, 91,

93]. Pacienții cu CH virală B și ADN VHB detectabil sunt considerați toți eligibili pentru tratamentul antiviral [93, 125, 193].

Particularitățile evolutive ale HVBC și HVCC la copii, tactica tratamentului etiopatogenetic al acestor boli sunt dependente de activitatea procesului inflamator hepatic, de nivelul viremiei și stadiul maladiei, exprimat prin severitatea fibrozei hepatice [184, 186, 192]. Biopsia hepatică, care era considerată până nu demult “standardul de aur” în precizarea gradului de activitate necro-inflamatorie și a stadiului fibrozei hepatice în HVBC și HVCC, s-a demonstrat că are riscuri pentru pacientul pediatric, iar probele mici de țesut hepatic prelevat sunt insuficiente pentru a formula o concluzie definitivă riguroasă [133, 134, 160]. La rândul lor, metodele neinvazive, cum sunt elastometria sau FibroTestul, apărute recent pentru determinarea gradului de fibroză hepatică, a activității procesului inflamator hepatic și a stadiului maladiei, prezintă unele dezavantaje față de rezultatele histopatologic necesitând a fi sistematizate, în special, la copii [66].

Estimările recente constată că în cazul existenței riscului de infectare cu VHB a nou-născutului, de la mama purtătoare de AgHBs, sau cu HVBC, administrarea concomitentă a unei doze de vaccin anti-HVB și a IgHVB în primele 12 ore de la naștere și continuarea vaccinării pe parcursul primului an de viață poate duce la eradicarea infecției cronice cu VHB la copii [64]. Necesitatea revaccinării anti-HVB a celor vaccinați anterior rămâne deocamdată incertă și discutabilă [66, 145, 157]. Copiii cu HVBC și HVCC sunt viitorii adulți, iar infectarea cu VHB sau VHC la o vârstă fragedă creează premise pentru persistența îndelungată a procesului viral cronic inflamator la nivel hepatic și progresarea în timp spre ciroză sau cancer hepatocelular [66]. În scopul ameliorării calității vieții copiilor infectați cronic cu VHB și VHC și pentru diminuarea morbidității la adulți începând din copilărie, sunt necesare cercetări științifice fundamentale în domeniu, cu determinarea cauzelor, factorilor de risc, a mecanismelor imunopatogenetice de cronicizare, cu optimizarea schemelor de tratament antiviral și neviral.

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

1.1 Caracteristici etiologice, epidemiologice, gradul de răspândire, factorii de risc și patogeneza HVBC la copii

Etiologie. VHB face parte din familia *Hepadnaviridae*, genul *Orthohepadnavirus*. VHB a fost descoperit pentru prima dată de Blumberg B. și colaboratorii, în 1963-1964, în sângele unui aborigin australian, care în continuare a fost denumit “antigen australian”. În 1970, Dane D și colaboratorii au descoperit prin microscopia electronică, în serul pacienților cu hepatită parenterală, niște particule sferice mici, cu diametrul de 20 nm, filamente tubulare cu o lungime de 20 nm și particule sferice cu diametrul de 42-47 nm (Figura 1.1), care au fost denumite *particule Dane* – identificate drept agentul patogen al hepatitei virale B [6, 11, 63]. VHB își păstrează infecțiozitatea la temperatura de -20°C, timp de mulți ani, la t° +30°C - timp de câteva luni, iar la +60°C - timp de câteva ore, este rezistent la eter și căldură, se distruge la fierbere și în hipocloritul de sodiu [13, 29]. Structura genomică a VHB (Figura 1.2) este una circulară și conține 3200 de nucleotide. Virusul este format dintr-un înveliș extern (anvelopă), ce conține ADN circular parțial, dublu-catenar și ADN-polimerază virală, cu activitate de reverstranscriptază; este un virus hepatotrop, dar poate fi regăsit și în rinichi, pancreas, alte celule mononucleare [13, 65, 84, 124].

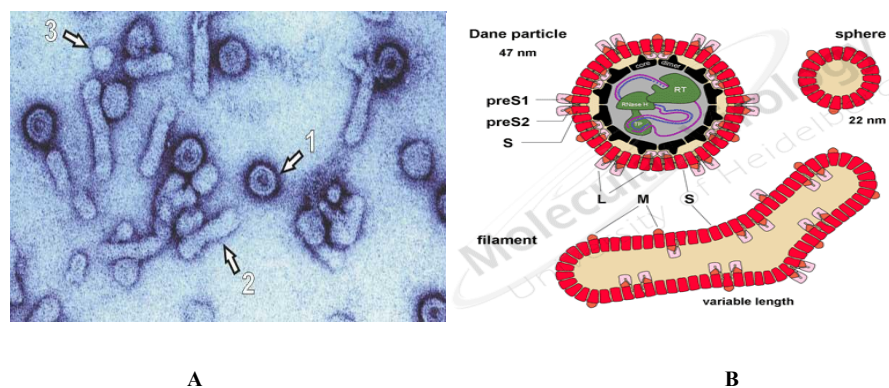


Fig. 1.1. Structura VHB la microscopia electronică (A) și cea schematică (B):

A (pe stânga)- particulă sferică Dane infecțioasă (1), filamente (2) și particule sferice mici (3) neinfecțioase;
B (pe dreapta): cele trei tipuri de particule și 3 proteine structurale (largă L –“large”, mijlocie M – “middle”, mică S – “small”), proteina core, polimeraza și ADN-polimerază dublu catenară (sursă: H.W. Zentgraf, Heidelberg www.molecular-virology.uni-hd.de)

Genomul VHB conține 4 gene care se suprapun parțial și au 4 regiuni deschise de citire - ORF (“open reading frames”): gena S, gena C, gena P și gena X, care codifică proteinele nucleocapsidei virale (core), polimerazele virale, antigenii de suprafață pre-S1, pre-S2 și S și proteina nonstructurală X [23, 24, 44, 46]. Gena S codifică proteinele de suprafață ale anvelopei virale, respectiv AgHBs (Figura 1.1, A). Regiunea S codifică proteina S mică (“small”), regiunile pre-S2 și S codifică proteina M HBs, medie (“middle”), iar regiunile pre-S1, pre-S2 și S codifică

proteina L – de mari dimensiuni (“large”) HBs. Regiunea S este mult mai stabilă decât regiunile pre-S1 și pre-S2, în care pot surveni mutații [13, 29].

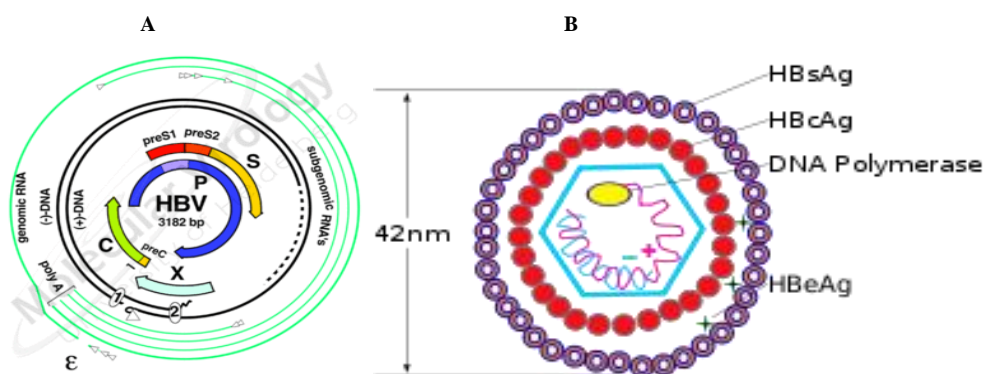


Fig. 1.2. Structura genomică și cele 4 gene: S, C, P, X (A) și antigenică (B) a VHB (markerii virali): antigenul de suprafață AgHBs, AgHBc din nucleocapsidă, AgHBe component al nucleocapsidei, ADN polimeraza

(imagine: www.molecular-virology.uni.hd.de, 2015; www.microbio.ucoz.com, 2010)

Gena C (core) constă din porțiunea Cor și pre-Core, care codifică AgHBc din nucleocapsidă și AgHBe, care se modifică după ce este produs în citoplasma hepatocitului, iar mai apoi în sânge (Figura 1.2). Acestea sunt ținta de bază a imunității celulare și umorale direcționate spre eliminarea VHB și distrugerea hepatocitelor infectate. Mutațiile din regiunea pre-C duc la dispariția AgHBe din ser, în timp ce multiplicarea virală poate continua, iar cele din regiunea C și pre-C sunt asociate cu evoluția gravă a hepatitei [13, 29]. Gena P codifică sinteza ADN-polimerazei virale, care posedă activitate de transcriptază, și a ribonucleazei, astfel fiind sintetizat ADN viral prin formarea ARN pre-genomic (intermediar). Prin această formă de sinteză pot fi reproduși genomii VHB mutați [13, 29, 64]. Gena X codifică AgHBx – markerul timpuriu al replicării virale a VHB. Semnificația AgHBx este puțin studiată și se presupune că poate fi importantă în cazurile de HVCB cu AgHBe negativ. Anticorpul antiHBx sunt markerii timpurii ai infectării cu VHB și au semnificație clinică în caz de cancerogeneză hepatică [13, 29, 64].

VHB are o structură complexă, având la exterior o anvelopă cunoscută sub denumirea de AgHBs (Figura 1.2). Această componentă a virusului se găsește liber în sânge, limfă, în secretele biologice (lacrimă, laptele matern, salivă, secrețiile vaginale, lichidul spermatic). AgHBs nu pătrunde în hepatocite, acestea fiind infectate de nucleocapsidă. VHB conține ADN-polimerază și 4 antigeni: AgHBs (de suprafață), AgHBe (de infecțiozitate), AgHBcore (de miez) și AgHBx, care pot fi diferențiați pe baza secvențierii ADN VHB [13].

Nucleocapsida este formată din ADN – componentă ce conține informația genetică necesară virusului pentru a se replica în hepatocite, mai multe enzime indispensabile replicării virale și capsida propriu-zisă, unde se află AgHBc. În hepatocitele infectate, ADN-ul viral poate fi prezent în formă circulară covalent închisă cccADN, doar în inelul nucleului hepatocitului și în formele

relaxată și liniară, prezente doar în citoplasmă [13]. AgHBs este un complex proteic imunogen și foarte eterogen, inductor al sintezei anti-HBs, cu 5 determinante [8,13]:

- “a” – specifică de grup și comună pentru toate tipurile de AgHBs;
- “d/y” specifică aminoacidului în poziția 122;
- “r/w” specifică poziției 160 de arginină sau lizină – două perechi de determinante care au rol de alele;
- subtipul “w”, care include subvariante w1,w2,w3,w4; “q”, “x”, “g”.

Combi-nația determinantelor poate fi în 4 subtipuri cunoscute: “adw”, “ayw”, “adr”, “ayr”. Aceste determinante au un rol epidemiologic important prin apariția mutațiilor de înveliș. Modificările nucleotidice sunt capabile să producă variații ale determinantelor antigenice, iar neutralizarea prin anticorpi specifici să nu fie realizată. Anticorpul care recunoște determinanta “a” face parte din componentul de bază al sintezei anti-HBs după rezolvarea infecției cu VHB prin însănătoșire sau după imunizare anti-HVB [13, 29, 64]. Astfel, în unele cazuri, la copiii vaccinați anti-HVB cu vaccin de generația I (derivat plasmatic) în Italia au fost decelați AgHBs, anti-HBs și ADN VHB pozitivi, fapt ce demonstrează prezența unor variante mutante în lipsa neutralizării prin anticorpi anti-HBs la cei vaccinați. Aceasta explică eșecul vaccinării anti-HVB la un grup mic de vaccinați și apariția hepatitelor cu AgHBs negativ [13, 29, 64].

Antigenul AgHBc nu poate fi detectat în plasmă în stare liberă, dar numai în nucleul și citoplasma hepatocitelor și doar peste 10 zile de la infectare. În sângele pacienților pot fi decelați anticorpi anti-HBc de clasa IgM sau IgG, care au valoare diagnostică [8, 13].

AgHBe este un antigen solubil asociat nucleocapsidei, poate fi determinat în sânge, este un indicator important al replicării virale începând cu perioada de incubație, după apariția AgHBs, și dispare peste 2-4 săptămâni, înaintea suprimării AgHBs [13]. Persistența îndelungată a AgHBs este un indicator nefavorabil al replicării continue și al cronicizării procesului infecțios [7, 13, 37, 42]. AgHBe asociat nucleocapsidei este prezent în ser în perioada de incubație, fiind reprezentat de două tipuri de epitopi: AgHBe1, expus la suprafața capsidului, și AgHBe2, situat în centrul nucleocapsidului. Anticorpul față de AgHBe1 reacționează numai cu proteina asamblată, iar anticorpul față de AgHBe2 recunoște proteina numai după distrugerea centrului viral. Prezența AgHBe în ser semnifică replicarea activă a VHB. ADN viral este decelat în sângele pacienților odată cu antigenii VHB, iar prezența lui indică persistența replicării infecției cu VHB și cronicizarea bolii [4, 13, 64, 192].

Datorită tehnologiilor medicale contemporane și supraspecializate, a fost posibilă secvențierea ADN-lui VHB în mai multe regiuni ale globului pământesc, ceea ce a demonstrat existența mai multor genotipuri VHB, în funcție de regiunea geografică [151, 153]. În prezent sunt

cunoscute 8 genotipuri ale VHB notate A, B, C, D, E, F, G, H, cu o distribuție geografică distinctă, expresii clinice și proprietăți diverse de replicare [13, 153, 159, 168, 182]:

- *genotipul A* (subtipurile adw 2, ayw 1) – frecvent întâlnit în America de Nord, Europa de Nord-Vest;
- *genotipul B* (subtipul adw2, adw3, ayw1) și *genotipul C* (subtipurile adw2, adw3, ayw3, adr și ayr) predomină în Asia de Est;
- *genotipul D* (subtipurile adw3, ayw2, 3, 4) - în țările Bazinului Mediteranean și în Orientul Mijlociu;
- *genotipul E* (subtipul ayw4) – în Africa de Vest;
- *genotipul F* (subtipurile adw4, ayw4) și *genotipul H* (subtipul adw4) – în America Centrală și de Sud;
- *genotipul G* (subtipul adw2) predomină în SUA și Europa.

Studiile cu privire la circulația genotipurilor VHB în populația generală și la copii în Europa sunt limitate. Cercetările efectuate de Шахгильдян И. В. și colab., 2005 la un grup de pacienți adulți din Republica Moldova au constatat prezența subtipurilor “ay” în 94,8 și “ad” în 5,2% din cazuri, care este mai mult specific genotipului D [43]. Circulația genotipurilor VHB în Republica Moldova la copii rămâne necunoscută.

Ciclul complicat de replicare a VHB cu transcripția inversată îi asigură un potențial mutagenic mai mare de 150 de mutații, care pot determina variantele clinice ale HVBC, rezistența la tratamentul antiviral cu interferon și influența asupra prognosticului maladiei [13, 69, 153]. Cele mai studiate mutații ale genomului VHB sunt în pre-C-stop-codon, care induc pierderea AgHBe și menținerea replicării active, mutațiile în Core-promotor, ce influențează intensificarea replicării virale, determinând o evoluție severă a hepatitei și tulburări de sensibilitate la remediile antivirale [46, 69]. VHB cu AgHBe negativ (pre-Core-mutant) este comun pentru toate genotipurile B, C, D și poate defini răspunsul la tratamentul antiviral (Tabelul 1.1).

În procesul de recunoaștere a antigenilor VHB de către limfocitele T helper CD4, prin cercetări recente, a fost demonstrat rolul imunomodulator al AgHBe [13, 64, 162]. VHB este de 50-100 de ori mai infecțios decât virusul HIV și poate fi transmis prin sânge și alte lichide biologice (salivă, spermă, secrete vaginale) ale persoanei infectate [13]. Formele de HVBC cu AgHBe negativ au fost descrise în anii '80 ai sec. XX [13, 69], cu mutații în regiunea pre-Core a VHB ($G \geq A$) și împiedicarea reproducerii AgHBe (Tabelul 1.1). Drept consecință, la pacienții cu HVBC infectați cu tulpini mutante în sânge se decelau anti-HBe. Aceste forme au fost pentru prima dată identificate în țările mediteranene, unde infecția cu VHB este mai frecventă decât în cele europene și în SUA [4, 64, 69].

Tabelul 1.1. Mutațiile genomului VHB și influența lor în patogeneza HVBC
(după: Baumert T. și colab., 2007)

Regiunea genomului VHB	Locul mutației	Modificările la nivel molecular	Manifestările clinice
Pre-S/S	Pre-S/pre-S1, S-promotor, S-splicing	Dereglarea asamblării virionului; dereglarea epitopului B și T celular	Hepatită fibrozantă colestatică, lipsa răspunsului imun, vaccinare neefectivă
Pre-C	Pre-C-stopcodon	Pierderea AgHBe	Hepatită severă, absența AgHBe
Core	Core	Afectarea epitopilor T celulari	Hepatită severă, persistența AgHBs
RT/Pol	Pol	Dereglarea replicării	Persistența ascunsă a VHB, rezistența la remedii antiretrovirale
Elemente reglatoare	Core-promotor	Replicarea și asamblarea rapidă a virionilor VHB, dereglarea sintezei AgHBe	Evoluție gravă a HVBC, forma AgHBe negativă a HVBC

Genotipurile VHB variază în fiecare regiune geografică (Figura 1.3), iar evoluția progresivă a HVBC și răspunsul la interferonoterapie sunt direct proportional dependente de genotipul VHB [13, 159, 168]. Genotipul A se asociază cu o frecvență mai înaltă a seroconversiei AgHBe/anti-HBe la terapia cu interferoni [69, 153, 182]. Genotipul B se caracterizează prin progresare mai lentă spre ciroză hepatică, un indice necroinflamator mai redus și o rată scăzută de progresare spre cancer hepatic [69, 148, 159]. Analiza multivariată din studiul EuroSIDA a relevat faptul că, în Europa de Est, printre cei infectați cronic cu VHB genotipul A a fost decelat în 18,84% din cazuri, pe când în 48 din 69 de cazuri genotipul VHB a rămas necunoscut [159, 168]. La copiii cu HVBC din Rusia genotipul D a fost determinat în 52,8% din cazuri, genotipul A – în 6,3% , genotipul E – în 4,4%, la fiecare al patrulea copil genotipul VHB nu a fost identificat, iar genotipurile B, C, F nu au fost decelate în grupul cercetat [64]. În 12% din cazuri la copiii cu HVBC au fost determinate 2 tipuri de genotip VHB, iar în 0,6% din cazuri – trei, acestea determinând expresia clinică și forma evolutivă a maladiei cronice [64, 168]. Acest fapt explică posibilitatea de infectare multiplă a copiilor cu diverse tipuri și subtipuri de genotip VHB, cu anumite particularități clinice evolutive și răspuns terapeutic [151, 153]. S-a demonstrat că la copii și la persoane tinere cu vârsta până la 30 de ani HVBC evoluează mai frecvent în forme clinice cu AgHBe pozitiv, iar eliminarea activă a VHB și seroconversia AgHBe/anti-HBe are loc în genotipul B [151, 153].

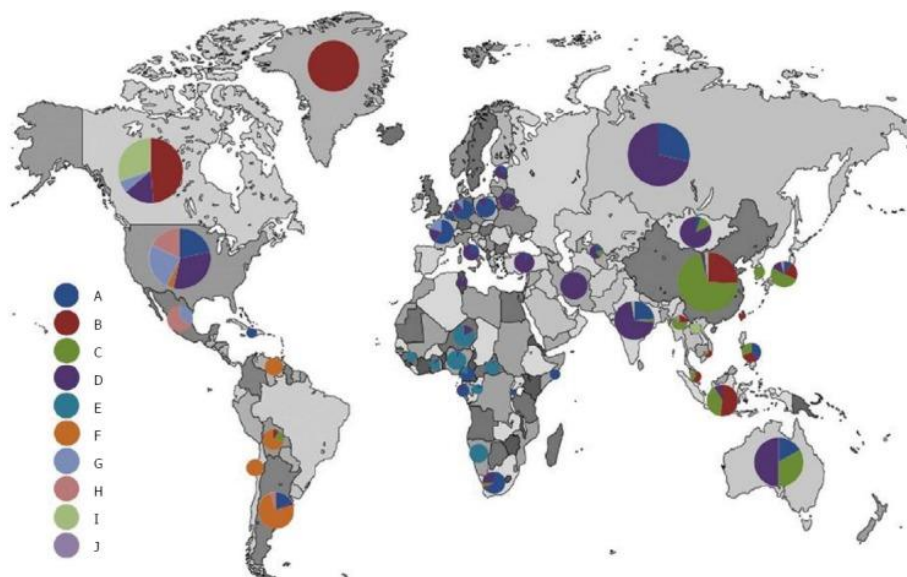


Fig. 1.3. Distribuția geografică a VHB după genotip [151]

După datele ESPGHAN (2013), la copiii din Europa de Vest și America de Nord, pozitivitatea AgHBs este rar întâlnită, datorită măsurilor profilactice realizate de programele regionale de vaccinări anti-HVB [161, 162]. Problemele specifice, cu care se confruntă pediatrii din mai multe țări în 2-5% din cazuri, sunt legate de HVBC la copiii adoptați ce provin din țări cu endemicitate înaltă a infecției cu VHB [162]. Prin intermediul acestei categorii de copii sunt transportate diversele genotipuri VHB, care determină severitatea formelor de evoluție a maladiei [161, 162]. Cercetările efectuate pe un lot de 23 de copii cu HVBC tratați cu interferon alfa 2b în Belgia, țară cu endemicitate joasă privind infecția cu VHB, au demonstrat o rată înaltă a prezenței mutației pre-S a celor 4 gene ale VHB (A, B, C, E), fapt ce semnifică o varietate geografică a genotipului VHB printre copii [162]. Studiile efectuate în 2004 în Taiwan pe un lot de 460 de copii cu portaj cronic de AgHBs și 26 de copii cu cancer hepatocelular, supravegheați timp de 15 ani, au constatat predominarea genotipului B al VHB în 73-86% din cazuri la pacienții cu AgHBe + și în 76% din cazuri la cei cu anti-HBe+ și AgHBe negativ [138]. Genotipul C al VHB a fost decelat la doar 27% din copiii cu AgHBe și în 6% cazuri cu anti-HBe+, acesta întârziind seroconversia față de cei cu AgHBe pozitiv și genotipul B [138, 139]. La copiii infectați cronic cu VHB a fost demonstrat rolul important al mutației genice pre-S2 în dezvoltarea cancerului hepatocelular, aceștia necesitând o strategie de supraveghere mai intensă pentru depistarea timpurie a proceselor maligne [138, 151, 153].

Multiplicarea VHB. Reproducerea VHB are loc în câteva etape: I - la pătrunderea virusului în organism și multiplicarea lui extrahepatică; II – la pătrunderea VHB în sânge și apariția viremiei; III – la realizarea reproducerii în interiorul hepatocitului infectat, virusul fiind transportat

cu fluxul de sânge [13, 53, 124]. Mecanismele de multiplicare și ciclul de viață al VHB intracelular includ 6 pași consecutivi: atașarea VHB de către receptorii membranei hepatocitului, penetrarea prin endocitoză și fuzionarea în interiorul hepatocitului (1), dezasamblarea și decapsidarea nucleocapsidei (conține un ADN parțial dublu-catenar circular relaxat = ADNcr), trecerea în nucleu prin porii membranei nucleare a ADN-polimerazei virale, eliberarea și refacerea ADN-ului genomului parțial dublu-catenar de enzime celulare (2, 5), transcrierea și transportarea ARN pregenomic prin intermediul cccADN care servește ca matrice pentru sinteza ARN (3), formarea nucleocapsidei imature de către ARN pregenomic și subgenomic ARNs, încapsularea ARN pregenomic și a ADN-polimerazei în nucleocapsidă (4), transcrierea inversă a ADN care este retransportat în nucleu (5), transportarea în reticulul endoplasmatic și aparatul Golgi pentru asamblare și învelire cu AgHBs a nucleocapsidei mature, exportarea VHB în exteriorul hepatocitului prin exocitoză (6). Concomitent are loc sinteza în exces a particulelor sferice și a filamentelor, care nu au proprietăți infecțioase. La implicarea factorilor de transcripție ai gazdei și a celor virali (core, proteina reglatoare X) poate fi indusă modificarea expresiei genice a VHB prin interacțiunea cu promotorii virali ai celor 4 gene (inclusiv gene ale core, polimerazei, ARN, ale domeniilor proteinelor terminale, ale genelor pentru proteinele L, M și S codante), [13, 69].

Celula infectată va expune pe suprafața membranei sale antigenii specifici, care semnalează sistemului imun [17, 64, 69]. VHB nu este citopatic, iar hepatocitoliza este determinată de tipul răspunsului imun al gazdei. Limfocitele T helper (CD8+) și celulele NK atacă și distrug hepatocitele infectate, iar anticorpii specifici neutralizează virusul circulant [64, 69]. ADN viral dublu-catenar este extrem de stabil, poate persista sub formă de plasmidă în interiorul hepatocitelor, influențând persistența cronică a VHB și a fenomenelor de reactivare, sau se poate integra în cromozomul acestora cu inducerea posibilă a acțiunii oncogene [17, 69]. Implicarea transcriptazei inverse se află la originea apariției mutațiilor genomice VHB, explicând eșecurile în vaccinarea anti-HVB, rezistența la terapia antivirală și apariția formelor mutante de HVBC cu AgHBe negativ. Hepatocitele infectate cu VHB prezintă pe suprafața lor antigeni virali ce stimulează răspunsul imun [64, 69].

Epidemiologie. Distribuția geografică globală a infecției cu VHB este neuniformă (Figura 1.1.4) și variază de la țară la țară, deosebindu-se următoarele zone de endemicitate: a) *endemie redusă* (0,1-2%): SUA, Europa de Nord și de Vest, Australia, Noua Zeelandă, Canada, Marea Britanie; b) *endemie medie* (2-7%): Bazinul Mării Mediterane, Europa de Est, Orientul Mijlociu, Asia Centrală, Japonia, America de Sud și Centrală, Republica Moldova, România, Rusia; c) *endemie înaltă* (8-15%): China, insulele Oceanului Pacific, Asia de Sud-Est, Africa de Sud Sahariană [30].

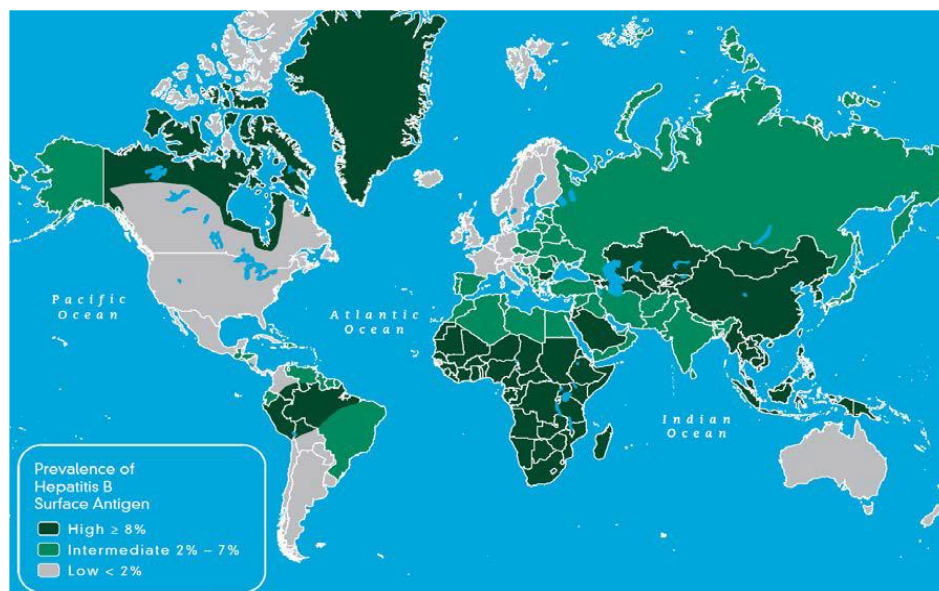


Fig. 1.4. Prevalența geografică globală a HVBC [139]

Regiunile geografice cu endemicitate intermediară, la rândul lor, sunt divizate în regiuni cu endemicitate intermediară înaltă, cu rata prevalenței HVBC de 5-7%, și endemicitate intermediară joasă, de 2-4% (Figura 1.4).

Imunopatogeneza HVBC. Mecanismele imunopatogenice ale hepatitei virale B au unele particularități principale ce se deosebesc de cele ale altor hepatite virale [13, 69]. VHB pătrunde în organism, de regulă, prin căi parenterale, dar poate fi inoculat și antenatal (intrauterin, fiind transmis transplacentar), intranatal (în travaliu) sau postnatal, în timpul îngrijirilor [13]. Totodată este posibilă infectarea cu VHB prin căi hematologice, percutane, în timpul micilor leziuni traumatizante, cu transportarea VHB pe cale hematogenă în ficat [13, 69]. Citoliza hepatocitelor este asigurată de limfocitele T citotoxice CD8+ din momentul recunoașterii antigenilor VHB localizați în interiorul hepatocitelor [7, 13, 69]. În cazul unui răspuns imun insuficient, distrugerea hepatocitelor infectate se realizează mai puțin activ, iar eliminarea totală a VHB nu poate fi asigurată, astfel fiind realizată progresarea lentă a procesului infecțios și persistența cronică a infecției [64, 65, 69]. Infecția cu VHB induce un spectru larg de manifestări clinice de la starea de purtător asimptomatic, hepatite acute autolimitante sau fulminante până la hepatite cronice, cu o evoluție progresivă spre ciroză hepatică sau carcinom hepatocelular [69].

În patogeneza infecției cu VHB sunt implicate mai multe mecanisme ce țin atât de proprietățile heterogenetice ale VHB, de capacitatea lui de a genera mutații genice, precum și de statutul imunogenetic al gazdei și tipul reacțiilor imunopatologice induse în organism [69]. Răspunsul imun al gazdei este compus din 2 tipuri de procese: recunoașterea și eliminarea VHB și reacțiile imunopatologice, care au drept scop eliminarea virusului și distrugerea hepatocitelor infectate [64, 69]. Aceste interacțiuni virus-gazdă includ o variație relevantă de expresii clinice ale maladii și explică rolul VHB în inducerea lezării celulelor hepatice și apariția apoptozei, precum

și impactul răspunsului imun la terapia antivirală [64, 69, 106]. Eliminarea eficientă a VHB se bazează pe determinanții antigenici virali (AgHBs, pre-S1, pre-S2, AgHBcor, apariția mutațiilor genice ale VHB cu lipsa sintezei de AgHBe) și defectele sistemului imun ale gazdei (producerea de interferon propriu, funcționalitatea sistemului celular de limfocite T și B ale copilului). În literatura de specialitate sunt raportate date privind manifestările particulare ale unor forme de HVBC cu mutații genice care pot schimba evoluția naturală a infecției cu VHB și induce rezistență antivirală [69, 106]. Cantitatea suficientă de material biologic pentru infectarea cu VHB este de 0,00005 ml. După o perioadă de incubație a VHB de 45 - 180 de zile, apare viremia cu includerea mecanismelor de apărare nespecifică prin sinteza α INF (responsabilă de febră, mialgii, cefalee), activarea celulelor NK, care la rândul lor induc sinteza γ INF și a IL-2. Când infecția acută devine cronică, există o afectare progresivă a funcției celulelor T specifice.

Răspunsul imun anti-HVB reprezintă un proces complicat de interacțiuni dintre diferite tipuri de celule imunocompetente, fiecare având un rol bine determinat. Limfocitele T helper CD4+ sunt celule puternice ce induc sinteza citokinelor proinflamatorii, fiind necesare pentru formarea subpopulației de limfocite T efectoare CD8+ și sinteza de anticorpi de către limfocitele B. Celulele CD8+ elimină VHB prin mecanism citopatic și necitopatic, inducând diminuarea replicării virale. Concomitent, limfocitele B sintetizează anticorpi, ce neutralizează virionii VHB circulanți, astfel prevenind reinfectarea [64, 69].

Rolul principal în dezvoltarea primară a reacțiilor imunopatologice în infecția cu VHB îi revine celulelor NK, deoarece a fost demonstrat că diminuarea activității replicative a VHB se produce până la majorarea cantitativă a subpopulațiilor limfocitelor T sensibilizate [69]. Activarea celulelor NK este indusă de semnalările de pe membrana hepatocitelor infectate cu VHB prin impulsuri de "stres", care induc indirect sinteza de γ INF și diminuarea replicării virale prin mecanismul imunității congenitale antivirale. În hepatita virală acută B ponderea cea mai mare de celule NK a fost determinată în perioada de incubație la persoanele infectate care coincidea cu nivelul maximal al replicării virale VHB, iar nivelul maxim al limfocitelor T helper CD8+ a fost constatat cu 2-4 săptămâni mai târziu, când avea loc diminuarea replicării [69, 144, 154].

Cercetările experimentale efectuate pe cimpanzeu au demonstrat că în cazul unei imunități competente a gazdei, după apariția replicării virale VHB, se dezvoltă faza acută a hepatitei virale B cu manifestări clinice tipice și sinteză masivă a γ INF, TNF- α și expresia limfocitelor T helper CD4+ [69, 144]. Limfocitele T specifice, ca și NK, pot întrerupe expresia proteinelor virale și replicarea VHB fără distrugerea hepatocitelor infectate, acestea mediind indirect procesul infecțios prin intermediul γ INF, TNF- α [69, 144]. Tot în aceste studii s-a demonstrat că clearanc-ul VHB

este asociat cu infiltrarea ficatului cu celule T limfocitare CD3+, CD8+, γ INF și producerea acțiunilor necitopatice în hepatocitele infectate, fără manifestări clinice vădite, dar cu eliminarea VHB. În cazul cronicizării infecției cu VHB are loc o sinteză insuficientă de celule NK, γ INF, TNF- α și imunitatea specifică anti-HVB nu poate fi formată [69, 153, 154].

Studii experimentale recente privind patogeneza infecției cronice cu VHB au identificat rolul principal al NK în procesul de reglare directă a CD4+ și indirectă a CD8+ [69, 160]. Mecanismul de activare a NK se presupune că este indus prin intermediul citochinelor γ IFN de tip I (IL-8, IL-12, IL-15, IL-18), menținând funcția lor efectoare citotoxică [69, 160]. La pacienții infectați cronic cu VHB procesul de activare a NK, sinteză a γ INF, TNF- α și formare a imunității specifice virale B este insuficient [69]. Activarea mecanismelor imune umorale și celulare are loc înaintea leziunilor hepatocelulare [13, 69]. Principalele celule efectoare în declanșarea mecanismelor imune în infecția cu VHB sunt limfocitele T helper CD8+, iar cantitatea insuficientă a acestora întârzie eliminarea VHB, fapt demonstrat experimental pe cimpanzeu [69]. Este important de menționat că procesele necroinflamatorii sunt dominate de reacțiile imune produse în ficat și nu de cele virus-specifice [13, 69].

După infectare și penetrarea VHB în hepatocit la sfârșitul perioadei de incubație, VHB apare pe suprafața hepatocitelor sub formă de antigeni asociați prin legarea de membrana hepatocitului prin regiunea preS1 [13, 29, 69]. În ordine cronologică are loc sensibilizarea limfocitelor T anti-T pre-S, activarea limfocitelor T către AgHBcor, apariția anticorpilor anti-HBcor IgM. Limfocitele T helper CD4+ și T citotoxice/supresor CD8+ sunt direcționate spre epitopii de la nivelul proteinelor core, protein-polimerazei și proteinei de suprafață, care sunt responsabile de controlul infecției cu VHB [8, 13, 69]. Limfocitele T citotoxice sensibilizate, recunoscând acești antigeni asociați, distrug hepatocitele infectate cu VHB [69]. Particulele virale din hepatocitele distruse migrează în circulația sangvină pentru a fi eliminate sub acțiunea anticorpilor specifici [64, 69]. Dacă sinteza acestor anticorpi este insuficientă, particulele virale infectează noi hepatocite, astfel fiind menținut procesul de reproducerea VHB [13, 38, 69].

Contribuția celulelor limfocitare T helper (CD4 +) și T efectoare (CD8+) în clearance-ul viral VHB nu este cunoscută îndeajuns [64, 69]. AgHBe are un rol imunomodulator în prezentarea antigenului și recunoașterea lui de către limfocitele T helper (CD4+), [69]. Concomitent, limfocitele T sensibilizate activează celulele macrofagice Kupffer și cele endoteliale sinusoidale, penetrând prin intermediul fenestrărilor spațiului Disse în hepatocite. Recunoașterea antigenului VHB de către celulele imunocompetente declanșează citotoxicitate, cu eliberarea γ IFN, care la rândul ei activează celulele Kupffer pentru a fi sintetizată TNF- α și, împreună cu hepatocitele,

celulele stelate și cele endoteliale, stimulează producerea citokinelor proinflamatorii și antiinflamatorii [46, 47, 69].

La pacienții cu HVCB au loc tulburări imune antigen-specifice, care includ dereglarea proceselor de diferențiere a limfocitelor și subpopulațiilor lor, cu diminuarea cantitativă a limfocitelor T CD3, CD4+, a indicelui imunoreglator CD4+/CD8+, modificarea activității proliferative și a proprietăților de apoptoză a celulelor limfocitare în sângele periferic [51, 69, 152]. Totodată, are loc tulburarea sintezei citochinelor proinflamatorii cu producerea în exces a γ INF, IL-4, IL-6, IL-10 și diminuarea TNF- α , IL-2, IL-12 de către leucocitele mononucleare [51, 59, 69, 152]. Imunitatea specifică anti-VHB în hepatita virală acută B se formează prin intermediul răspunsului citotoxic al limfocitelor T helper [51, 58, 69]. Celulele imunocompetente, prin intermediul mediatorilor sintetizați și al structurilor neuroreglatorii, sporesc capacitatea de adaptare a organismului la stres, asigurând menținerea homeostaziei [38]. Conform concepției lui Selye H. și colab. săi sindromul nespecific de adaptare la stresul infecțios are 3 faze: de inducere, productivă și de imunodeficiență secundară [38]. În studii experimentale cu inducerea procesului infecțios (stresul infecțios cu miocardita virală la șoareci) au fost constatate anumite expresii ale spectrului citokinelor proinflamatorii. În perioada timpurie a procesului infecțios viral indus experimental, s-au constatat creșteri ale valorilor citochinelor proinflamatorii IL-1 β , IL-1 α , IL-6, TNF- α , pe când în perioadele mai tardive – s-au determinat creșteri ale valorilor serice ale IL-2, IL-3, IL-4, IL-10 și γ INF [38].

Eliminarea VHB poate fi produsă prin două mecanisme: citolitic, prin intermediul distrugerii celulelor infectate de către limfocitele T specifice, și necitolitic, prin eliberarea citochinelor proinflamatorii de către celulele limfo-mononucleare [58, 69, 152]. Parțial limfocitele T helper pot fi activate de AgHBs, AgHBc, AgHBe [69, 152]. Antigenul “e” activează limfocitele T 2 helper, iar AgHBc - limfocitele T 1 helper. Răspunsul imun celular T 2 helper este dominant față de T 1 helper, fapt ce se manifestă clinic prin diminuarea cantității celulelor specifice pentru AgHBc [51, 69, 152]. Imunitatea specifică anti-VHB în hepatita virală acută B se formează prin intermediul răspunsului citotoxic al limfocitelor T helper [67, 69, 152]. Se presupune că în organismul uman există un sistem unic funcțional imuno-endocrin reglator, cu medierea citochinelor proinflamatorii și care are un rol important în mecanismele adaptive la stresul produs prin infecție și în stadiul răspunsului imun al organismului [38]. Eliminarea necitolitică a VHB se realizează prin activarea macrofagelor de către limfocitele T 1 helper, captarea și distrugerea structurilor virale. Pe de altă parte, limfocitele T 2 helper stimulează imunitatea B-celulară și sinteza imunoglobulinelor specifice care blochează virusul [69]. Cantitatea de virus pătrunsă în organismul pacientului poate influența răspunsul imun anti-VHB, deoarece VHB în cantități mici este capabil de a induce un

răspuns limfocitar T citotoxic protectiv mediat de limfocitele T1 helper, iar în cantități mari – de limfocitele T 2 helper [13, 69].

Eliminarea citolitică a VHB cu distrugerea hepatocitelor infectate este asigurată prin atacul HLA I mediat imun și limfocitele T citotoxice (CD8+) și semnifică rolul important al limfocitelor citotoxice antigen-specifice în patogeneza infecției cronice cu VHB [64, 69]. Cu toate acestea, acțiunea directă citopatică a limfocitelor T citotoxice (CD8+) este limitată din cauza celulelor țintă ce conțin antigenul VHB și dispersarea lor redusă în țesutul hepatic din cauza multiplelor bariere structural-anatomice [69].

Deși pierderea AgHBe are o semnificație clinică importantă pentru procesul biologic de supraviețuire a VHB, acesta poate avea un rol mult mai marcant în interacțiunea virusului cu sistemul imun al copilului [69]. AgHBe are o acțiune imunomodulatorie, cu predispunerea toleranței limfocitelor T față de AgHBe și AgHBc, care pot induce persistența infecției cu VHB la copiii nou-născuți de mame infectate [44, 49, 53, 69]. Apariția mutațiilor AgHBe se datorează atât proprietăților imunomodulatorii cât și celor de supraviețuire ale VHB [69, 151]. Mutațiile care apar în contextul diferitor genotipuri VHB au fost identificate în genele structurale și nestructurale, precum și în elementele reglatoare ale virusului [69, 138]. Cele mai bine studiate sunt mutațiile în regiunea pre-Core stop codon care induce pierderea AgHBe; mutațiile în regiunea Core promotor (miez) contribuie la intensificarea replicării și apariția mutațiilor de transcriere a polimerazei, cu dezvoltarea rezistenței la tratamentul antiviral cu interferoni [138, 151, 153]. Concomitent, au fost determinate mutații severe ale proteinei antigenului de suprafață AgHBs și ale structurilor de înveliș [64, 69].

Istoria naturală a infecției cronice cu VHB la copii. Infecția cronică cu VHB este un proces dinamic, care reflectă interacțiunea dintre replicarea VHB și răspunsul imun al gazdei [11, 13, 16, 64]. La copii, infecția cronică cu VHB apare cel mai frecvent în urma transmiterii VHB pe cale verticală [60, 64, 67, 155], de la mama infectată cronic la nou-născut, dezvoltând o fază imunotolerantă, cu nivel normal al ALT, viremie înaltă a ADN VHB sau cu AgHBe pozitiv în sânge [138, 151, 154]. Această fază de imunotoleranță poate dura zeci de ani, cu progresarea într-o fază imunoactivă, cu manifestări clinice severe de HVBC și niveluri fluctuante ale ADN VHB [26, 64, 67, 155]. În regiunile hiperendemice riscul transmiterii perinatale a VHB de la mamă la nou-născut, pe cale verticală, este mai mare de 50% [13, 41, 64, 69].

Întrucât o fază imunoactivă extinsă este asociată cu o evoluție rapid progresivă a maladii cronice, într-un timp scurt se poate dezvolta ciroza hepatică virală, cu toate că nivelul viremiei VHB poate fi redus sub 2000 ui/ml, AgHBe negativ și anti-HBe pozitivi. Acest fapt întârzie

deciziile terapeutice pentru tratamentul antiviral la copii [13, 64, 69]. O parte din acești pacienți pot dezvolta acutizări recurente ale procesului necroinflamator hepatic, cu viremie înaltă, AgHBe pozitiv sau negativ [13, 64, 69]. Maladia, având început în fragedă copilărie și continuată la vârsta adultului tânăr, poate prelua o evoluție negativă, cu malignizare timpurie în caz de asociere a altor factori agravanți, mai ales la genul masculin [4, 13, 69].

Riscul infectării copilului nou-născut cu VHB în timpul travaliului sau în primele zile după naștere, de la mama cu HVBC și viremie redusă, este de 10%, pe când în cazul prezenței viremiei înalte VHB la ea, este acest risc de 100% [64, 191, 198]. Contractarea postnatală a VHB de către copiii sugari este posibilă teoretic prin laptele matern, însă aceasta rămâne încă o chestiune controversată și nedemonstrată, cu toate că există o corelație între probabilitatea transmiterii VHB în timpul alăptării la sân în cazul prezenței viremiei înalte și al leziunilor cutanate mamelare la mamă [64, 69, 198]. Procesele necroinflamatorii în ficat la copiii cu HVBC pot fi induse și de complexe imunocirculante (CIC), care sunt alcătuite din antigeni VHB și anticorpi specifici anti-HBs [13, 64, 69]. CIC pot induce diverse procese extrahepatice așa ca periarterita nodoasă, glomerulonefrita, crioglobulinemia, anemia aplastică și altele, însă acestea sunt rar întâlnite la copii [13, 64, 69]. Diagnosticul diferențial în cazul manifestărilor extrahepatice la copiii cu markeri ai VHB este dificil și necesită examinare complexă multilaterală [58]. Pe de altă parte, caracterul evoluției maladiei și consecințele ei sunt determinate în mare măsură de sistemul HLA, clasa I. ADN VHB poate persista în hepatocite toată viața [13, 64, 69].

1.2. Particularitățile etiologice, epidemiologice, gradul de răspândire, mecanismele patogenetice ale HVCC la copii

Etiologie. VHC este un hepacivirus ARN viral monocatenar, ce aparține familiei *Flaviviridae*, de formă sferică, cu diametrul de 40-60 nm și înveliș lipidic (Figura 1.5). VHC a fost clonat în 1988 de către o echipă de cercetători în frunte cu Houghton M. și Choo din plasma cimpanzeilor infectați [13, 14]. Genomul VHC este reprezentat de un lanț ARN-pozitiv, cu lungimea ARN VHC de 9,4 Kb și cuprinde o regiune de 5-noncodantă (NCR), o singură structură deschisă de citire (ORF) de aproximativ 9000 de nucleotide și o extremitate opusă terminal 3-NTR. Extremitatea 5-noncodantă și cele 324 de baze nucleotidice ale ei intervin în replicarea VHC și mecanismele imunopatogenetice ale infecției cu VHC [6, 10, 12, 28, 44]. Extremitatea opusă terminal 3 este scurtă și conține proteine nonstructurale (NS1, NS2, NS3, NS4A, NSAB, NS5A, NS5B) și genele corespunzătoare, codate pentru ARN-polimeraza și ARN-dependentă [5, 13, 19, 20].

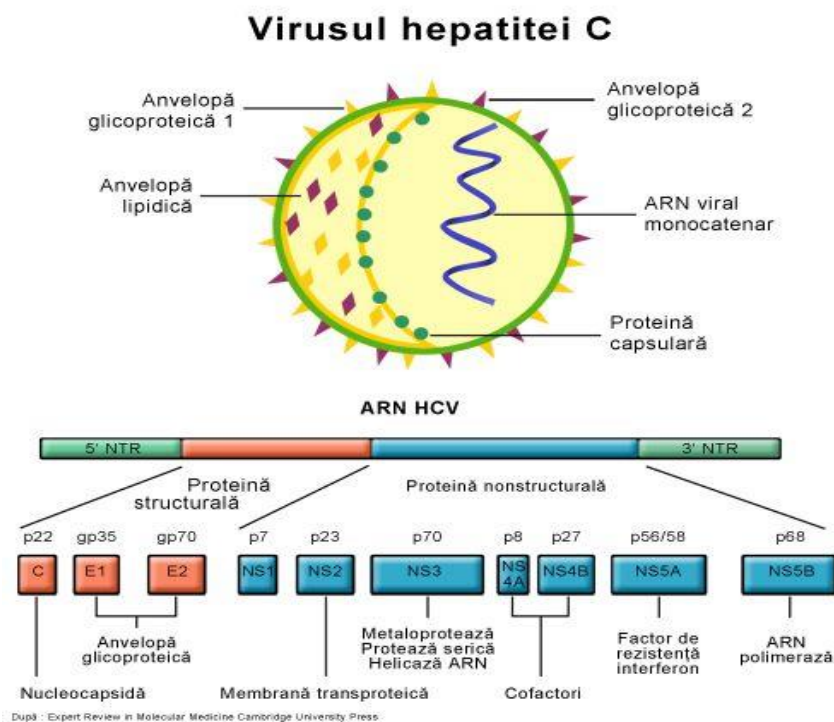


Fig. 1.5. Structura genomului VHC (sursa: prof. Calistru Petre, www.cdt.babes.ro)

În procesul de replicare VHC nu necesită încadrare în genomul gazdei. După pătrunderea în organism a VHC, prin intermediul proteinelor structurale E2, el se unește pe suprafața hepatocitului cu CD81, iar după penetrare în hepatocit și apoi în nucleu, are loc realizarea procesului de replicare cu ajutorul ARN-polimerazei ADN-dependente.

Deficitul de ARN-polimerază duce la heterogenitatea VHC. Sunt cunoscute două mecanisme de afectare a hepatocitelor de către VHC: *citotoxic*, cu afectarea directă a hepatocitului, direct proporțională cu nivelul viremiei; *imun*, cu lezarea hepatocitelor de către

anticorpilor formați prin intermediul imunității celulare (limfocite T CD4+ și CD8+) și a fenomenelor secundare (autoimunitate determinată de VHC), după care urmează multiplicarea în citoplasma hepatocitului [14, 20]. Replicarea VHC poate fi înaltă, având un rol important în menținerea și progresarea procesului infecțios viral. Anti-VHC sunt pozitivi și pot persista mulți ani [13, 19].

Epidemiologia infecției cu VHC. Analiza actuală a prevalenței globale a infecției cu VHC constată 110 milioane de persoane infectate cu VHC (care au anticorpi pozitivi anti-HCV) și 80 milioane care prezintă infecția cronică activă cu viremie [13, 19]. În țările înalt industrializate ponderea infecției cronice cu VHC este estimată la 40% din populația țării și diferă independent de regiunea geografică [20]. Grație tehnologiilor diagnostice avansate din ultimii ani, producerii testelor diagnostice înalt sensibile de depistare a anti-HCV și datorită metodelor de amplificare genomică pentru depistarea ARN VHC, cercetările științifice în prezent sunt axate pe studierea epidemiologiei, patogenezei, istoriei naturale și a modalității de transmitere a VHC [13, 39]. S-a observat că infecția cu VHC are particularități de transmitere similare altor infecții hematogene, inclusiv celor cu VHB sau VHG, și un risc major de infectare perinatală (vertical) a copiilor nou-născuți de mamele lor infectate cu VHC. Această situație a generat multiple întrebări și impune o abordare conceptuală de principiu [39].

Distribuția geografică a infecției cu VHC la populația generală (Figura 1.6) variază de la țară la țară: regiuni cu prevalență sporită >3,5% (Asia Centrală și de Est, Africa de Nord, Orientul Mijlociu; cu prevalență moderată 1,5-3,5% (Asia de Sud și de Sud-Est, Africa Sub-Sahariană, America Latină, insulele Caraibe, Oceania, Australia și Europa Centrală, de Est și de Vest; cu prevalență scăzută <1,5% (țările din regiunea Asia-Pacific, America Latină și America de Nord [75].

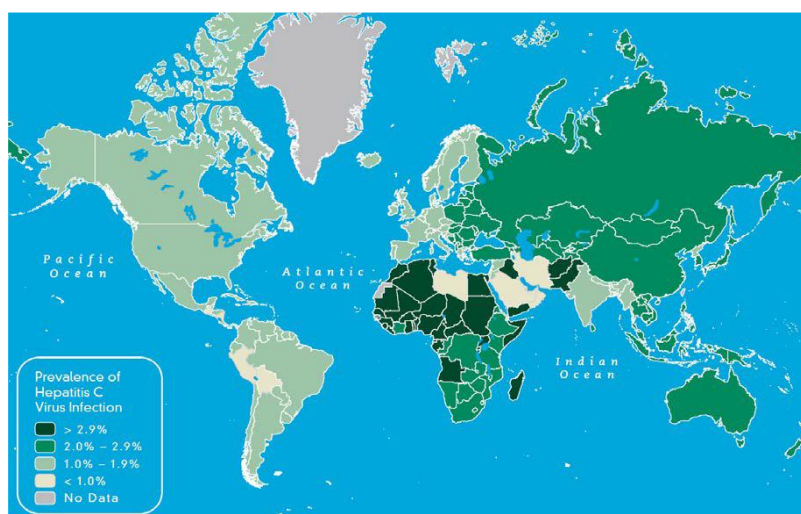


Fig. 1.6. Distribuția geografică a infecției cu VHC [81]

(www.who.int/mediacentre); <http://wwwnc.cdc.gov>)

Estimările efectuate în Africa demonstrează o prevalență de 2,98% a infecției cu VHC, aceasta fiind predominantă în Africa de Vest și de Sud-Est [77]. Cu toate că în ultimii ani incidența globală prin infecția cu VHC este în declin, persoanele infectate cu 30-60 de ani în urmă actualmente sunt decedate de ciroză hepatică și cancer asociat VHC [94]. Conform estimărilor globale, numărul de decese cauzate de hepatita virală C a crescut considerabil de la 499 000 (în 2010) până la 704 000 (în 2013) de cazuri [80, 81, 83], indicele fiind în creștere, cu excepția persoanelor supuse tratamentului [82].

Au fost evidențiate 4 căi principale de transmitere a infecției cu VHC în populația generală: *infecțare nosocomială* (în timpul procedurilor medicale invazive prin intermediul instrumentarului sterilizat necalitativ, contaminare în urma transfuziilor de sânge sau a derivatelor lui netestate, în timpul procedurilor de dializă sau transplant de țesuturi și organe); *ca rezultat al folosirii drogurilor injectabile și al schimbului de seringi nesterilizate; transmiterea materno-fetală (perinatal) și sexuală* [97]. Infectarea nosocomială cu VHC se poate produce frecvent, cu o pondere estimată de 10-30% din cazuri, la persoanele hemodializate [11, 42, 44, 49].

Calea principală de infectare cu VHC a copiilor este considerată cea materno-fetală, cu risc perinatal de 4-8% [119, 127, 132]. Transmiterea orizontală, intrafamiliară, a VHC nu a fost deocamdată demonstrată, cu toate că există raportări de cazuri de infectare în urma contactului intrafamiliar cu persoanele infectate cronic cu VHC [78, 114, 117]. În cazul existenței concomitente a infecției VHC și HIV la femeia gravidă, riscul infectării cu VHC pentru nou-născut este de 10-25% [150, 167]. Există și alte căi de infectare cu VHC așa ca procedurile cosmetologice (parsing, tatuaj etc.) efectuate cu instrumentar medical și nemedical nesterilizat, utilizarea de droguri intranazale, scarificările sau circumciziile [197].

VHC este heterogen, cu o diversitate genică considerabilă care variază substanțial în diferite părți ale lumii [13]. Secvențierea regiunii NS5 permite diferențierea VHC în genotipuri, peste 50 de subtipuri filogenice și peste 100 de cvasispecii, aceasta creând dificultăți de elaborare a vaccinurilor anti-HCV și de producere a remediilor antivirale efective. Actualmente sunt cunoscute 11 genotipuri și subtipuri VHC: 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c, 3a, 3b, 4 (a, b, c, d, e), 5a, 6a, 7a, 7b, 8a, 8b, 9a, 10a, 11a. Genotipul 1 VHC este asociat cu o formă mai severă de hepatită și, în particular 1b, nu este receptiv la tratamentul antiviral, spre deosebire de genotipurile 2 și 3 [13, 172]. VHC are un potențial sporit de multiplicare, zilnic fiind reproduse 4×10^{10} - 1×10^{13} copii ale virusului, cu o perioadă de înjumătățire de 2-3 ore, astfel fiind reînnoită întreaga populație virală. Variabilitatea genomică a VHC este o particularitate a virusului, care îi permite să ocolească recunoașterea de către sistemul imun al organismului-gazdă, astfel determinând persistența îndelungată și evoluția cronică a bolii [13, 172].

Distribuția geografică a VHC este neuniformă (Figura 1.7), deosebindu-se următoarele zone:

a) de *endemie redusă* (<2%): Marea Britanie, țările scandinave, SUA, Europa de Vest, Australia, Canada, Republica Sud Africană; b) *endemie medie* (2-5%): Europa de Est, Bazinul Mării Mediterane, Brazilia, Orientul Mijlociu, India, China; c) *endemie înaltă* (> 5%): Livia, Egipt.

Distribuția geografică după genotipuri este următoarea: Europa de Vest, SUA - 1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c, 3a; Europa de Sud și de Est (inclusiv R. Moldova) – 1b; Japonia, Taiwan – 1b, 2, 2b; Tailanda, Singapore, India de Est, Asia de Sud, Nepal, Bangladesh – 3a 3b; Egipt, Orientul Mijlociu, Africa Centrală – 4; Africa de Sud – 5a; Hohg-Kong, Africa de Sud, Vietnam – 6a; Tailanda - 7a, 7b; Vietnam – 9a; Indonezia – 10a, 11a [1, 13, 14, 188].

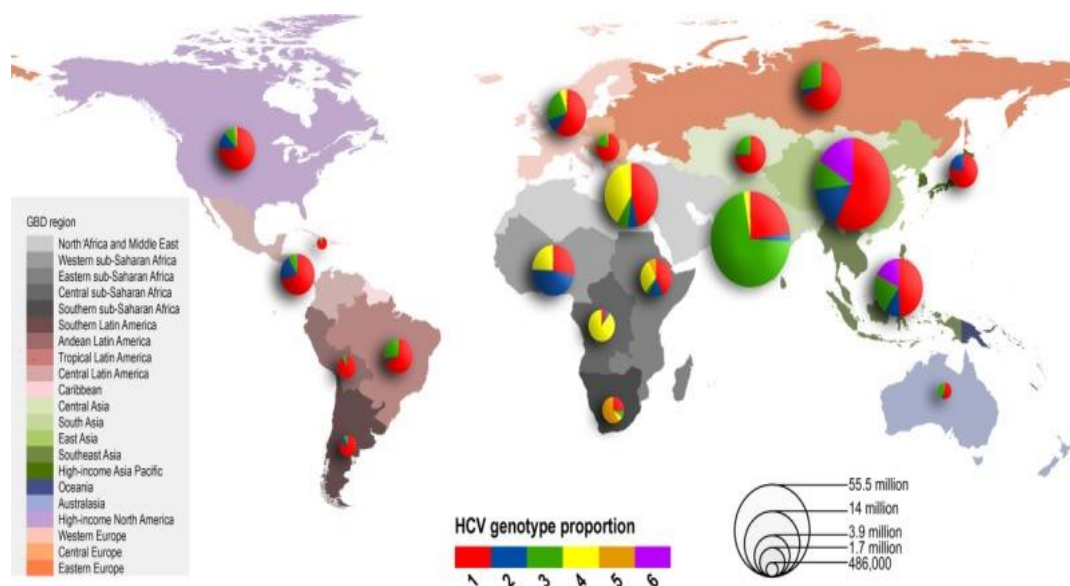


Fig. 1.7. Distribuția geografică a genotipului VHC

Source: Messina J.P, Humphreys I, Flaxman A, Brown A, Cooke GS, Pybus OG et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2015;77-87

Subtipurile 1a, 1b, 2a, 3a sunt considerate “endemice”, cu o distribuție globală și sunt responsabile de majoritatea cazurilor infecției cu VHC realizată prin transfuzii sangvine (1a, 2a) și administrare de droguri intravenoase (1a, 3a). Distribuția geografică globală a genotipurilor VHC este foarte variată: genotip 1 – 46,2-72%, 2 – 30,1%, 2,4,6 – 22,8%, genotipul 5 – sub 1%. Genotipul 1 și 3 sunt frecvent răspândite în majoritatea țărilor indiferent de statutul economic, iar genotipul 4 și 5 – în țările cu nivel economic scăzut. HVCC cu genotipurile 1 și 4 au un răspuns slab la terapia cu interferon. Conform datelor Centrului de Control și Prevenire a Bolilor din SUA anual sunt estimate 25 000-30 000 de cazuri noi de infecție cu VHC, dintre care 60% - la utilizatorii de droguri intravenoase [13, 27, 64].

Transmiterea VHC în cadrul colectivităților închise de copii poate avea loc fie prin intermediul expunerii fluidelor biologice contaminate de la persoanele infectate, fie prin contact

inaparent. Infectarea nosocomială cu VHC poate fi realizată frecvent, cu o pondere estimată de 10-30% din cazuri, la persoanele hemodializate [42, 44, 49].

Riscul transmiterii perinatale a VHC variază de la țară la țară, fiind raportat în jur de 5% din cazuri la copiii nou-născuți de mame cu ARN VHC pozitiv [131, 134]. Infecția acută cu VHC este definită ca prezența procesului inflamator hepatic cu markeri ai infecției cu VHC, apărut în termen de șase luni de la expunere, caracterizat prin apariția ARN HCV, a antigenului central HCV (p22 Ag) și ulterior a anti-VHC, care nu pot fi asociați cu clearance-ul viral. Anti-HCV IgG sintetizați în cadrul infecției acute cu VHC persistă pe tot parcursul vieții.

Infecția acută cu VHC este de obicei asimptomatică și foarte rar dezvoltă forme severe de maladie cu risc vital, evoluând frecvent ca primar cronică. Clearance-ul spontan al infecției acute cu VHC fără tratament antiviral are o rată de 15-45% și poate fi instalat timp de șase luni de la infectare [127, 130]. Cronicizarea infecției cu VHC a fost demonstrată în 55% din cazuri, dintre care 15-30% timp de 20 de ani pot dezvolta ciroza hepatică, insuficiența hepatică, iar 2-4% pe an au riscul malignizării [131, 133, 134]. Clearance-ul spontan sau cel obținut în urma tratamentului antiviral nu oferă o protecție imună de durată. Confirmarea diagnosticului de hepatită virală C în prezent constă în efectuarea screeningului inițial prin aprecierea anticorpilor de fază acută sau cronică către VHC (infecție în trecut sau curentă), cu utilizarea testelor serologice înalt sensibile de confirmare. Determinarea ARN HCV (cantitativ sau calitativ) este necesară pentru a constata prezența viremiei și diferențierea cu forma cronică de maladie [127, 128]. În cazul infecției acute cu VHC, în primele 1-2 săptămâni de la infectare poate exista așa-numita “fereastră serologică”, când în ser nu pot încă fi decelați markerii serologici ai VHC de clasă IgM caracteristici fazei acute, dar poate fi detectat ARN VHC, și mai apoi la doar o parte din pacienți poate fi determinat HCVcorAg (miezul) și p22Ag. Anticorpii anti-VHC IgM și IgG vor fi detectabili mai târziu, în a 6-10-a săptămână de la infectare [13, 166]. Existența “ferestrei serologice” are însemnătate clinică, deoarece în lipsa anticorpilor anti-VHC nu fiecare pacient este testat la ARN VHC din motivele costurilor înalte, iar acesta fiind contagios, contribuie la răspândirea lanțului epidemiologic. Actualmente tot mai frecvent sunt raportate cazuri de infecție “ocultă” virală C, caracterizată prin ARN VHC pozitiv și anticorpi anti-VHC negativi [77, 80, 176, 179].

În ultimii ani au fost raportate date noi privind identificarea mai multor haplotipuri SNPs a VHC, localizate în vecinătatea genei IL28B, asociată cu răspunsul antiviral și care sunt bialelice, cu trei genotipuri posibile: două homozigote C/C și T/T și unul heterozigot C/T. Polimorfismul nucleotidic rs12979860 este localizat pe brațul lung al cromozomului 19 (19q13) la 3 kb în apropiere de gena IL28B care codifică interferonul lambda 3 și prezintă o alelă majoră favorabilă C și o alelă nefavorabilă T [172, 173]. Pacientul infectat cronic și purtător al genotipului C/C și

supus tratamentului antiviral are o rată de 55-80% la un răspuns virusologic susținut, comparativ cu cei cu genotipurile T/T sau C/T (20-40%), [172, 173].

Al doilea polimorfism rs8099917, asociat cu răspunsul virusologic susținut conține alela favorabilă T și nefavorabilă G, cu trei genotipuri posibile: homozigote T/T, G/G și heterozigot G/T [173]. Modul în care haplotipurile IL28B își exercită acțiunea antivirală rămâne puțin studiat. Se presupune că există o corelație între genotipurile favorabile (C/T, T/T, G/T, T/T) și starea preterapeutică ISG (interferon stimulated genes). Purtătorii genotipului homozigot IL28B C/C în infecția cu VHC au o rată mai mare la epurare spontană [172, 194]. Deoarece la copii lipsesc studii privind semnificația polimorfismului IL28B în HVCC, iar la adulți acesta a fost analizat doar la pacienții cu genotip 1, acest indice de sine stătător nu poate fi utilizat ca factor predictiv al răspunsului antiviral [188, 197]. În România, la populația generală prevalența infecției cu VHC este de 4,5%, cu predominarea în 99,7% a genotipului 1 VHC [2, 12, 96]. În Federația Rusă, în cazul prezenței infecției cronice cu VHC și al viremiei înalte la femeia gravidă, riscul infectării cu VHC a nou-născutului în travaliu este de 5,7%-33% [64, 67]. În Republica Moldova, până în prezent, la copiii cu HVCC, nu au fost efectuate studii privind rata de infectare cu VHC pe cale perinatală și nu este cunoscută structura genotipică a infecției cronice cu VHC, acestea fiind realizate în cercetarea de față.

Infectarea cu VHC a copiilor se poate produce și pe cale *parenterală*, ca rezultat al multiplelor transfuzii de sânge/produse sangvine contaminate cu VHC, în urma reutilizării seringilor și a acelor nesterilizate (injecții i/m, i/v), inclusiv la utilizatorii de droguri intravenoase, a manoperelor stomatologice, intervențiilor chirurgicale sau endoscopice cu instrumente medicale nesterilizate calitativ; perinatal, *vertical* (în timpul travaliului, de la mama cu viremie VHC la făt, sau în primele 6 luni după naștere); *habitual*, pe cale orizontală (prin contact intrafamiliar cu persoane infectate) prin utilizarea obiectelor de uz comun (periuțe de dinți, foarfece); prin *micro-leziuni muco-cutanate nemedicale* (parsing, tatuaj, schimb de cercei, instrumente ascuțite de manichiură etc.); prin *raporturi sexuale* (la adolescenți și copii mai mari). De asemenea infectarea cu VHC a copiilor poate să apară ca urmare a transplantului de organe și țesuturi, de la donatori infectați, precum și în timpul expunerii profesionale la sânge sau alte fluide biologice infectate [11, 14, 29, 33].

Transmiterea prenatală, transplacentar, a VHC de la mama infectată la făt este posibilă în cazuri rare: la momentul actual nu se cunoaște exact care este modalitatea de infectare și ponderea ei [11, 14, 29, 39]. Conform constatărilor recente, infectarea cu VHC a nou-născuților în perioada de travaliu, în timpul nașterii, este răspunzătoare de majoritatea cazurilor de HVCC la sugari [95,

96]. Transmiterea perinatală, vertical, a VHC nou-născuților are un risc sporit de 3-10%, iar infectarea copilului sugar de către mama lui infectată cronic cu VHC în timpul alăptării la sân este mai puțin posibilă [64, 67]. În cazul existenței comorbidității HVCC cu HIV la femeia gravidă, riscul infectării cu VHC a nou-născutului crește până la 20%, el corelând direct cu expresia viremiei VHC la mamă [39, 67]. Virusul hepatic C nu poate fi transmis atunci când mamele au niveluri scăzute de ARN VHC < 100 000 copii/ml, infectarea fiind posibilă în cazul viremiei de peste 1 000 000 copii/ml. Până în prezent nu există măsuri profilactice care să prevină transmiterea VHC de la mamă la făt [29, 44]. Nașterea prin cezariană nu diminuează riscul de transmitere a VHC nou-născutului, aceasta fiind posibilă în doar 5% de cazuri [42, 49]. Toți copiii născuți de mame infectate cu VHC necesită a fi testați la anti-HCV totali, însă este de remarcat că prezența anticorpilor în sângele copilului nu implică neapărat infecția cu virusul hepatic C la el. Anticorpii anti-HCV totali pot fi transmiși fătului transplacentar (intrauterin) de la femeia gravidă infectată cronic cu VHC, fiind considerați maternali, sau postnatal, în timpul alăptării copilului. Urmează a se stabili dacă aceștia au fost sintetizați de sistemul imun propriu al copilului [42, 52, 55].

Actualmente, nu există studii care să demonstreze cu certitudine că VHC poate fi transmis nou-născutului prin laptele matern [42, 52, 55]. Cu toate acestea, în timpul alăptării copilului la sân și în cazul prezenței infecției cronice cu VHC la mamă, se recomandă o precauție, mai ales dacă mama are leziuni mamelare [71, 72]. Siguranța alăptării copiilor sugari de către mamele bolnave de hepatită virală C și, în special, cu ARN VHC pozitiv, este în stadiul de cercetare [74].

Datele privind căile predominante de transmitere a VHC copiilor sunt controversate și variază în diferite regiuni geografice: în 10 % (SUA) și 30% (Franța) calea infectării cu VHC este necunoscută, pe când în alte studii – această cale constituie numai 1% [86, 87, 88,]. Infecția cu VHC la copii în 70% cazuri evoluează ca primar cronică, deseori subclinic și numai 10% din pacienți prezintă forma activă de HVCC [88]. Rata evoluției spre ciroză a HVCC la copii în plan global rămâne a fi subestimată, fiind raportată ca posibilă în doar 3-5% cazuri [87]. Studii sociologice estimează că sărăcia, comportamentele sexuale timpurii cu risc crescut la adolescenți, nivelul scăzut de educație al copiilor sub vârsta de 12 ani sunt asociate cu expunerea sporită către infectarea cu VHC [93, 96, 109].

Imunopatogeneza și evoluția hepatitei virale C cronice la copii. Leziunile hepatice în infecția cronică cu VHC se caracterizează prin acțiunea citopatică directă și indirectă pe hepatocit mediată imunologic [45, 46, 47]. Existența afectării extrahepatice de către VHC a fost demonstrată experimental cu decelarea lui în celulele mononucleare și dendritice. Mecanismul de intrare a

VHC în celule este insuficient studiat și presupune câteva etape: penetrarea, replicarea, asamblarea VHC cu eliberarea virionilor noi (Figura 1.8; A, B).

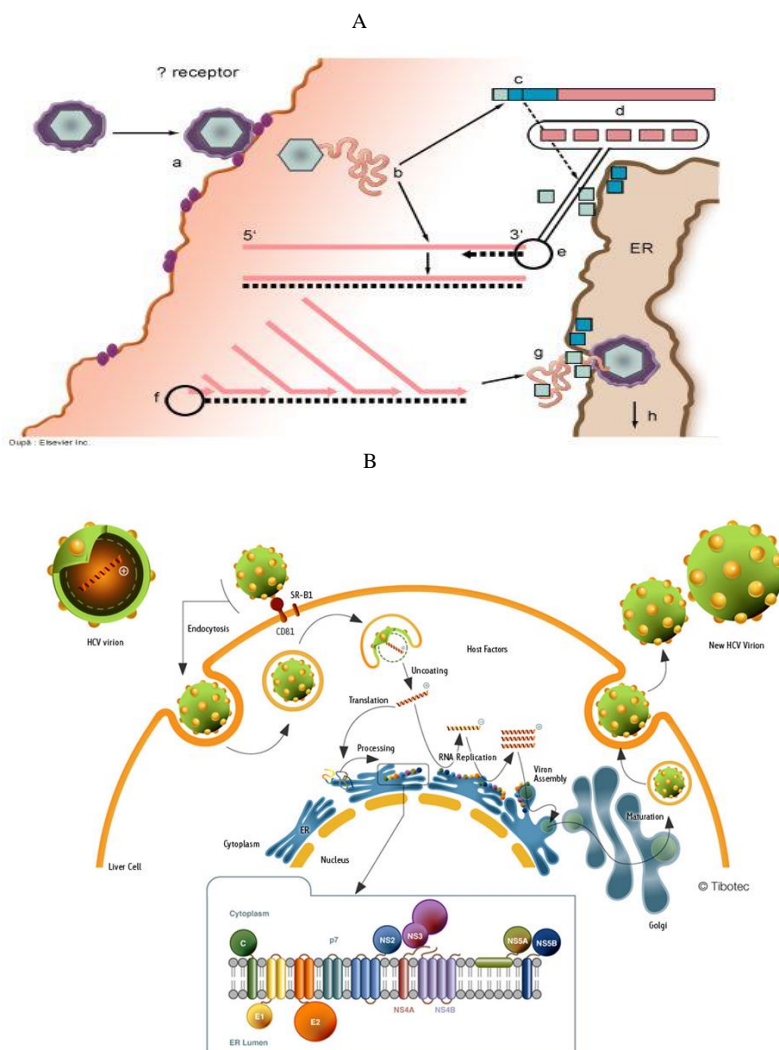


Fig. 1.8. Ciclul de multiplicare al VHC

(sursa: A–dupa prof. Calistru Petre, www.cdt.babes.ro; B- <http://epidemiologiamolecular.com/virus-hepatitis-vhc>)

După pătrunderea în organism, VHC migrează spre hepatocite, interacționând cu receptorii de pe suprafața acestuia și, prin endocitoză, pătrunde în citoplasma celulei hepatice, unde este inițiat ciclul de reproducere (Figura 1.8): a) aderența și penetrarea virionului în hepatocit prin endocitoză, b) dezasamblarea și eliberarea ARN-ului viral în citoplasmă și posibilă fuziune secundară a anvelopei virale la membrana endosomală, c) translația directă și pătrunderea în ribozom, d) sinteza proteinelor structurale și nestructurale virale, e) asamblarea complexului replicativ și terminal al ARN-ului VHC, f) sinteza copiilor pozitive ale ARN-ului viral, g) asamblarea particulei virale în reticulul endoplasmatic (ER) și în complexul Golgi, h) eliberarea virusului nou-sintetizat din hepatocit [13, 64].

Multiplicarea VHC în cazul cronicizării este posibilă și în celulele mononucleare de origine limfatică și în măduva hematogenă, cu puterea de replicare virală de aproximativ 1×10^{12} virioni/zi [13, 17]. Nivelul extrem de ridicat al turnoverului viral, corelat cu absența unui sistem de corectare a activității ARN-polimerazei, duce la acumularea rapidă a mutațiilor virale [13, 17]. Astfel se explică de ce pot fi identificate multiple variante virale ale VHC (cvasispecii virale) în același timp din plasmă și din ficatul indivizilor infectați cu VHC [13, 17]. Până la 85 % dintre persoanele infectate cu VHC au în sângele periferic o singură variantă genetică de virus. Pe de altă parte, răspunsul imun apare ca un important factor selectiv al cvasispeciilor virale, care prin regiunea hipervariabilă HVR-1, realizează mutații importante [50].

Imunopatogeneza hepatitei virale C cronice poate fi explicată prin proprietățile VHC de a persista timp îndelungat în organism, ocolind controlul imunologic, prin prezența factorilor genetici ai gazdei (HLA I), variabilitatea genomică a virusului, acțiunea citopatică directă și indirectă mediată imunologic, cu determinarea unui răspuns limfocitar T insuficient (Figura 1.9), sinteză tardivă și în titre mici ale anti-HCV, capacitate de reproducere intensă cu replicare virală joasă și evoluție frecvent primar cronică [47, 50, 51, 53].

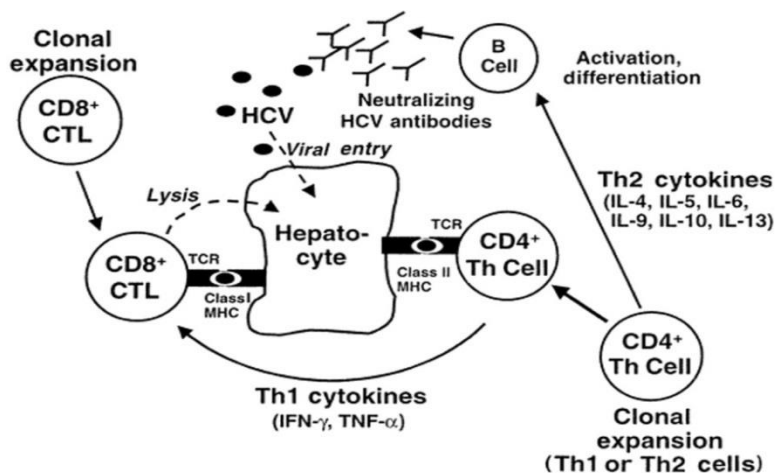


Fig. 1.9. Imunopatogeneza hepatitei virale C cronice [81]

Rezistența înaltă a VHC este demonstrată de capacitatea virusului de a se replica în forme mutante - cvasiforme heterogene, astfel fiind evitat controlul imunologic, fără integrare în genomul gazdei. Se presupune că genotipul 1b al VHC este asociat cu formele mai severe de hepatită, iar genotipul 3a – cu steatoza hepatică [75]. Apariția steatozei hepatice în cadrul HVCC este dependentă de indicele ponderal al pacientului, existența comorbidităților, de genotipul VHC și gradul de viremie. S-a demonstrat că proteina core și NS5A interferează cu preluarea celulară și transportul trigliceridelor, asamblarea și secreția lipoproteinelor [78]. Reacțiile oxidative și, în special, peroxidarea lipidică activează celulele hepatice stelate, care sunt transformate în miofibroblaste, astfel fiind favorizată sinteza de matrice extracelulară și fibroză [53, 55].

Concomitent din celulele Kupffer sunt eliberate citokinele profibrogenice RGF- β . Stresul oxidativ are efectul citopatic direct și reduce activitatea antioxidantă prin diminuarea nivelului glutationului, seleniului, vitaminelor A, E, C [45]. Totodată, s-a demonstrat că în HVCC are loc acumularea intrahepatică a Fe în surplus, creșterea radicalilor lipidici liberi și de hidroxil care distrug fosfolipidele membranei hepatocitelor, proteinele și acizii nucleici. Studii complexe au demonstrat asocierea frecventă a hepatitei autoimune cu infecția cu VHC, VHC și VHG [48, 49, 54].

Istoria naturală a infecției cu VHC. Infecția acută cu VHC evoluează în majoritatea cazurilor asimptomatic [11, 13, 48]. Aspectul de hepatită acută fulminantă este rar întâlnit la copii [64, 67]. Boala poate îmbrăca o formă acută severă atunci când infecția se greșează pe fondul unei hepatopatii cronice necunoscute, când se produce o coinfecție VHB-VHC sau la recipientii de transplant hepatic [60, 64]. Evoluția este marcată de ponderea mare a cronicizării până la 70-80% și dezvoltarea în timp a cirozei hepatice după un interval mediu de 30 de ani de evoluție [56, 64]. Factorii de prognostic negativ în HVCC sunt: genotipul 1b, nivelul ridicat al ARN VHC, gradul diversității genetice a VHC, infectarea cu VHC în urma transfuziilor de sânge contaminat, prezența la copii a imunodeficienței primare, asocierea cu VHB sau HIV și consumul abuziv de medicamente hepatotoxice [14, 53, 56].

1.3. Manifestările clinice, anatomopatologice și diagnosticul HVBC și HVCC la copii

Manifestările clinice și paraclinice ale HVBC la copii sunt multisindromale și nespecifice, fiind exprimate prin următoarele sindroame clinice [11, 13, 16, 64]: *asteno-vegetativ* (astenie, insomnie, fatigabilitate, iritabilitate) – cel mai frecvent întâlnit la copii; *dispeptic* (inapetență, intoleranță alimentară, grețuri, diaree); *algic* în hipocondrul drept (pre-, postprandial, la efort fizic); *de colestază* (icter, prurit, xantome, xantelasme, urine brune); *hepato- sau/și splenomegalie, hemoragic* (epistaxis, echimoze cutanate și în mucoase, tulburări ale ciclului menstrual la adolescente); *manifestări extrahepatice* (subfebrilitate, tiroidită, poliserozită, limfadenopatie, glomerulonefrită difuză, anemie, steluțe vasculare, vasculită, crioglobulinemie, eritem palmar, ginecomastie, retard fizic secundar, artralгии reactive, manifestări cutanate).

Caracteristicile biologice ale funcționalității ficatului prin care se manifestă HVBC la copii sunt exprimate de următoarele sindroame biologice clasice: *citolic* (majorarea ALT, AST, LDH4 și LDH5, Fe seric, a sorbitoldehidrogenazei); *colestatic* (majorarea Bi totale din contul fracției directe, FA, 5-nucleotidazei, gamaGT, colesterolului, acizilor biliari, beta-lipoproteidelor, trigliceridelor, fosfolipidelor); *imuno-inflamator*: prezența leucocitozei, limfocitozei, creșterea nesegmentatelor și a VSH, acizi sialici pozitivi; majorarea gamaglobulinelor și a probei cu timol, haptoglobinei, lizocimului, complementului C3, imunoglobulinelor serice IgA, IgM, IgG; prezența autoanticorpilor antihepatociți antiLKM, antiANA, antiSLM, antiLC; de *insuficiență hepatocelulară (hepatopriv)*: hipoproteinemie, hipoalbuminemie, diminuarea factorilor de coagulare – indicelui de protrombină (IP), a fibrinogenului; creșterea timpului trombinic, diminuarea ceruloplasminei serice; *dishormonal*: toleranță la glucoză, creșterea nivelului seric al peptidei C, a hormonului corticotrop ACTH, hormonilor tiroidieni TSH, T3, T4, a cortizolului; de *șuntare porto-cavă*: hiperamoniemie, sporire serică a aminoacizilor triptofan, tirozină, metionină, fenilalanină [11, 13, 16, 64].

Doar 1% din copiii sugari infectați perinatal cu VHB prezintă semne clinice manifeste caracteristice hepatitei virale B, majoritatea pacienților fiind subclinici sau asimptomatici [11, 13, 16, 64]. O cotă de 5-15% dintre copiii cu vârsta între 1-5 ani și 30-50% dintre cei mai mari de 5 ani infectați cronic cu VHB prezintă simptome clinice caracteristice HVBC [11, 16, 64]. Evoluția puțin simptomatică a infecției cronice cu VHB la copii poate fi explicată prin imperfecțiunea sistemului imun, începând de la naștere și până la vârsta de 6-10 ani odată cu maturizarea acestuia. Astfel, în caz de infectare cu VHB a nou-născuților sau a copiilor de vârstă fragedă, există condiții de realizare tardivă a fazei I (de imunotoleranță) și a celei de faza II (clearance-ul viral). Răspunsul imun viral la copiii infectați cu VHB la o vârstă mai mare intră direct în această fază de clearance imun, cu determinarea diminuării ADN VHB și liza celulelor hepatice [11, 64, 69].

Fiecare fază a procesului hepatic viral B cronic poate dura de la câțiva ani până la zeci de ani, având o evoluție benignă sau una progresivă, uneori spre ciroză hepatică activă sau neactivă, sau hepatocarcinom [64]. Nu fiecare pacient cu HVBC prezintă permanent ALT și AST majorate. În cazul tranziției procesului viral din faza imunotoleranței în faza de purtător neactiv al VHB pacienții pot prezenta ALT și AST în limita valorilor normale, atunci când doar un anumit număr de pacienți cu AgHBe pozitiv pot avea valori fluctuante. Prin acest exemplu supravegherea “follow-up” a pacienților cu HVBC pe termen lung este crucială [36]. Evaluarea severității HVBC include determinarea gradului de activitate necroinflamatorie hepatică, iar stadializarea procesului cronic viral hepatic – depinde de fibroza hepatică constatată prin biopsie hepatică sau elastografie (gradul de dovadă și de recomandare A1, EASL) sau prin FibroTest.

Studiile clinice au demonstrat că nu toți pacienții cu infecția cronică cu VHB prezintă hepatită virală B cronică [88, 93]. Conform nomenclatorului actualizat recent de către EASL, 2016, se va face distincția dintre noțiunile de infecție cronică cu VHB și hepatită virală B cronică [88, 93]. La copii, maladia virală cronică cu VHB poate evolua frecvent în formă asimptomatică, subclinic, cu semne clinice exprimate, în 5 faze clinice sau în formă fulminantă [88, 93, 95]. Evoluția progresivă a fazelor clinice ale procesului viral B cronic este dependentă de vârsta pacientului. După cum s-a observat, copiii și adulții tineri infectați cronic cu VHB au „toleranță imună” – un profil imunitar mai puțin compromis decât cel observat la adulți [95]. Recent, prin studii imunogenetice, a fost identificată gena INTS10 la 8p21.3 și locusul care contribuie la persistența infecției cu VHB, demonstrată pe subiecți chinezi [86].

Cele 5 faze clinice ale infecției cronice cu VHB includ prezența AgHBe sau lipsa acestuia, nivelul viremiei VHB, valorile ALT și gradul de activitate necroinflamatorie hepatică: faza I – infecția cronică cu AgHBe pozitiv, faza II – hepatita cronică cu AgHBe pozitiv, III – infecția cronică cu AgHBe negativ, IV – infecția cronică cu AgHBe negativ, V – infecția cronică cu AgHBs negativ [86, 95]. Toți pacienții cu infecția cronică cu VHB au un risc crescut de progresare spre ciroză și carcinom hepatocelular, dependent de particularitățile individuale ale gazdei și ale VHB [86, 95, 96]. Noul nomenclator se bazează pe descrierea celor două caracteristici principale ale etapei cronice a maladiei: infecție cronică versus hepatită cronică [95]. Cu toate acestea, o singură determinare a markerilor de replicare a VHB și de activitate a bolii nu permit clasificarea imediată a uneia din aceste faze [86, 95, 96]. Pacienții la care au fost primar depistați markerii VHB necesită o monitorizare în timp și determinarea AgHBe, ADN VHB, ALT după un management individual pentru precizarea diagnosticului și a tacticii de tratament [84, 86].

Faza I – infecție cronică cu AgHBe pozitiv (anterior – faza de imunotoleranță). Este de obicei constatată la pacienții tineri infectați în copilărie și durează până la vârsta de 20-30 de ani.

Se caracterizează prin lipsa reacției imune a organismului la VHB și prezența în ser a AgHBe, cu ALT și AST în limita normei, absența activității necroinflamatorii, cu fibroză hepatică minimală, dar cu ADN VHB foarte înalt $> 10^7$ ui/ml [86]. În această fază poate avea loc încadrarea ADN VHB în genomul uman și inițierea procesului de cancerogeneză [86, 123, 138, 157]. Rata seroconversiei spontane AgHBe/antiHBe este foarte mică, pacienții fiind foarte contagioși. Cercetările experimentale demonstrează că în hepatita virală acută B procesul de replicare nu începe odată cu pătrunderea VHB în organism. Creșterea bruscă a ADN VHB și a cantității hepatocitelor infectate a fost constatată la 4-7 săptămâni din momentul infectării cu VHB [86, 123, 138]. Activarea sistemului de citochine proinflamatorii (γ INF, TNF- α , IL-2) și creșterea intrahepatică a subpopulațiilor limfocitelor T și B are loc pe fundalul creșterii replicării VHB [51, 69]. Aceasta este contrar cineticii replicării VHC, care se produce imediat după infectare, cauzele acestor procese rămânând puțin cunoscute [173, 180, 181].

Se presupune că inițial, după infectare, VHB afectează o cantitate mică de hepatocite ceea ce face limitarea progresării infecției, iar conform altei ipoteze, VHB nu ajunge direct în ficat, ci în măduva osoasă și în alte organe, fapt ce corespunde perioadei de 4-7 săptămâni de aviremie de la momentul infectării. Această ipoteză necesită însă studii profunde și argumentare științifică [51, 64, 69]. Concomitent cu cele relatate, s-a demonstrat, că în procesul de interacțiune a VHB cu sistemul imun al organismului lipsește sinteza de INF- α și INF- β [38, 46, 51]. Aceste citokine au proprietate activă antivirală față de VHB, însă în procesul evolutiv de replicare a VHB nu are loc activarea și sinteza lor [38, 46, 51]. Se poate presupune că VHB include mecanismele proprii de apărare pentru a evita recunoașterea virusului de către reacțiile imunității congenitale antivirale ale gazdei [38, 46, 51].

Faza II – de hepatită virală B cronică cu AgHBe (faza imunoreactivă), este caracterizată prin AgHBe pozitiv, ALT majorat, ADN VHB înalt $10^4 - 10^7$ ui/ml, proces hepatic necroinflamator moderat sau sever și fibroză hepatică avansată. Majoritatea pacienților pot atinge seroconversia AgHBe/antiHBe și supresia ADN VHB, trecând în faza de hepatită virală B cronică cu AgHBe negativ. Mecanismul patogenetic al acestei faze constă în lizarea mediată a hepatocitelor infectate cu VHB, și poate dura de la câțiva ani până la zeci de ani, evoluând lent spre ciroză hepatică [84, 86, 140].

Faza III – infecția cronică cu VHB cu AgHBe negativ (anterior – faza de control imunologic sau „ Purtător neactiv ”). Se caracterizează prin ALT și AST în limita normei, antiHBe pozitivi și AgHBe negativ, ADN VHB < 2000 ui/ml, activitate necroinflamatorie și fibroză hepatică

minimală. Seroconversia spontană AgHBe/antiHBe în această fază poate avea o rată de 25-50% din cazuri la pacienții adulți, iar la copii aceste date nu sunt cunoscute [11, 84, 86, 140].

Faza IV – HVBC cu AgHBe negativ. În această fază se constată valori fluctuante sau persistent crescute ale ALT și AST, AgHBe negativ și antiHBe pozitivi, valori moderat fluctuante ale ADN VHB, activitate necroinflamatorie, fibroză hepatică moderată sau severă și rată scăzută a remisiunii spontane [84, 86, 124, 125].

Faza V - faza infecției „oculte” este caracterizată cu ALT normal sau ușor majorat, AgHBs negativ sau pozitiv, antiHBcor pozitivi, antiHBs pozitivi, antiHBe negativi sau pozitivi, ADN VHB nedetectabil în ser sau <200 ui/ml și detectabil în țesutul hepatic, activitate necroinflamatorie și fibroză hepatică minimală sau severă [96]. Acești pacienți au un risc minimal de dezvoltare a cirozei hepatice și necesită supraveghere în dinamică. Imunosupresia poate induce reactivarea procesului cronic viral [86, 96, 124]. La copii, infecția cronică cu VHB evoluează în următoarele forme clinice :

1. *Infecție cronică cu VHB în fază de imunotoleranță:* AgHBs în concentrație înaltă, AgHBe pozitiv, ALT (valori normale estimate APRI sub 30 ui/l la bărbați și 19 ui/l la femei) și AST (valori normale APRI sub 40 ui/l majorate, ADN VHB $>10^7$ ui/ml, activitate necroinflamatorie și fibroză hepatică minimală;
2. *HVBC în fază imunoreactivă:* AgHBs pozitiv în concentrații înalte sau intermediare, AgHBe pozitiv, ALT și AST cu valori majorate, ADN VHB 10^4 - 10^7 ui/ml, activitate necroinflamatorie și fibroză hepatică moderată sau severă;
3. *Infecție cronică cu VHB neactivă:* cu AgHBs în concentrație joasă, AgHBe negativ, ALT și AST în limitele normei, anti-HBe pozitivi, ADN VHB <2000 ui/ml, activitate necroinflamatorie și fibroză hepatică minimală.
4. *HVBC cu AgHBe negativ:* AgHBs pozitiv în concentrații intermediare, AgHBe negativ, anti-HBe pozitivi, ALT și AST crescute și ADN VHB pozitiv cu valori < 2000 ui/ml, activitate necroinflamatorie și fibroză hepatică moderată sau severă;
5. *Infecție “ocultă” cu VHB:* AgHBs negativ, AgHBe negativ, antiHBcor sumar pozitiv sau antiHBs pozitiv, antiHBe pozitivi, ALT și AST cu valori normale, ADN VHB < 200 ui/ml sau nedetectabil în ser și detectabil în țesutul hepatic [64, 124].

Infecția “ocultă” sau latentă cu VHB la copii reprezintă o entitate importantă în plan epidemiologic, însă datele privind frecvența ei la copii sunt insuficiente [95, 106, 142]. Printre copiii cu infecție “ocultă” cu VHB, în 15% din cazuri, au fost semnalate în anamneză – prezența transfuziilor de sânge [11, 145]. Infecția “ocultă” cu VHB poate uneori evolua fără niciun marker VHB detectabil în ser și prezent în țesutul hepatic [11, 13, 106]. Printre copiii vaccinați antiHVB,

7% din cazuri prezintă în sânge niveluri scăzute de ADN VHB ca expresie a infecției “oculte” [11, 64, 140]. Sunt descrise cazuri când în infecția “ocultă” cu VHB unicul marker prezent în sângele pacienților a fost anti-HBc totali, iar anti-HBs fiind nedetectabili, sau în unele cazuri poate fi absența oricărui marker VHB și doar prezența ADN VHB în sânge sau în țesutul hepatic. La prima vedere s-ar putea presupune o evoluție benignă a procesului infecțios “ocult” cu VHB, însă datele referitoare la particularitățile acestei forme la copii sunt insuficiente [11, 64, 69].

HVBC cu AgHBe pozitiv la copiii și adolescenții infectați la naștere de mamele lor poate evolua timp de 10-30 de ani, prezentând viremie înaltă și activitate histologică minimală [11, 64, 69]. Pe parcursul evoluției bolii, nivelul viremiei poate fi fluctuant, iar ALT și AST majorate, confirmând prezența procesului necroinflamator în parenchimul hepatic [11, 64, 69]. Monitorizarea pe termen lung a copiilor și adolescenților cu HVBC în faza de imunotoleranță a atestat seroconversia AgHBe în anti-HBe în 60-95% din cazuri [135]. Cu 6-12 luni înainte de seroconversia AgHBe/anti-HBe, a fost observată creșterea ALT. Majoritatea pacienților cu HVBC și AgHBs pozitiv, AgHBe negativ (sau în care s-a produs seroconversia AgHBe în anti-HBe), cu valoare ADN VHB < 2000 ui/ml, ALT în limita normei și modificări histologice minimale sunt definiți ca purtători de AgHBs neactivi [11, 64, 69, 135].

Supravegherea acestor pacienți timp de 24-29 de ani, în 1,7-4,5% din cazuri a demonstrat prezența modificărilor histologice caracteristice cirozei hepatice [64, 135]. Deși incidența prin hepatocarcinom ca rezultat al infecției cronice cu VHB a fost semnificativ redusă în plan mondial prin programele de vaccinare anti-VHB, totuși circa 0,01-0,03% din copiii cu infecție cronică cu VHB dezvoltă malignizarea în timpul copilăriei, cu o rată de 32 de cazuri la 100 000 persoane/an [140, 161]. Este important de menționat că supravegherea pe termen lung efectuată la copiii în creștere, de sex masculin infectați cronic cu VHB, care au prezentat seroconversie AgHBe/anti-HBe, ciroza hepatică a fost determinată în 60% din cazuri, iar HCC – în 70% [140, 162]. Aceasta demonstrează evoluția severă a proceselor necroinflamatorii în HVBC cu AgHBe negativ și anti-HBe pozitivi [162]. Ponderea HCC printre copiii cu HVBC și rolul genotipului VHB în procesul de malignizare rămân necunoscute [11, 64, 123]. În puținele studii efectuate la copiii cu ciroză hepatică virală și HCC în 80% a fost demonstrată predominarea genotipului B, pe când printre adulți riscul major de malignizare îl au genotipurile C și F ale VHB [140]. Mai mult ca atât, riscul de HCC este mai mare la persoanele cu istoric familial de HCC, iar seroconversia AgHBe în antiHBe se consideră că reduce riscul malignizării, astfel că doar 0,2% dintre adulții cu AgHBe negativi și 1,6% dintre purtătorii asimptomatici de AgHBs pot dezvolta HCC [140].

Formele de HVBC cu AgHBe negativ la copii și adolescenți constituie în jur de 10%, având o evoluție progresivă și o incidență mai mare a HCC față de cei cu HVBC cu remisiune susținută, la care seroconversia AgHBe în anti-HBe a fost indusă medicamentos [13, 64, 140]. Într-o

perioadă de 20 de ani de supraveghere, din circa 7-25% din copii cu HVBC neactivă doar 0,6-1% pe an dezvoltă seroconversia spontană AgHBs în anti-HBs [140]. O astfel de rezolvare a procesului infecțios cronic cu VHB la copii are un prognostic mai favorabil pe termen lung, ce ține de riscul dezvoltării CH sau a HCC [140]. Cu toate acestea, ADN circular închis covalent (cccADN) persistă un termen îndelungat în hepatocite, replicarea VHB sau reactivarea procesului infecțios viral fiind posibilă [13, 140]. În cazul integrării genomului viral VHB în cel al gazdei, apare riscul dezvoltării HCC, chiar și după dispariția AgHBs [140]. Ca rezultat al procesului de transcripție a cccADN, odată cu majorarea vârstei copilului și a duratei maladiei cronice, nivelul AgHBs diminuează [140]. Concentrația AgHBs este mai crescută în faza de imunotoleranță, mai scăzută după realizarea seroconversiei AgHBe/anti-HBe și minimală în starea de purtător neactiv [140].

Studiile recente [182,183] au demonstrat o dependență între modalitatea contractării infecției și genotipul VHB. Astfel, VHB genotip B poate fi transmis mai frecvent pe cale perinatală, vertical, cu un risc minimal de cronicizare și forme clinice de HVBC cu AgHBe pozitiv, viremie joasă dar îndelungată, activitate histologică minimală, răspuns satisfăcător la terapia cu INF alfa 2 β , risc înalt de apariție a mutațiilor PC A1896 virale și scăzut pentru mutațiile core-promotor T1762/A1764 și preS, risc înalt de malignizare, seroconversie parțială AgHBe/anti-HBe și clearance viral timpuriu, cu seroconversie totală AgHBs/anti-HBs [140, 183].

VHB cu genotip C, similar genotipului B, poate fi transmis preponderant pe cale perinatală, vertical, însă cu un risc înalt de cronicizare, evoluție a HVBC cu AgHBe pozitiv și viremie înaltă, activitate histologică severă, răspuns scăzut la terapia cu INF alfa 2b, risc minimal de apariție a mutațiilor PC A1896 virale și înalt pentru core promotor T1762/A1764 și preS și cancerigenă, seroconversie parțială AgHBe/anti-HBe tardivă, rată minimală de clearance viral, cu seroconversie AgHBs/anti-HBs [140, 182, 183].

Pentru infecția cronică cu VHB genotip A sau D, cea mai frecventă cale de transmitere a fost constatată cea orizontală, însă cu semnificații clinice diferite [13, 64, 140]. Infecția cu VHB genotip A are un risc înalt de cronicizare și formare a HVBC cu AgHBe pozitiv și viremie înaltă, activitate histologică minimală, seroconversie timpurie și răspuns pozitiv la terapia cu IFN alfa 2b, formarea mutațiilor core-promotor T1762/A1764 și clearance viral posibil [140]. Pentru infecția cronică cu VHB genotip D sunt caracteristice tendința scăzută de cronicizare și malignizare în timp, predominarea formelor cu AgHBe pozitiv, seroconversia parțială AgHBe/anti-HBe tardivă și o rată minimală de clearance viral, cu seroconversie AgHBs/anti-HBs, răspuns insuficient la terapia cu INF alfa 2b, risc înalt pentru apariția mutațiilor PC A1896 și mic pentru core-promotor T1762/A1764 [140]. Tratamentul cu analogi nucleotidici (-zidici) nu a determinat dependență de tipul genotipului VHB [11, 13, 64, 140].

Manifestările extrahepatice în HVBC la copii. În HVBC la copii manifestările extrahepatice pot fi prezente în 10-20% din cazuri în formă de: poliarterită nodoasă, artrită reumatoidă, miozite, miopatii, dermatomiozite; semne cutanate: acrodermatită papulară infantilă (sindromul Gianotti-Crosti), eritem scarlatiniform, urticarie acută, purpură Henoch-Schonlein, vitiligo, hipermelanoze, lichen plan oral, keratoliză punctată, vasculită leucocito-clastică; vasculare, oftalmologice – uveite, cataractă, keratoconjunctivită; hematologice: anemii aplastice, purpură trombocitopenică secundară; digestive (reflux gastroesofagian, esofagită, gastrită, colecistită, litiază biliară, sindrom celiac, diaree cronică, dureri abdominale, anorexie, semne de pancreatită acută; dereglări imune: anticorpi autoimuni la cardiolipină, antifibră musculară netedă, anticorpi antinucleari, anticorpi antimitocondriali, anticorpi antimicrozomali [11, 13, 140].

În studiile sale Moraru E. (1976, Iași, România) a raportat peste 150 de cazuri de poliarterită nodoasă la băieți și fete cu HVBC cu vârsta de 9-11 ani. Semnele caracteristice poliarteritei nodoase în HVBC la copii erau asociate cu febră, rash, peteșii, purpură, scădere ponderală, mialgii, artrită, hipertensiune arterială, neurite [11]. Printre manifestările extrahepatice asociate hepatitei virale B cronice la copii poate fi semnalată afectarea pulmonară în formă de alveolită fibrozantă sau edematoasă, pneumonii recidivante cu aspect reticulo-nodular sau micronodular la radiografia toracică. Se presupune că afectarea interstițiului pulmonar rezultă consecutiv din autoagresiune prin intermediul CIC depuse în interstițiu, care interacționează cu celulele fagocitare, inducând sinteza enzimelor, proteazelor, responsabile de procesele inflamatorii [11].

Modificările morfohistologice ale HVBC la copii. HVBC la copii se caracterizează prin leziuni distrofice degenerative parenchimotoase în țesutul hepatic, cu prezența hepatocitelor balonizate, cu contur șters și nuclee mari, infiltrație inflamatorie de neutrofile, eozinofile, edem, activarea celulelor Kupffer, modificări regenerative (mitoze, diminuarea inflamației) care pot fi cuantificate după scorul Knodell până la 22 de puncte [11, 17, 64, 40]. În funcție de localizare și răspândire a proceselor necrotice, pot fi întâlnite următoarele modificări histopatologice de inflamație [11, 17, 140]: *necroză parțială periportală* (“*piece meal necrosis*”), *necroză confluentă* (“*bridging necrosis*”) și *necroză masivă multilobulară*; *fibroză hepatică*; *leziuni proliferative ale canalelor biliare*.

Biopsia hepatică la copiii cu HVBC este recomandată pentru determinarea gradului de activitate histologică și a stadiului procesului necroinflamator (A1, EASL) atât la confirmarea primară a diagnosticului, cât și în cazul deciziilor terapeutice antivirale [11, 17, 140]. Procedura este considerată invazivă, cu risc scăzut de complicații, dar cu informație furnizată limitată [11, 16, 17, 140]. În practica pediatrică, biopsia hepatică se recomandă a fi efectuată o singură dată la confirmarea primară a diagnosticului, deoarece poate induce anumite dificultăți legate atât de starea emoțională a copilului, cât și de familia acestuia [11]. Stadializarea procesului cronic

hepatic în HVBC la copii poate fi efectuată și prin metoda elastometriei (FibroScan), cu determinarea gradului de elasticitate al țesutului hepatic și fibroză, însă datele privind examinarea copiilor prin această metodă cu patologia dată sunt insuficiente [11, 17, 140].

Manifestările clinice și paraclinice ale HVCC la copii. Semnele clinice și tipul evoluției HVCC la copii sunt dependente de modalitatea contractării infecției cu VHC [60, 65]. În cazul infectării cu VHC perinatal, pe cale verticală, semnele clinice specifice HVCC pot fi constatate la vârsta de 3-24 săptămâni de la expunere, ținând cont de perioada de incubație a VHC care poate varia între 15-160 de zile [65, 67, 74]. La copiii nou-născuți și sugari, semnele clinice pot fi variate și nespecifice, exprimate prin oboseală, refuzul alăptării la sân sau a alimentației la cel de vârstă mai mare, pierderea ponderală, diaree, febră sau subfebrilitate, icter muco-cutanat de la ușor până la intensiv, urine brune, erupții cutanate etc. [65, 77]. În această perioadă copilul sugar necesită supraveghere atentă și periodică de către medicul de familie sau pediatru pentru a depista orice simptom caracteristic infecției cronice cu VHC [78]. La copii forma acută de hepatită virală C în 10-20% din cazuri poate dezvolta cronicizarea, mai mulți ani evoluând subclinic sau asimptomatic [65, 77, 78]. HVCC la copii în 60% evoluează cu hepatomegalie, uneori însoțită de splenomegalie, o stare generală relativ satisfăcătoare în lipsa acuzelor. 1/3 din copiii cu HVCC prezintă astenie, supraoboseală, simptome extrahepatice (telangiectazie, capilarită). Deși pentru HVCC la copii este caracteristică o activitate necroinflamatorie minimală, în 50% din cazuri peste 1 an de la infectare și în 87% cazuri peste 5 ani poate fi constatată fibroza hepatică. Chiar și în cazul unui grad ușor de fibroză hepatică există riscul progresării spre ciroză hepatică. Complicațiile hepatitei virale C acute la copii includ insuficiența hepatică, sindromul hemoragic, infecții bacteriene severe, rareori insuficiența renală [82, 83, 86].

HVCC la copiii de vârstă mai mare evoluează cu semne clinice nespecifice: astenie, greutate în hipocondrul drept, greață, inapetență, mialgii și artralгии [20, 88, 91]. Examenul obiectiv constată hepato- sau și splenomegalie, icter, ascită, prurit și excoriații, edeme ale gambelor. La o parte din pacienții cu HVCC pot fi constatate așa semne extrahepatice ca crioglobulinemia, glomerulonefrita membranoasă, purpura trombocitopenică, cherato-conjunctivita, sindromul Raynaud, porfirie și vasculita cutanată, limfomul non-Hodjkin [11, 14, 92]. Confirmarea diagnosticului de HVCC la copii este similară celei la adulți și include colectarea minuțioasă a anamnezelor epidemiologice al bolii, istoricul rezultatelor biochimice și serologice din ultimele 6 luni, examinarea markerilor de fază acută și cronică anti-HCV IgM și IgG prin utilizarea test-sistemelor de înaltă sensibilitate (97%), cu reexaminarea prin testul recombinant imunoblot (RIBA-2), determinarea ALT, AST, ARN VHC semicantitativ și cantitativ prin metoda PCR în timp real, cu specificitate de 90-95%, genotipului VHC, gradului de fibroză hepatică și a activității

necroinflamatorii, iar în cazurile dificile – efectuarea biopsiei hepatice și cercetarea histologică a țesutului hepatic prelevat [64, 87, 96]. Cuantificarea nivelului viremiei VHC poate fi efectuată în baza valorilor serice ale ARN VHC: viremie joasă < 600 000 ui/ml sau < 2×10^6 copii /ml; viremie înaltă > 600 000 ui/ml sau > 2×10^6 copii /ml. Cu cât este mai mare nivelul ARN VHC, cu atât prognosticul HVCC poate fi mai sever, iar pacientul este considerat contagios. Genotipul VHC este un predictor al evoluției procesului infecțios, determină durata tratamentului antiviral și răspunsul posibil așteptat [87, 88].

Biopsia hepatică nu este obligatoriu a fi efectuată pentru confirmarea primară a diagnosticului și pentru inițierea tratamentului antiviral în HVCC la copii [66]. Modificările histologice în HVCC cronică la copii sunt minimale sau moderate, și doar la o parte din pacienți pot fi severe, prezentate de procesul necroinflamator în tracturile portale ale foliculilor limfoizi activi, cu infiltrarea limfocitelor T CD4+ și CD8+, afectarea ducturilor biliare, tumefierea epitelului și subțierea lui, pierderea continuității ducturilor biliare caracteristică pentru ciroza hepatică, prezența degenerescenței grăsoase și a corpiilor Mallory, necrozei hepatocitelor în „piece meal” sau „bridging necrosis”, septurilor de țesut conjunctiv și a fibrozei hepatice [11, 56, 61, 64]. Prezența limfocitelor T CD4+ semnaleză caracterul autoimun al procesului inflamator hepatic. Cu toate că modificările histologice în HVCC sunt vădite și permit aprecierea gradului activității procesului inflamator și al fibrozei hepatice, confirmarea definitivă a diagnosticului se bazează pe testarea anticorpilor antiVHC și a nivelului ARN VHC (semicantitativ și cantitativ prin PCR) [70, 82, 83]. În 72% din cazuri pacienții prezintă indice de activitate histologică (IAH) minimal sub 3 puncte; 20% – 4-8 puncte; în 60% poate fi determinată fibroza F1-F2, în 40% – F3-F4 și doar 4-6% din copii cu HVCC prezintă semne histologice caracteristice cirozei hepatice, cu steatoză hepatică moderată cu 2-3 puncte în 80% [39, 44]. HVCC în remisiune biochimică și absența viremiei VHC nu necesită tratament antiviral. Diagnosticul diferențial este necesar să fie efectuat cu HVBC, hepatita autoimună, colangita sclerozantă, boala Wilson, hemocromatoza, hepatita medicamentoasă [64, 85].

HVCC poate fi asociată cu alte comorbidități virale, având o evoluție mai rezervată în aceste cazuri [13, 64, 83]. Coinfecția VHC și VHB este relativ frecventă, având implicații importante asupra replicării celor două virusuri și asupra severității maladiei. Este demonstrat că VHC inhibă replicarea VHB. Pacienții cu HVBC aflați în faza replicativă VHB asociată cu VHC sunt uzual negativi pentru ARN VHC seric, care este prezent doar în ficat. Aseastă categorie de pacienți suportă o formă mai severă de boală decât cei cu ADN VHB în ser negativ [77, 78]. Coinfecția VHC cu VHD este rar întâlnită [13, 36, 64]. Asocierea infecției cronice cu VHC și HIV nu diferă

mult de cea a monoinfecției, cu excepția consecințelor induse de infecția HIV, care frecvent poate agrava evoluția HVCC până la decompensare și deces [13, 79].

Autoimunitatea și VHC: conform datelor raportate, la pacienții cu HVCC au fost detectați anumiți autoanticorpi și marcheri autoimuni [8, 11, 14]. Infecția cu VHC se asociază cel mai frecvent cu hepatita autoimună tip 1, cu anticorpi antinucleari prezenți (antiANA+), anticorpi antifibră musculară netedă (antiSMA+); în unele cazuri cu tipul 2 de hepatită autoimună, cu decelarea de anticorpi antimicrosomali hepatici și renali de tip 1 (antiLKM1), [11, 14]. *Asocierea sau suprapunerea infecției VHC cu hepatita toxică (abuzul de alcool, medicamente hepatotoxice)* poate fi întâlnită frecvent și la copilul adolescent. În astfel de cazuri leziunile histologice sunt induse de cei 2 agenți etiologici [7, 8, 11, 13]. Alcoolul crește replicarea VHC, însă mecanismul rămâne necunoscut. Abstinerea de la alcool conduce la ameliorarea hepatopatiei. În cazul administrării medicamentelor în exces poate fi dezvoltată insuficiența acută hepatică [7, 11, 14]. La o parte din pacienți cu HVCC poate fi constatată *crioglobulinemia mixtă* care evoluează asimptomatic, manifestându-se în formă de artralгии, prurit și rar – ca sindrom Reynaud, purpură, neutropenie sau glomerulonefrită; *sialoadenită și tiroidită*; *porfirie cutanată tardivă* – o boală metabolică datorată reducerii activității uroporfirinogen-decarboxilazei hepatice care este responsabilă de conversia uro- în coproporfirinogen [1, 4, 7, 11, 14].

1.4. Concepții actuale în tratamentul etiopatogenetic al HVBC și HVCC la copii

Tratamentul HVBC la copii. Managementul terapeutic în HVBC la copii este unul dificil și nerezolvat până în prezent în practica pediatrică [11, 13, 26, 64]. Principiile terapiei etiopatogenetice ale HVBC la copii au fost recent modificate, prioritar fiind recomandată utilizarea analogilor nucleotidici (-zidici), așa ca entecavirul, adefovirul, lamivudina, tenofovirul pentru o durată de 1-3 ani sau interferonul alfa 2b (pegilat sau standard) la cei cu vârsta mai mare de 2-3 ani, alfa 2a pegilat – la cei mai mari de 5 ani, concomitent cu terapia nespecifică simptomatică [3, 11, 64, 140, 162]. Există multiple controverse privind selectarea și eligibilitatea copiilor cu HVBC în fază de viremie VHB și ALT în limita normei [11, 140, 162].

Tratamentul antiviral în HVBC cu AgHBe pozitiv și AgHBe negativ. Criteriile de includere în tratamentul cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard), conform ESPGHAN Clinical Practice Guidelines, prevăd [160, 161]: vârsta mai mare de 3 ani; prezența AgHBs; HVBC cu AgHBe pozitiv, ADN VHB mai mare de $\geq 20\ 000$ ui/ml și a activității necroinflamatorii; iar în HVBC cu AgHBe negativ – prezența ADN VHB $\geq 2\ 000$ ui/ml; durată citolizei ALT și AST peste 2 valori x N mai mult de 6 luni; absența maladiilor psihice și a afecțiunilor organice ale SNC, sindromului convulsiv în antecedentă, malformațiilor congenitale decompensate de cord, maladiilor cronice decompensate renale, a imunodeficienței primare, absența cirozei hepatice în stadiile Child Pugh B, C; prezența acordului informat și a complianței pacientului și familiei lui la tratament. Contraindicațiile pentru terapia antivirală la copiii cu HVBC includ: hemoglobină mai joasă de 110 g/l, leucopenie sub $1500\ \text{mm}^3$, trombocitopenie sub $75\ 000\ \text{mm}^3$, stări alergice și hipersensibilitate individuală la interferon, stări de depresie sau maladii psihice necontrolate, dereglări de coagulare, cardiomiopatii, endocardite, colestază severă [160, 161].

INF alfa 2b pegilat este recomandat în doză de $60\ \text{mcg}/\text{m}^2$ sau $1,5\ \text{mcg}/\text{kg}/\text{corp}/\text{săptămână}$, iar INF alfa 2a pegilat este administrat în doză $60\ \text{mcg}/\text{m}^2/\text{săptămână}$ sau în doză fixă 60-90 mcg/săptămână pe o durată de 24-48 de săptămâni, în funcție de viremie. La copiii cu HVBC în vârstă de 2-3 ani poate fi administrat exclusiv doar interferon alfa 2b standardizat în formă de supozitoare în doze de $3-6\ \text{mln}/\text{m}^2$ de suprafață corporală în 24 de ore x 3 ori/săptămână sau în formă injectabilă [64, 67, 160].

Analogii nucleotidici (-zidici) sunt dependenți de vârsta pacientului. Primele raportări despre eficacitatea analogilor nucleozidici (adefovir) la copii au fost făcute în anul 2003, a entecavirului – în 2005, și, mai târziu – a telbivudinei (Tyzekda) [11, 64, 67, 161, 162]. *Entecavirul* este un analog nucleozidic (inhibitor selectiv) de primă linie, care blochează toți trei pași de replicare VHB; a fost aprobat la copii din 2006. Este unul dintre cei mai eficace inhibitori VHB cu tulpini sălbatice, însă este mai puțin eficient în cazul formelor mutante. Doza recomandată este de 0,5 mg/zi pe o durată >1 an. *Adefovirul* este un analog nucleotidic și a fost administrat pacienților cu

rezistență la lamivudină; se administrează în doze 10 mg/zi, pe o durată de 1 an; în doze mari are efecte adverse de nefrotoxicitate. *Lamivudina* este un analog nucleozidic, aprobat pentru prima dată în anul 1998 în tratamentul HVBC, iar în prezent rămâne un remediu de primă linie, în lipsa entecavirului și adefovirului, cu o eficacitate redusă de 15-23-34% și risc de dezvoltare a rezistenței în timp [86, 162]. La copiii mai mari de 2 ani cu absența eficacității la terapia cu interferon alfa 2b pegilat poate fi administrată lamivudina în doze 2 mg/kg/corp/zi, durata terapiei fiind în jur de 1-5 ani. Tratamentul cu interferon alfa 2b pegilat combinat cu lamivudină poate fi aplicat doar în cazuri speciale [86, 161, 162]. *Telbivudina* este un analog timitidinic activ față de VHB, fără efect teratogen și mutagen, nu produce toxicitate și poate fi administrat în doze 10 mg/kg/corp/zi, având o eficacitate mai mare decât lamivudina și adefovirul. Unele studii au demonstrat prezența rezistenței la telbivudină după o perioadă de 2 ani de administrare în 21% cazuri. În funcție de răspunsul biochimic și virusologic, tratamentul cu analogii nucleozidici se va opri sau va continua până la 5 ani. Tratamentul cu tenofovir, entecavir sau telbivudină poate induce aviremie în circa 70% din cazuri, iar dispariția AgHBs cu seroconversia în anti-HBs poate fi obținută doar în 7% din cazuri [161, 162].

Managementul clinic al pacienților cu HVBC tratați cu remedii antivirale prevede supravegherea stării generale pe toată perioada terapiei, reacțiilor adverse posibile, nivelului bilirubinei totale, ALT și AST, glicemiei, hemoglobinei, trombocitelor, leucocitelor, valorii serice a ureei și clearance-ului creatininei, precum și compliancei pacientului la tratament. La fiecare 6 luni se vor determina ALT, AgHBs, AgHBe, anti-HBe. Determinarea ADN VHB cantitativ va fi efectuată la 4, 12, 24, 48 de săptămâni, apoi la fiecare 6 luni timp de 3 ani după anularea terapiei antivirale [64, 67, 161]. Creșterea transaminazelor pe parcursul tratamentului impune determinarea repetată a ADN VHB, iar creșterea viremiei pe fundalul tratamentului antiviral se consideră drept dezvoltarea rezistenței și lipsa de răspuns terapeutic, impunând reevaluarea diagnosticului și luarea unei noi decizii terapeutice. Apariția anti-HBs impune stoparea terapiei antivirale [11, 13, 64, 67, 162].

Studii și raportări privind eficacitatea interferonului alfa 2b la copii sunt insuficiente, majoritatea datelor fiind din țările cu hiperendemicitate a infecției cu VHB [11, 140, 162]. Mecanismele de acțiune a interferonului alfa 2b sau alfa 2a pegilat sunt: *antiviral*, prin activarea genelor care induc sinteza interferonului endogen, a secreției citochinelor IL-1, TNF α și altor citochine, creșterea activității celulelor NK, proliferării și diferențierii limfocitelor B, sintezei de IgG, activarea macrofagelor; *imunomodulator*, prin activarea celulelor T limfocite CD8+, a celulelor NK, stimularea diferențierii limfocitelor B și sintezei anticorpilor, activarea sistemului monocitar-macrofagic și a fagocitozei, activarea expresiei complexului HLA tip I și majorarea capacității de recunoaștere a celulelor infectate de către sistemul imunocompetent; *antitumoral*

(*antiproliferativ*), prin inhibarea sintezei proteinelor necesare celulelor tumorale, blocarea și inhibarea directă a oncogenelor și creșterea răspunsului imun celular antitumoral [11, 13, 140]. Mecanismul de acțiune antivirală a analogilor nucleozidici constă în inhibarea replicării virale VHB prin blocarea situsului de legare a polimerazei virale, competiția cu substratul natural deoxiadenozintrifosfat (dATP) și prin blocarea elongației lanțului ADN după încorporarea în ADN viral. Studiile clinice au demonstrat că utilizarea analogilor nucleotidici (-zidici) în tratamentul HVBC duce la o diminuare importantă a activității inflamatorii a procesului cronic viral și a fibrozei hepatice [11, 13, 64, 140]. Durata tratamentului cu analogi nucleozidici este mult mai lungă față de cea cu interferon și poate fi efectuată timp de câțiva ani, iar administrarea lor pe termen scurt (până la 48 de săptămâni) are riscul recăderii viremiei [140, 161, 162]. Tratamentul antiviral la copiii cu HVBC are drept scop de a minimaliza activitatea procesului inflamator în ficat și reducerea riscului apariției cirozei hepatice, începând din copilărie [140, 161, 162].

Inițierea terapiei antivirale la copiii cu diagnosticul doar de infecție cronică virală B, fără precizarea fazei și nivelului viremiei, a gradului de fibroză hepatică nu este recomandată, deoarece majoritatea pacienților pediatrici au o evoluție ușoară sau moderată a maladii [94, 95]. Strategiile terapeutice noi prevăd că acei copii și adolescenți la care a fost confirmat diagnosticul de HVBC, și care corespund criteriilor, sunt eligibili pentru tratamentul antiviral, însă acesta trebuie să fie efectuat cu mare precauție și acuratețe [140, 161, 162]. Terapia imunomodulatorie cu INF alfa 2b sau 2a pegilat (monoterapie) poate fi utilizată inițial la pacienții cu forme clinice ușoare sau moderate, cu AgHBe pozitiv sau negativ, pentru o durată de 48 de săptămâni, cu reevaluarea clinico-paraclinică la 3, 6, 12 luni de la debutul tratamentului și la 6, 12, 24, 36 luni după finalizarea acestuia [140, 161, 162]. Pacienții incluși în tratamentul antiviral cu analogi nucleotidici (-zidici) sau cu imunomodulatori necesită o supraveghere minuțioasă și periodică, cu reevaluarea indicilor clinici, biochimici, a funcției renale, cu calcularea ratei de filtrare glomerulară (eRFG) pe tot parcursul terapiei, în scopul depistării reacțiilor adverse și nefrotoxicității [86]. Riscul înalt renal de nefrotoxicitate este considerat la pacienții cu maladie hepatică decompensată, cu eRFG < 60 ml/min/1,73m², hipertensiune arterială slab controlată, proteinurie, diabet zaharat, glomerulonefrită activă, administrare concomitentă a medicamentelor nefrotoxice sau în cazul transplantului de organe [86].

Efectele așteptate ale terapiei antivirale includ următoarele răspunsuri: *virusologic*, cu negativarea ADN VHB; *serologic*, cu seroconversia parțială a AgHBe/antiHBe; seroconversia totală a AgHBs/antiHBs; *biochimic*, cu normalizarea ALT; *histologic*, cu diminuarea cu 2 puncte a activității necroinflamatorii și a IAH (dupa Knodell) fără avansarea gradului de fibroză hepatică, comparativ cu cel pre- și posttratament [13, 86, 161, 162]. Răspunsul virusologic la terapia antivirală include: răspunsul virusologic susținut (RVS) cu negativarea ADN VHB (cu limita de

detectare < 10 ui/ml, prin metoda PCR) și menținerea aviremiei sau a ADN VHB < 2000 ui/ml timp de 12 luni după anulare; pacienți nonresponderi (NR) – dacă peste 3 luni de tratament antiviral ADN VHB a diminuat cu mai puțin de 1 log₁₀ ui/ml; răspuns virusologic parțial (RVP) cu diminuarea ADN VHB cu mai mult de 1 log₁₀ ui/ml, dar detectabil peste 12 luni de tratament; rezistență la terapie (R) – dacă se determină creșterea ADN VHB cu > 1 log₁₀ ui/ml și majorarea ALT cu necesitatea reducerii dozelor sau modificarea schemei de tratament [13, 64, 86, 161, 162].

În cazul tratamentului cu pegINF alfa 2a sau 2b eficacitatea terapiei antivirale va fi estimată la 6 și 12 luni după terminarea lui. Un RVS va fi considerat dacă peste 12 luni după anularea terapiei antivirale ADN VHB va fi < 2000 ui/ml [86, 161]. Pacienții cu HVBC genotip B sau C cu AgHBe pozitiv și concentrație serică a AgHBs > 20 000 ui/ml, tratați cu pegINF alfa 2b, la care nu a diminuat concentrația AgHBs timp de 12 săptămâni și cei cu genotipurile A-D tratați timp de 24 de săptămâni au o șansă redusă de a face seroconversie AgHBe/anti-HBe și necesită anularea terapiei. Pacienții cu HVBC genotip D cu AgHBe negativ, tratați cu pegINF alfa 2b și la care nu s-a redus concentrația serică a AgHBs și ADN VHB cu 2 log₁₀ timp de 12 săptămâni, necesită anularea terapiei antivirale și reevaluarea clinică și paraclinică a diagnosticului, efectuarea biopsiei hepatice [86, 162].

Terapia cu pegINF alfa 2b este asociată frecvent cu reacții secundare considerabile în formă de sindrom pseudogripal, mialgii, cefalee, supraoboseală, diminuare ponderală, reacții locale în locul injectării, pierdere parțială a pilozității scalpului, decompensare frecventă a bolii hepatice, erupții cutanate, mielosupresie ușoară, neutropenie, trombocitopenie, care necesită gestionare pe tot parcursul tratamentului de către specialistul cu experiență în domeniu [15, 21, 44, 64, 67]. Majoritatea pacienților care au răspuns pozitiv la terapia antivirală cu INF alfa 2b pegilat mențin efectul obținut timp de 5 ani – cel mai lung termen de supraveghere raportat [67, 86, 162]. Datele privind eficacitatea terapiei antivirale cu INF alfa 2b pegilat la copii sunt insuficiente [64, 67, 86, 162]. Seroconversia totală cu negativarea AgHBs la pacienții cu HVBC și AgHBe negativ pe parcursul tratamentului cu INF 2b pegilat este rar obținută, de obicei peste 3 ani după întreruperea tratamentului la 9%, iar peste 5 ani – la 12% din pacienții adulți [86]. Dispariția AgHBs în ser la pacienții cu infecția cronică cu VHD și tratați cu INF alfa 2b pegilat în 10% din cazuri, poate fi obținută seroconversia în anti-HBs pe termen lung și semnifică vindecarea [86].

Tratamentul etiopatogenetic în HVCC la copii. Până în prezent nu există un consensus unanim și bine definit privind criteriile de eligibilitate și schemele antivirale efective etiopatogenetic în HVCC la copii din motivele cost-eficienței reduse în genotipul 1 VHC și al reacțiilor secundare adverse [11, 64, 101]. Tratamentul antiviral în HVCC la copii în formă de monoterapie cu interferon alfa 2b standard pentru prima dată a fost aprobat în anii 2002-2004, cu modificarea ulterioară a schemelor de tratament și suplimentarea cu ribavirină [102].

Actualmente, terapia de primă linie recomandată pacienților pediatrici cu HVCC include terapia combinată cu interferon alfa 2b sau alfa 2a (pegilat sau standard la copiii mai mari de 5 ani) și ribavirină, administrate timp de 24-48 de săptămâni, în funcție de genotipul VHC. Dozele recomandate sunt dependente de vârsta pacientului, greutatea lui ponderală și toleranța remediilor antivirale [104,105]. Noile scheme de tratament cu DAAs cu administrarea unor preparate ca sofosbuvir, simeprevir, daclatasvir, sofosbuvir/ledipasvir, dasabusvir la copii până în prezent nu au fost aprobate, fiind efectuate în continuare studii clinice multicentrice [102, 105]. În cazurile de existență a infecției cronice mixte VHC cu VHB decizia terapeutică va fi luată în dependență de nivelul viremiei VHB: dacă ADN VHB va fi mai înalt decât ARN VHC se va indica terapia cu analogii nucleozidici/nucleotidici (grad de recomandare B1, EASL).

Criteriile de includere în tratamentul cu interferon alfa 2b pegilat în HVCC [102]: vârsta mai mare de 3 ani; viremie VHC mai mare sau egală cu 600 000 ui/ml; prioritate vor avea pacienții cu fibroză hepatică F3-F4; activitate biochimică cu ALT și AST majorate cu 2 N; absența maladiilor psihice, a epilepsiei, stărilor depresive, afecțiunilor organice ale SNC, sindromului convulsiv în antecedentă, malformațiilor congenitale decompensate de cord, renale, imunodeficienței primare, tiroiditei autoimune, cirozei hepatice în stadiile Child B, C; prezența acordului informat al familiei [102, 104].

Criteriile de excludere din tratamentul cu interferon alfa 2 beta pegilat și ribavirină: vârsta sub 3 ani; lipsa acordului informat al familiei și copilului; absența ARN VHC; absența fibrozei (F0); prezența maladiilor psihice, a epilepsiei, stărilor depresive, a afecțiunilor organice ale SNC, sindromului convulsiv în antecedentă, a malformațiilor congenitale decompensate de cord, renale, imunodeficienței primare, tiroiditei autoimune, cirozei hepatice în stadiile Child B, C; neutropenie $< 1500/\text{mm}^3$; trombocitopenie $\leq 90\ 000/\text{mm}^3$; lipsa complianței din partea familiei și a pacientului la tratament; reacțiile adverse și intoleranța la interferon alfa 2b pegilat sau ribavirină [102, 104].

În cazul absenței unei bune complianțe între medic, familie și copilul inclus în tratamentul antiviral cu interferon alfa 2a sau 2b pegilat și ribavirină, precum și în absența unei supravegheri dinamice a pacientului sunt posibile reacții adverse nedorite, care au riscul agravării stării generale. Pacienții cu ALT și AST în limitele normei, cu viremie joasă ARN VHC și fibroză hepatică F1-F2 rămân discutabili în decizia tratamentului antiviral, ținându-se cont de preferințele pacientului, vârsta acestuia, prioritățile tratamentului, riscul de progresare al maladiei și efectele așteptate [102, 104, 105].

INF alfa 2b pegilat se recomandă a fi administrat copiilor cu HVCC netratați anterior (naivi) în doze de $60\ \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{săptămână}$ sau $1,5\ \mu\text{g}/\text{m}^2/\text{săptămână}$ în combinație cu ribavirină în doze 15

mg/kg/zi divizat în două prize, timp de 48 de săptămâni în genotipul 1,4 VHC și ARN VHC > 10 000 ui/ml și 24 de săptămâni în genotipul 2, 3 VHC. Diminuarea viremiei VHC peste 12 săptămâni cu <2 log₁₀ și absența negativării ARN VHC peste 24 de săptămâni va fi un indicator pentru anularea terapiei [102, 104, 105]. RVS în urma administrării interferonului alfa 2b pegilat în doze 100 μcg/m²/săptămână la copii în combinație cu ribavirina este de 61,1% din cazuri [102, 104, 105].

INF alfa 2a pegilat poate fi administrat copiilor cu vârsta mai mare de 5 ani cu HVCC (naivi) în următoarele doze: 0,71- 0,74 m² suprafață corporală – 65 μcg/m²/săptămână; 0,75-1,08 m² – 90 μcg/m²/săptămână; 1,09-1,51 m² – 135 μcg/m²/săptămână. Calcularea suprafeței corporale se efectuează după formula următoare: S(m²)= $\sqrt{\frac{G}{3600}}$ (kg) x L(cm) : 3600. RVS în genotipul 1 poate fi obținut în 53% din cazuri, genotipurile 2, 3 – 93%, genotipul 4 – 80%. În cazul HVCC la copii ca rezultat al infectării cu VHC pe cale verticală poate fi obținut un RVS în 37,5% din cazuri [185, 187]. Administrarea INF alfa 2a pegilat în doza 100 μcg/m²/săptămână în combinație cu ribavirina copiilor cu HVCC poate induce un RVS în 57-66,1% din cazuri, demonstrat prin studii multicentrice CHIPS - Chronic Hepatitis C International Paediatric Study [160, 162]. Eficacitatea răspunsului antiviral este bazată pe determinarea cantitativă a ARN VHC și poate fi în formă de: RVS (răspuns virusologic susținut) – posibil în 28,6-81,8% din cazuri cu negativarea ARN VHC, reducerea gradului de fibroză hepatică pe parcursul tratamentului și menținut timp de 6 luni după anularea terapiei; lipsa răspunsului antiviral (NR) – persistența ARN VHC pe parcursul terapiei antivirale la 12-24 de săptămâni, cu șanse minimale de a obține răspunsul către 28 de săptămâni de terapie antivirală; recădere – dispariția ARN VHC către finele curei de tratament antiviral și reapariția lui după anularea terapiei; ameliorare doar a parametrilor clinici și biochimici [107, 109, 160]. Interferonul pegilat amplifică răspunsul imun contra VHC, crește activitatea fagocitară a macrofagilor și stimulează activitatea citotoxică a limfocitelor T față de celulele țintă infectate [110, 114]. Studiile multicentrice pediatrice au demonstrat că terapia combinată cu interferon alfa 2b sau 2a și ribavirină în HVCC este efectivă în genotipurile 2 și 3 în circa 90% din cazuri și subopțională în genotipurile 1, 4, 5, 6 cu o rată de 50% a RVS [116, 119, 162].

În ultimii ani, principiile terapeutice sunt orientate spre individualizarea schemelor de tratament antiviral pentru obținerea unui răspuns virusologic pozitiv și de durată [122, 132]. La adulți tratamentul antiviral al HVCC a fost în prezent modificat revoluționar, cu aprobarea unei clase de medicamente antivirale noi fără interferon, cu acțiune directă (DAAs), cu un regim de tratament de scurtă durată (până la 8 săptămâni), rata de vindecare fiind de 90% și reacții adverse minimale, comparativ cu schemele precedente cu INF [188, 194]. Noile scheme de tratament cu

DAAs cu acțiune directă la copii deocamdată nu sunt aprobate. Se fac încercări de a fi găsite formule și scheme terapeutice antivirale noi, eficiente și inofensive pentru a fi folosite în practica pediatrică [188, 194]. Unele studii demonstrează că eficacitatea interferonoterapiei în HVCC la copii poate fi amplificată de 2 ori prin administrarea concomitentă a IL-2 recombinantă și obținerea RVS în 17-25% din cazuri în genotipul 1 VHC și în 43-91% din cazuri în genotipurile 2, 3 VHC [39, 57]. În plan de perspectivă a terapiei etiopatogenetice în HVCC la copii, studiile sunt direcționate spre trialuri multicentrice pediatrice [188, 194]. Sunt studiate așa remedii ca albinterferonul alfa 2b, care este o proteină ce conține INF alfa 2b genetic legat cu albumina umană și INF-λ pegilat cu administrarea 1 dată/săptămână și efecte adverse minimale [39]. INF-λ pegilat reprezintă o grupă nouă de interferoni ce posedă capacitatea de a se uni cu receptori speciali ai hepatocitului, micșorând efectele adverse ale terapiei și inducând un răspuns virusologic rapid și înalt [39].

Sunt raportate date experimentale privind acțiunea terapeutică a vaccinurilor ce conțin gena 3/4aNS. Astfel de vaccinuri pot fi utilizate ca monoterapie sau în combinație cu terapia antivirală cu INF a pacienților cu HVCC, având la bază mecanismul stimulării răspunsului imun și eliminarea virusului din organism [39]. În iulie 2014 au fost inițiate studii multicentrice pediatrice cu utilizarea în tratamentul HVCC cu genotipurile 2 (timp de 12 săptămâni) și 3 (timp de 24 de săptămâni) la copiii de vârstă 3-11 ani și 12-17 ani a sofosbuvirului în doze 400 mg/zi combinat cu ribavirina, care vor fi finalizate și analizate în mai 2018 [87]. Un alt studiu multicentric, inițiat în noiembrie, 2014 la copii și adolescenți cu HVCC, care va fi finalizat în iunie 2018 prevede administrarea în doze fixe a ledipasvirului în doze 90 mg/zi concomitent cu sofosbuvirul 400 mg/zi [87]. Prognosticul HVCC la copii este variabil, evoluând multe decenii, cu dezvoltarea în 5% din cazuri a cirozei hepatice sau/și a carcinomului hepatocelular primar [87].

Concluzii la Capitolul 1

1. Hepatitele virale B și C cronice la copii reprezintă o problemă majoră de sănătate publică, care se regăsește la vârsta adultului apt de muncă, comparabilă cu alte maladii transmisibile ca tuberculoza, infecția cu HIV, malaria, cu impact medico-social important. Problemele diagnostice, terapeutice și impactul economic indus de HVBC și HVCC la copii necesită o abordare prioritara în politicile statale de sănătate.
2. Prezența infecției cronice cu VHB la femeile de vârstă fertilă și gravide în forme asimptomatice cu replicare virală persistentă are riscul înalt de infectare perinatală a nou-născuților, cu o rată înaltă de cronicizare timpurie în 90% din cazuri. Contractarea infecției cu VHB la vârsta de 1-5 ani duce la formarea hepatitei virale B cronice în 20-50%, iar la

vârsta între 6-10 ani – într-o perioadă de 10 ani are riscul posibil de evoluție spre ciroză hepatică în 1,7 - 4,5% din cazuri, iar în 2,5 - 5% din cazuri pe an dezvoltarea malignizării.

3. Infectarea copiilor cu VHC este similară celei cu VHB, calea predominantă fiind perinatală, verticală, cu formarea HVCC primar cronic în 10% din cazuri, sursa de infecție fiind mamele lor infectate cronic cu VHC. Riscul de infectare a copiilor cu VHC ca rezultat al multiplelor transfuzii de sânge testat necalitativ sau prin manopere parenterale cu instrumente medicale sterilizate necalitativ este unul frecvent și are semnificație epidemiologică.
4. Transmiterea infecției cu VHB sau VHC pe cale orizontală, habitual, copiilor este posibilă intrafamiliar, de la rudele de prima linie infectate cronic cu VHB sau VHC, sau de la copil la copil, cu însemnătate în menținerea lanțului epidemiologic.
5. HVBC la copii are o evoluție blândă, ondulantă, cu persistența îndelungată a VHB, în fază de imunotoleranță cu grad înalt de viremie îndelungată 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 procesului viral indus de VHB.
6. 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.
7. Mecanismele imunopatogenetice ale proceselor inflamatorii cronice virale și de fibrozare hepatică în HVBC și HVCC la copii au la bază interacțiunea VHB și VHC cu sistemul imun al organismului-gazdă, mediate imun și endocrin. Rolul imunității congenitale și al citokinelor proinflamatorii în imunopatogeneza HVBC și HVCC la copii, în special a limfocitelor T CD3 și a subpopulațiilor lor necesită studii fundamentale.
8. Eficacitatea redusă a terapiei cu INF alfa 2b pegilat monoterapie în HVBC la copii cu o rată mică a răspunsului virusologic așteptat și dependența de vârstă a utilizării analogilor nucleotidici (-zidici) impun căutarea schemelor noi efective de tratament și optimizarea principiilor terapeutice existente antivirale și nevirale.
9. Răspunsul antiviral insuficient la terapia combinată cu INF alfa 2b pegilat și ribavirină în HVCC genotip 1 la copii și potențialele existente în prezent în acest domeniu impun elaborarea de noi formule medicamentoase inofensive de alternativă, accesibile financiar, cu cost-eficiență înaltă la copii și obținerea unor rezultate mult mai bine definite.

Reeșind din cele expuse mai sus au fost formulate scopul și obiectivele actualei cercetări științifice. **Scopul actualei cercetări științifice constă în:** 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 la copii, 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, coleastăz, 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**, pentru 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**, pentru a evalua eficacitatea 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.

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 T-limfocite CD3 și a subpopulațiilor lor determinate prin metoda care utilizează Ac monoclonali, ca un criteriu important de diagnostic și prognostic, în funcție de gradul de fibroză hepatică și de 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, program care va fi aplicat și în viitor.

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 neviral, care posedă proprietăți ca inductor de interferon, cu efect antiviral, antioxidant și imunomodulator. Au fost elaborate totodată criteriile de monitorizare pe termen lung și de determinare 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. A fost efectuată stadializarea procesului cronic inflamator hepatic în HVBC și HVCC pentru copii, prin metode invazive (histopatologice) și neinvazive (elastometrie și FibroTest).

Pentru prima dată, pe un lot de 181 copii cu vârsta cuprinsă între 6 luni - 18 ani, spitalizați în secția de hepatologie a Spitalului Clinic Republican pentru Copii „Em. Coțaga” (redenumit în 2015 ca Clinica „Em. Coțaga” a Institutului Mamei și Copilului) cu diagnosticul de HVBC și HVCC, au fost analizate particularitățile clinico-paraclinice, imunologice și histopatologice ale maladiilor, cu aplicarea metodelor moderne de investigații, inclusiv prin examinare sonografică, cu aplicația doppler, biopsie hepatică și cercetare histologică a țesutului hepatic prelevat (25),

elastometrie sau FibroTest. Concomitent, a fost selectat un lot de copii (103), echivalent unui „lot martor” („caz control - LS), de vârstă similară și considerați anterior „condiționat somatic sănătoși” pentru calcularea valorilor medii ale parametrilor clinici și imunologici.

Pentru fiecare pacient cu HVBC sau HVCC inclus în studiu a fost elaborată fișa de anchetă individuală, criteriile de includere în studiu și în tratament, precum și criteriile de excludere. Pacienții cu HVBC sau HVCC au fost repartizați în 3 loturi: LB - HVBC (107), LC - HVCC (74) și LS (103) - lotul caz-martor (copii condiționat „somatic sănătoși”). La toți pacienții incluși în studiu au fost cercetate aspectele epidemiologice, clinice, factorii de risc ai cronicizării și au fost efectuate investigații clinice, biochimice și imunologice complexe, în funcție de faza procesului viral indus de VHB sau VHC și activitatea procesului inflamator hepatic cronic. La toți pacienții cu HVBC (LB) sau HVCC (LC) au fost utilizate metode moderne de diagnostic, cu precizarea formelor clinice, elucidarea aspectelor clinico-paraclinice și evolutive, în funcție de vârstă, gen, durata bolii și gradul de activitate al procesului inflamator hepatic. Au fost apreciate cele mai sensibile criterii de diagnostic diferențial pentru diferite forme evolutive ale hepatitelor virale B, C cronice la copii.

Pentru prima dată în Republica Moldova, a fost determinată la copii structura etiologică a hepatitelor cronice și ponderea HVBC și HVCC în diferite regiuni geografice ale țării. Un număr de 96 de copii (48, cu HVBC, la care s-a aplicat monoterapia și 48, cu HVCC, care a fost administrată terapia combinată cu ribavirină) au fost supuși tratamentului clasic antiviral cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard), iar 33 au fost tratați cu pacovirină și 34, cu hepatoprotectoare. În lotul LS au fost incluși 103 copii de vârstă 1-18 ani selectați din ambulatoriu în timpul examenelor profilactice, considerați anterior „somatic sănătoși”, la care a fost determinată prevalența AgHBs și antiHCV totali (103), nivelul seric al citokinelor proinflamatorii (IL-2, IL-6, TNF- α) (pentru 21 copii), statusul imunității umorale (IgA, IgM, IgG serice) și celulare, cu determinarea celulelor CD3 pozitive și a subpopulațiilor lor (pentru 22 dintre ei), în scopul comparării valorilor medii cu cele ale pacienților din loturile de studiu (LB și LC).

Pentru prima dată, în Republica Moldova au fost apreciate particularitățile clinico-paraclinice și evolutive ale HVBC și HVCC la copii de diferite vârste, în funcție de faza procesului viral și de activitatea procesului inflamator hepatic cronic. S-a apreciat rolul citokinelor proinflamatorii și s-a investigat statusul imun celular și umoral și rolul lui în patogeneza HVBC și HVCC la copii. Au fost stabilite corelațiile biochimice, imunologice și anatomohistologice ale HVBC și HVCC, la copii de diferite vârste. În baza rezultatelor obținute au fost elaborate criterii și algoritmi de diagnostic diferențial pentru diferite forme clinice ale hepatitei virale cronice B, C la copii, în funcție de vârstă și gen și a fost elaborat protocolul clinic de diagnostic și tratament

antiviral și neviral în HVBC și HVCC la copii. Toate aceste date au fost sintetizate într-o monografie publicată.

Direcții noi de cercetare în știință și practică. Prin studii complexe interdisciplinare au fost evidențiate particularitățile clinico-paraclinice și anatomopatologice ale hepatitelor virale B și C cronice în funcție de vârstă, sex, faza procesului inflamator viral și formele clinice evolutive.

La copiii incluși în studiu au fost identificați factorii de risc major de infectare cu VHB și VHC, predominant ai riscului perinatal (intranatal și postnatal de la mamele infectate cronic) și cel parenteral.

A fost fundamentată o viziune nouă privind implicațiile imunității celulare, cu formarea dezechilibrului cantitativ al limfocitelor T, CD3 și al subpopulațiilor lor, pe fundalul evidențierii sindromului de stres cronic infecțios și a insuficienței imune cronice, pentru copiii cu HVBC și HVCC.

A fost demonstrat rolul important al citokinelor proinflamatorii (IL-2, IL-6, TNF- α) și interacțiunea lor cu limfocitele T, CD3 pozitive și al subpopulațiile lor, ca mediatori imuno-endocrini ai procesului inflamator cronic viral, în special influența IL-2, și rolul acestora în patogeneza HVBC și HVCC la copii și menținerea stresului cronic infecțios.

Pe parcursul realizării acestui studiu 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 (standard) la copiii cu HVBC și HVCC.

Au fost elaborați algoritmi de diagnostic precoce și diferențial în diferite forme evolutive de HVBC și HVCC, inclusiv pentru copiii infectați perinatal.

Au fost elaborate metode originale de tratament alternativ inofensiv pentru copiii de diferite vârste, prin utilizarea fitoremediului autohton pacovirină și au fost optimizate principiile de tratament pentru copiii cu HVBC și HVCC. Rezultatele obținute la utilizarea tratamentului cu fitopreparatul autohton de origine vegetală nominalizat au demonstrat că pacovirina are proprietăți de a induce lent și indirect diminuarea viremiei și a activității procesului inflamator în HVBC și HVCC la copii.

Rezultatele cercetării au permis, în premieră, elucidarea aspectelor imunologice vizând patogeneza HVBC și HVCC în funcție de vârstă, forma clinică, activitatea procesului viral hepatic cronic, diagnosticul și particularitățile de evoluție a 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 inflamator hepatic cronic.

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 (biterapie cu interferon alfa 2 beta și ribavirină) la copii. Pentru prima dată, la un număr de 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 pacovirină cu acțiune antivirală, imunomodulatorie, antioxidantă, ca inductor de interferon, cu estimarea eficacității în comparație cu tratamentul standard cu remedii hepatoprotectoare.

Semnificația practică. Rezultatele obținute în studiul prezent argumentează 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 ai hepatitelor virale B și C, în scopul depistării precoce a formelor cronice. Pentru prevenirea infectării perinatale, vertical, cu VHB sau VHC a nou-născuților de către mamele infectate cronic, este necesară creșterea nivelului de educație sanitară ai 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 antiHCV totali pozitivi) în perioada adolescenței, preconcepțională, de asemenea în trimestrele I și II ale sarcinii.

Copiii născuți de mame infectate cu VHB în faza de viremie activă necesită vaccinare anti-HVB obligatoriu în primele 12 ore după naștere și administrarea concomitentă a IgHVB, cu continuarea vaccinării cu următoarele 3 doze, conform Calendarului Național de Imunoprofilaxie.

Pentru medicii de familie, infecționiști, pediatri și gastroenterologi au fost elaborate criterii precoce de diagnostic diferențial ai diferitor forme clinice evolutive și ale celor asimptomatice de HVBC și HVCC la copii. Au fost evidențiate particularitățile biochimice, imunologice și anatomomorfologice ale HVBC și HVCC la copii de diferite vârste, care vor permite medicului practician determinarea semnelor precoce ale maladiei și selectarea diferențiată a tratamentului etiopatogenetic optim. În funcție de forma evolutivă a HVBC sau HVCC, au fost elucidate mecanismele imunologice - aspecte noi în viziunea patogenezei hepatitelor virale B și C cronice la copii, ținând cont de agentul etiologic, formele evolutive ale maladiei hepatice cronice, de nivelul viremiei și activitatea procesului inflamator hepatic.

În urma studiilor efectuate, au fost elaborate criteriile de selectare a copiilor cu HVBC și HVCC pentru tratamentul antiviral cu interferon alfa 2b pegilat și nevirăl cu remedii hepatoprotectoare și pacovirină. În premieră, am demonstrat că pe parcursul tratamentului antiviral cu interferon alfa 2b pacienții cu HVBC și HVCC necesită determinarea în dinamică a statusului imun celular. La pacienții cu HVBC și HVCC ce nu au avut acces la tratamentul clasic antiviral până în 2011 sau care au prezentat contraindicații pentru terapia antivirală cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard) a fost administrat remediu fitoterapeutic autohton pacovirină (substanță biologic activă în concentrație sporită) – ca metodă alternativă de tratament nevirăl, cu elaborarea și recomandarea schemei de administrare și a modalității de utilizare. Proiectul științific al acestei cercetări a fost avizat favorabil de către: Grupul de lucru al experților Ministerului Sănătății din Republica Moldova (proces verbal nr.1 din 10.06.2010 privind necesitatea implementării tratamentului antiviral cu interferon alfa 2b pegilat al HVBC și HVCC la copii; Comisia specializată a Spitalului Clinic Republican pentru Copii (SCRC) “Em. Coțaga” pentru selectarea, inițierea și monitorizarea tratamentului antiviral cu interferon alfa 2b pegilat al HVBC și HVCC la copii (ordin nr.1 din 21.01.2011); Comitetul de Etică a Cercetării al Universității de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu” (proces verbal nr.2 din 21.09.2015).

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 manual “Pediatrie” sub redacția prof. univ. Revenco N.) și în practica medicală cotidiană a medicilor de familie din teritoriile republicii. Autorul a avut contribuție personală, ca 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 în Republica Moldova a programului de tratament antiviral cu interferon alfa 2b pegilat la copiii cu HVBC și HVCC, care continuă să fie realizat până în prezent. Rezultatele obținute în studiul dat, prin fundamentare și argumentare științifică, determină crearea unei noi direcții cu aspect imunologic în domeniul HVBC și HVCC la copii, aplicativă, de importanță majoră în managementul terapeutic al pacientului pediatric. Stabilirea particularităților clinico-paraclinice evolutive ale HVBC și HVCC la copii a condus la elaborarea algoritmilor de diagnostic precoce și diferențial, necesitatea de monitorizare în timp și optimizarea schemelor de tratament prin personalizare, atât cu utilizarea remediilor antivirale clasice cât și prin metode alternative de tratament nevirăl cu remediu autohton pacovirină. Scopul optimal al acestor realizări științifice este elaborarea strategiilor naționale de profilaxie a riscurilor de infectare cu VHB sau VHC din fragedă copilărie,

stabilizarea activității procesului inflamator cronic viral în HVBC sau HVCC și prevenirea progresării maladiei hepatice cronice prin selectarea tratamentelor optimale și efective la copii de diferite vârste, în funcție de gradul de activitate al procesului inflamator și viremie.

Aprobarea rezultatelor. Rezultatele studiilor cuprinse în această teză, au fost prezentate și discutate la următoarele foruri republican și internaționale: 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, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” (Chișinău, 2003); Congresul al V-lea al igieniștilor, epidemiologilor și a 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” (Chisinau, 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 ftiziopneumologie. 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 рождення академіка Л. В. Громашевського (Kiev, 2012); Expoziția Internațională The XVII-th Internațional Exhibition of Research, Innovatin and Technological Transfer „INVENTICA, 2013” (Iași, 2013); Expoziția Internațională Specializată INFO INVENT (Chișinău, 2013; 2015); Conferința Națională de Gastroenterologie și Hepatologie cu participare internațională (Chișinău, 2003; 2009; 2014-2016); Научно-Практическая Конференция с международным участием “Актуальные вопросы эпидемиологии”, посвященної 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”; Государственный Беларусский Медицинский Университет (г. Минск, 2013); Congresul Internațional al Societății Latino-Americane - 23 Congreso de la Asociacion Latino-Americana para el Estudio del Hígado (Cancun I, Mexica, 2014); Congresul Internațional European al Academiei Societății Pediatriche - The 5 th Congress of the European Academy of

Paediatric Societies (EAPS), (Barcelona, 2014); Ședința Societății medicilor Infecționiști din Republica Moldova (Chișinău, 2015); Congresul Internațional 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 Bienală Chișinău-Sibiu organizată de Societatea de Pediatrie din Republica Moldova în comun cu Facultatea de Medicină de la Universitatea “Lucian Blaga” din Sibiu (Chișinău, 2017). Teza a fost discutată și aprobată 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. Epidemiologie, specialitatea 321.09 (proces verbal nr. 2 din 06.10.2017).

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

2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

2.1. Caracteristica generală a cercetării și designul studiului

Materialul clinic pentru întocmirea acestei lucrări științifice a fost acumulat în perioada anilor 2006-2016, investigațiile primare fiind efectuate la baza clinică universitară, în secția de hepatologie pediatrică din cadrul Spitalului Clinic Republican pentru Copii “Em. Coțaga”. Pacienții cu hepatite virale B și C cronice au fost selectați din numărul bolnavilor spitalizați pentru hepatomegalie, cu modificări patologice ale probelor funcționale hepatice, ce au persistat o perioadă mai mare de 6 luni. Ulterior, după confirmarea diagnosticului de hepatită virală B sau C cronică și efectuarea diagnosticului diferențial cu formele subclinice de hepatită acută virală B și C, pacienții au fost incluși în studiu, cu acordul verbal și scris al pacientului și familiei lui. Toți pacienții incluși în cercetare au fost supravegheați în dinamică, fiind respitalizați o dată la 6-12 luni conform indicațiilor clinice sau examinați în dinamică în condiții de ambulatoriu cu efectuarea examenului clinic, biochimic, imunologic, sonografiei abdominale, a elastometriei hepatice sau a FibroTestului. Pentru realizarea obiectivelor cercetării au fost utilizate 3 tipuri de studii: descriptiv, clinic controlat și de cohortă transversal, efectuate în trei etape.

Prima etapă a inclus *studiul descriptiv*, după volumul eșantionului integral pentru a descrie unele aspecte epidemiologice ale hepatitelor virale B și C cronice la copii în Republica Moldova în perioada anilor 2006-2016 și *de cohortă transversal*. Drept *instrument de cercetare* au fost utilizate datele statisticii medicale oficiale privind morbiditatea, invaliditatea și mortalitatea din cauza hepatitelor virale B și C cronice la copii în Republica Moldova.

La prima etapă, din numărul celor spitalizați, au fost selectați copiii cu hepatomegalie, modificări ale probelor funcționale hepatice și marcheri pozitivi pentru hepatitele virale B și C de fază cronică. Colectarea informației generale și a datelor clinice a fost efectuată cu ajutorul anchetei individuale a fiecărui pacient inclus în studiu, elaborată de autor, care conține 224 de întrebări și caracteristici, inclusiv date demografice (vârstă, sex, etnie, loc de domiciliu, modalitatea depistării și durata maladiei cronice, date epidemiologice ce atestă prezența infecției cu VHB sau VHC la membrii familiei, comorbiditățile existente, factorii nocivi de mediu și cei predispozanți infectării), antropometrice (greutatea la naștere, particularitățile de dezvoltare fizică și neuropsihică a pacientului în primul an de viață și în perioada precedent includerii în studiul dat, indicele actual de masă corporală cu aprecierea stării nutriționale), epidemiologice privind modalitatea contractării infecției cu VHB sau VHC, statusul morbid ținând cont de infecțiile virale B sau C cronice existente la mama și tatăl fiecărui pacient, istoricul vieții și al maladiei până la includerea în studiu, prezența în antecedente a intervențiilor chirurgicale,

transfuziilor de sânge sau a derivaților lui, multiplelor manopere parenterale (i/m, i/v), tratamentelor stomatologice, transplantului de țesuturi și organe.

Compartimentul clinic al anchetei individuale a inclus următoarele date: acuzele pacientului, semnele clinice prezente la examenul fizic primar și pe parcursul supravegherii (prezența sindroamelor astenovegetativ, dispeptic, dolor, de colestază, hemoragic, hepatopriv etc.), indicia de laborator (hemoleucograma, trombocitele, bilirubina totală și fracțiile ei, ALT, AST, creatinina, ureea, glucoza, coagulograma, proteina totală și albumina, Fe seric, marcherii VHB și VHC de fază acută și cronică), rezultatele examenului prin sonografie abdominală, gastroscopiei, biopsiei hepatice și ale cercetării histologice a țesutului prelevat privind elasticitatea hepatică, cu indicarea gradului de fibroză hepatică exprimat numeric (F) și în kpa), datele tomografiei computerizate efectuată conform indicațiilor clinice în scop de diagnostic diferențial, ecocardiografiei, precum și concluziile specialiștilor care au examinat pacientul.

La această etapă, copiilor cu HVBC și HVCC incluși în studiu li s-au colectat probele de sânge pentru examinarea în laboratoare specializate. În scopul formării lotului martor (“caz-control”), în timpul vizitelor profilactice au fost examinați în condiții de ambulatoriu 108 copii de vârstă 1-18 ani, considerați anterior condiționat “somatic sănătoși”. Toți copiii din lotul “caz-control” au fost supuși unui examen fizic, li s-au determinat indicia bilirubinei totale și ai fracțiilor ei, ALT, AST, gamaGT, FA, AgHBs, anti-HCV totali, celulele limfocite T CD3 și subpopulațiile lor (la 22 copii), citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α (la 21 copii) pentru calcularea valorilor medii ale parametrilor clinici și imunologici. Din cei 108 copii considerați anterior condiționat “somatic sănătoși”, la 5 (4,6%) au fost decelați marcherii VHB și VHC (AgHBs pozitiv – 3 persoane; anti-HCV totali pozitivi – 2), ei fiind excluși din cercetare.

Studiul de cohortă transversal. Pentru realizarea obiectivelor trasate și determinarea volumului eșantionului reprezentativ de copii cu hepatite virale B și C cronice, numărul necesar de pacienți a fost calculat în baza formulei respective: $n = P(1 - P)(Z\alpha/d)^2$, unde:

d – distanța sau toleranța (d=0.05),

(1- α) – nivelul de încredere – ceea ce semnifică că valoarea estimată este în cadrul distanței proporției cercetate, pentru 95.0% de veridicitate a rezultatelor obținute, $Z\alpha=1.96$

P – conform datelor bibliografice [Centrul Național de Management în Sănătate, 2017] HVBC și HVCC în populația generală (adulți și copii) se întâlnesc în Republica Moldova în medie în 9.0% de cazuri (P=0,09). Introducând aceste date în formulă, am obținut: $n = 0.09 \times 0.91 (1.96/0.05)^2 = 126$, cu rata de 10.0% de nonrăspuns valoarea reprezentativă constituie 140 de

pacienți. Astfel, valoarea reprezentativă pentru acest studiu nu poate fi mai mică de 140 de copii cu hepatite virale B și C cronice.

Instrument de cercetare: chestionar elaborat de autor.

Metode de cercetare: istorică, clinică, paraclinică, instrumentală și histologică, epidemiologie analitică și descriptivă, matematice.

Criterii de includere în cercetare:

- 1) vârsta copiilor între 6 luni - 17 ani 11 luni 29 zile;
- 2) prezența markerilor de fază cronică a infecției cu VHB (AgHBs+, AgHBe+/-, anti-HBe+/-, anti-HBcor totali + sau IgG) și VHC (anti-HCV totali + sau IgG) mai mult de 6 luni;
- 3) absența anticorpilor anti-HBs dobândiți postvaccinal;
- 4) prezența acordului informat verbal și scris din partea pacientului și părinților lui.

Criterii de excludere din cercetare:

- 1) vârsta sub 6 luni;
- 2) durata maladiei cronice mai mică de 6 luni;
- 3) alte forme virale de hepatite cronice (citomegalovirale, induse de virusul herpetic HSV tip 1, HSV tip 2, în cadrul mononucleozei infecțioase), confirmate serologic sau prin tehnici moleculare;
- 4) copii cu forme de hepatită virală B și C acută și markeri anti-HBcor IgM+ și anti-HCV IgM+, 5) copii cu anti-HBs pozitivi obținuți postvaccinal sau posthepatită acută virală B;
- 6) pacienți cu infecția HIV;
- 7) pacienți cu hepatită cronică de etiologie ne virală B sau C (autoimună, hemocromatoză, maladia Wilson, hepatite metabolice etc.);
- 8) lipsa acordului informat din partea părinților sau refuzul copilului de vârstă mai mare de 12 ani de a participa în studiu.

2.2. Descrierea metodelor de cercetare

Diagnosticul de hepatită virală B și C cronică la toți copiii incluși în cercetare a fost confirmat în baza examenelor clinice, biochimice, imunologice și virusologice preventive, conform recomandărilor Clasificării Internaționale a hepatitelor cronice, aprobată de către echipa internațională de experți în domeniu la Congresul Internațional al Gastroenterologilor la Los-Angeles, 1994-1995, și formulat în baza Clasificării Internaționale a Maladiilor, versiunea X-a (CIM-X): hepatita cronică virală B fără agent D (B 18.1); hepatita cronică virală B cu agent delta (B 18.0); hepatita cronică virală C (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, markerii virali VHB de fază acută și cronică (AgHBs, anti-HBs, anti-HBcor IgM și totali) și VHC – anti-HCV IgM și totali; toți pacienții cu AgHBs pozitiv au fost testați la anti-HVD IgM și totali, determinați prin metodă imunoenzimatică ELISA în Laboratorul clinico-biochimic și imunologic al IMSP SCRC “Em. Coțaga” (șef de laborator – dna E. Savciuc; medic imunolog de laborator – dna T. Mereniuc, categorie superioară), sonografia abdominală standard și cu doppler portal (în cazurile de prezență a splenomegaliei), gastroscopia (în subdiviziunea Diagnostic Funcțional a instituției nominalizate, șef – dl E. Talmaci, medic pediatru imagist de categorie superioară), la indicații clinice – scintigrafia hepatică cu Tc (în cadrul Centrului Republican de Diagnosticare Medicală, director general – dl Andrei Testemițanu, dr.șt.med., conf. univ., Chișinău). Gradul de activitate biochimică a procesului cronic hepatic a fost determinat în baza criteriilor clinico-biochimice, cu indicarea gradului de severitate a proceselor necroinflamatorii în ficat, 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 normale; activitate ușoară – majorarea ALT cu 2-3 valori normale; activitate moderată – majorarea ALT cu 4-10 valori normale; activitate severă – majorarea ALT cu mai mult de 10 valori față de cele de referință [87].

Markerii VHB caracteristici pentru HVBC și testați la copiii incluși în studiu au fost următorii: HBsAg+, anti-HBs negativ, anti-HBcor totali +, HBeAg+/-, anti-HBe+/-, anti-VHD 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 determinați următorii markeri ai VHC: anti-VHC IgM și totali determinați prin metoda imunoenzimatică (ELISA), genotipului 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 fracției libere a hormonilor tiroidieni (T₃, T₄, TSH) și a anticorpilor antitiroidieni (anti-TPO și anti-TG) la 29 de pacienți, iar aprecierea funcției endocrine a pancreasului s-a efectuat prin examinarea glicemiei nictemerale, a hemoglobinei glicolizate și a peptidei C la 17 pacienți.

Gradul de fibroză hepatică a fost stabilit prin metoda elastometriei la 60 (33%) copii la aparatul Echosens FibroScan 502, Franța în Centrul de Diagnostic German (Manager General – dl A. Gutu, or. Chișinău). Stadiul hepatitelor virale B și C cronice la copiii incluși în cercetare a fost apreciat după cuantificarea gradului de severitate al fibrozei hepatice (utilizând scala Metavir, 1996) efectuată prin elastometrie sau FibroTest realizat în Laboratorul Synevo, Chișinău) la copii 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 comparație), tratați doar cu hepatoprotectori (34). Numărul necesar de pacienți cu HVBC și HVCC tratați cu pacovirină (în total 33 de copii) pentru cercetare a fost calculat prin utilizarea următoarei formule:

$$n = \frac{1}{(1-f)} \times \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 x P(1-P)}{(P_0 - P_1)^2}, \text{ unde:}$$

P₀ = conform datelor bibliografice [34] probabilitatea efectului așteptat constituie în medie 16.0% (P₀=0.16). P₁ = în lotul de cercetare numărul pacienților care vor fi tratați prin metoda modificată cu pacovirină va fi de 50.0% (P₁=0.50); P = (P₀ + P₁)/2=0.33.

Z_α – valoare tabelară. Când semnificația statistică este de 95.0%, atunci coeficientul Z_α =1.96

Z_β – valoare tabelară. Când puterea statistică a comparației este de 80.0%, atunci coeficientul Z_β = 0.84; f = proporția subiecților care se așteaptă să abandoneze studiul din diferite motive, efectul investigat q = 1/(1-f), f=10,0% (0,1). Introducând datele în formulă, am obținut:

$$n = \frac{1}{(1-0.1)} \times \frac{2(1.96 + 0.84)^2 x 0.33 x 0.67}{(0.16 - 0.50)^2} = 33$$

Criterii de includere în tratamentul cu pacovirină:

1. vârstă copiilor mai mare de 3 ani;
2. nivel de viremie ADN VHB sau ARN VHC măsurat cantitativ;
3. toleranță a formei capsulate de pacovirină de către pacientul selectat;
4. prezența acordului informat al pacientului și părinților acestuia.

Criterii de excludere din tratamentul cu pacovirină:

1. absența markerilor caracteristici infecției cronice cu VHB sau VHC;
2. absența viremiei ADN VHB sau ARN VHC;
3. vârsta copiilor sub 3 ani;
4. lipsa acordului informat din partea pacientului și părinților acestuia;
5. lipsa complianței familiei pacientului la tratament.

La etapa a II-a a studiului de față a continuat selectarea pacienților cu HVBC și HVCC (181 de pacienți) cu diferite forme clinice evolutive, precizarea complexă a diagnosticului prin utilizarea metodelor 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 T₃, T₄, TSH, anti-TPO (anticorpi antitireoperoxidază), anti-TG (anticorpi antitireoglobulină), markerilor autoimuni antihepatici (anti-ANA, anti-LC, anti-SLM, anti-AMA) la 51 copii cu scop de diagnostic diferențial, investigații efectuate în cadrul Centrului Republican de Diagnosticare Medicală (șef de laborator – dna L. Rațiu, medic laborant de categorie superioară) și în cadrul MedExpert (director general - dr.șt.med. 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 în Centrul Medical “Euromed Diagnostic” (director – dl Șevciuc I).

Cuantificarea activității procesului necroinflamator în ficat a fost efectuată prin examinarea țesutului hepatic prelevat, obținut prin puncție-biopsie hepatică cu acul Menghini la 14% (25) din pacienți, realizată conform normelor de etică de autor în sala de operații, cu utilizarea tehnicii asistate de anestezie generală și a regulilor de aseptică), cu calcularea indicelui de activitate histologică (IAH) și a gradului de fibroză hepatică, exprimat în puncte între 0 și 22 (după Knodell), obținute prin suma primelor trei componente [13, 20-22, 28]. Indicele de activitate histologică (IAH) în hepatitele virale B, C cronice a fost calculat în baza cuantificării

prevăzută de Clasificarea Internațională aprobată la 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.

Cercetarea histologică a țesutului hepatic prelevat a fost efectuată în Laboratorul morfopatologic al Institutului Mamei și Copilului (șef – medic morfopatolog, dr.șt.med., cercetător științific superior – dl Petrovici V.), inclusiv în 2 cazuri prin țesut cercetat la necropsie. Explorările morfopatologice au inclus examinarea biopstatelor (țesut hepatic), prealabil fixate în *Sol. Formol* 4%, cu transmiterea în serviciul morfopatologic timp de 1 oră de la prelevare, ulterior tratate conform protocolului standard, utilizând rețeaua de histoprosesare 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 realizat 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 efectuate cu ajutorul Canon PowerShot A1000IS, captate în format JPEG.

La această etapă a fost continuat **studiul clinic controlat** pentru determinarea eficacității tratamentului antiviral al hepatitelor virale B și C cronice la copii. Volumul eșantionului reprezentativ de pacienți a fost calculat în baza aplicării formulei respective:

$$n = \frac{1}{(1-f)} \times \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \times P(1-P)}{(P_0 - P_1)^2} \quad \text{unde:}$$

P_0 = proporția cumulativă a efectelor așteptate la pacienții cu hepatite virale B și C cronice tratați cu remedii antivirale conform protocoalelor internaționale, aprobate pentru copii. În medie el constituie 45.0%, conform diferitor surse bibliografice [Sokal E.M., Paganelli M., Wirth S., Socha P., Vajro P., Lacaille F., Kelly D., Mieli-Vergani G. Management of chronic hepatitis B in childhood: 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. 814–829.; Kross M. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. *EASL. J Hepatology*, 2014. V.60. P. 392-420], ($P_0=0.45$).

P_1 = proporția pacienților cu hepatite virale B și C cronice în lotul de cercetare. Am

estimată că rata efectului așteptat în urma tratamentului antiviral propus (monoterapie cu INF alfa 2b pegilat în HVCB și combinat cu ribavirină în HVCC) va fi în medie de 45.0% ($P_0=0.45$).

P_1 = în lotul de cercetare pacienții ce vor urma monoterapia cu INF alfa 2b pegilat în HVCB și combinat cu ribavirină în HVCC, care vor fi tratați prin metoda modificată vor fi de 15.0% ($P_1=0.15$); $P = (P_0 + P_1)/2=0.30$

Z_α – valoare tabelară. Când semnificația statistică este de 95.0%, atunci coeficientul $Z_\alpha = 1.96$. Z_β – valoarea tabelară. Când puterea statistică a comparației este de 80.0%, atunci coeficientul $Z_\beta = 0.84$. f = proporția subiecților care se așteaptă să abandoneze studiul din diferite motive $q = 1/(1-f)$, $f=10,0\%$ (0,1). Introducând datele în formulă, am obținut:

$$n = \frac{1}{(1-0.1)} \times \frac{2(1.96 + 0.84)^2 \times 0.30 \times 0.70}{(0.45 - 0.15)^2} = 41$$

Așadar, pentru stabilirea eficacității tratamentului antiviral propus valoarea reprezentativă a lotului de cercetare nu poate fi mai mică de 41 de pacienți cu hepatite virale B și C cronice fiecare, în număr total de 82.

La a III-a etapă a cercetării în sângele a 49 de pacienți (27%) cu HVBC și HVCC, în funcție de faza procesului viral VHB sau VHC și activitatea procesului hepatic, au fost determinate valorile serice ale citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α . Reactivii pentru cercetare 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 de proiect – dl Prisăcari V., dr.hab.șt.med., profesor universitar, membru corespondent al Academiei de Științe din Republica Moldova, Om Emerit). Nivelul seric al IL-2, IL-6 și TNF- α , markerii serici AgHBs și anti-HCV totali la copiii din lotul (LS) „caz-control” au fost testați în laboratorul imunologic al IMSP SCRC „Em. Coțaga”, prin aplicarea metodelor imunoenzimaticice.

Statusul imun umoral a inclus determinarea IgA, IgM, IgG după metoda Mancini la 81 (45%) de pacienți cu HVBC și HVCC, iar statusul celular – determinarea celulelor T limfocitare CD3 și imunofenotiparea lor, cu utilizarea anticorpilor monoclonali (Bektrop Bect, Rusia) prin metoda automatizată de citometrie de flux (executor – dna E. Somății, dr.șt.med., medic imunolog, Laboratorul imunologic, MedExpert) în 50 de cazuri. Sângele pentru testarea statusului imun celular a fost colectat cu acordul părinților pacientului, fiind asigurată transportarea lui în

laborator în primele 3 ore după colectare. Refrigerarea materialului biologic nu a fost admisă. Concomitent a fost apreciat numărul relativ și absolut al celulelor T limfocitare CD3 și al subpopulațiilor lor.

La această etapă, a continuat studiul clinic controlat la 96 (HVBC – 48; HVCC – 48) de copii, cu determinarea eficacității tratamentului antiviral 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:

1. vârsta copilului 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);
2. HVBC cu viremie VHB mai mare de 2000 ui/ml, ALT mai mare de 30 ui/l și AST majorat;
3. HVCC cu genotip VHC determinat, viremie exprimată prin ARN VHC pozitivă și măsurată cantitativ prin PCR Real Time;
4. durată mai mare de 6 luni a sindromului de citoliză peste 2 x valori normale;
5. 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 Pugh A, B, C;
6. prezența acordului informat al pacientului și părinților acestuia.

Criteriile de excludere din tratamentul antiviral cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard) monoterapie (HVBC) sau combinat cu ribavirină (HVCC):

1. vârsta copiilor mai mică de 3 ani;
2. lipsa acordului informat și a complianței la tratament a părinților și pacientului;
3. absența viremiei VHB și VHC exprimată prin ADN VHB și ARN VHC;
4. reacțiile alergice în antecedentă și apărute la inițiere, intoleranța remediilor antivirale INF alfa 2b pegilat (sau standard) sau a ribavirinei.

Metode de acumulare a datelor primare: completarea chestionarului elaborat de autor pentru cercetarea dată, extragerea datelor din documentația medicală, rezultatele vizitelor repetate, date raportate prin studii similare efectuate de autori din diferite țări. Remediile INF alfa 2b pegilat „PegIntron” (sau standard) și ribavirină „Rebetol” au fost oferite gratuit pacienților pe toată perioada tratamentului în cadrul Programului Național de combatere a hepatitelor virale B, C, D în Republica Moldova (conducător de program – C. Spînu, dr.hab.șt.med., prof. univ., Laureat al Premiului Național, Om Emerit, specialist al Ministerului Sănătății în probleme de virusologie medicală), prin susținere financiară de către Compania Națională de Asigurări în Medicină. Interferonul alfa 2b standard a fost parțial oferit de Ministerul Sănătății al Republicii Moldova și de familia pacientului.

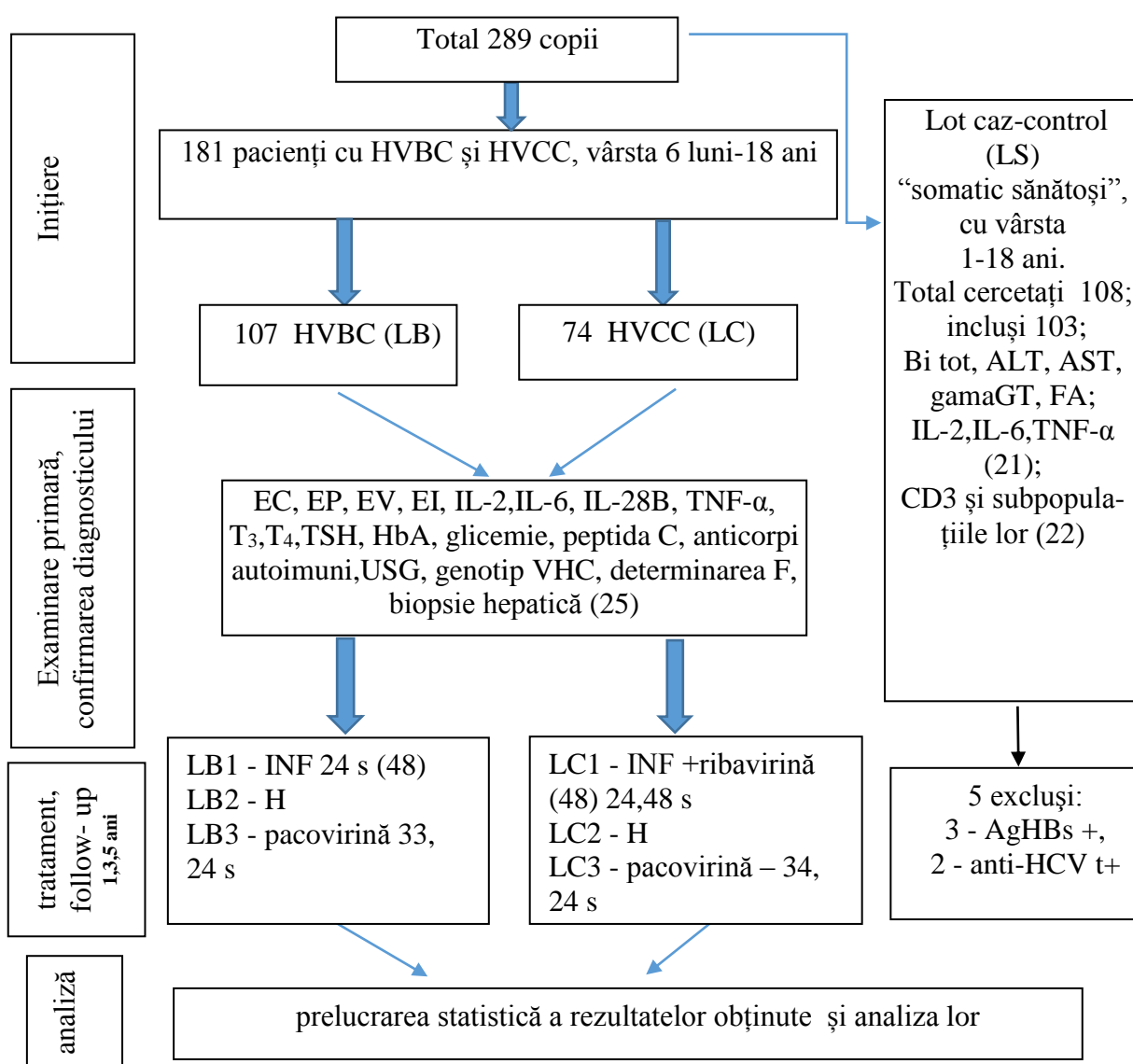


Fig. 2.1. Designul cercetării

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

Remediul fitoterapeutic autohton pacovirină a fost furnizat gratuit pacienților, pentru o perioadă de 24 de săptămâni, în cadrul proiectului științific “Contribuții în tratamentul hepatitelor virale și profilaxia cirozelor hepatice la copii prin utilizarea preparatului autohton pacovirină (perioada realizării 2009 – 2012, coordonator de proiect – dl C. Spînu, dr. hab. șt. med., prof. univ., Agenția Națională de Sănătate Publică; executor – autorul).

Pacienții incluși în tratamentul antiviral cu INF alfa 2b și pacovirină (Figura 2.1.) au fost monitorizați lunar, apoi o dată la trei luni, iar după încheierea tratamentului – o dată în 6, 12, 18 luni, peste 3 și 5 ani, cu efectuarea cercetărilor clinice, imunologice complexe în dinamică, examinarea cantitativă a ARN VHC, ADN VHB prin metoda PCR Real Time, a statusului imun celular și umoral, hormonal al tiroidei, a modificărilor hepatice la sonografia abdominală, inclusiv cu doppler portal, a dinamicii gradului de fibroză hepatică prin elastometrie sau FibroTest.

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 cu anexele ei (formularul F 003/e), documentația medicală primară (formularele F 112/e, 025/e), copiile rezultatelor cercetării clinico-paraclinice efectuate în condiții de ambulator, aprobate de Ministerul Sănătății al Republicii Moldova (ordinul nr. 828 din 31.10.2011).

Tema tezei de doctor habilitat în științe medicale a fost aprobată în cadrul ședinței din 16.06.2015 a Catedrei Boli infecțioase a Facultății de Educație Continuă în Medicină și Farmacie, USMF “Nicoale Testemițanu” (copia procesului verbal și copia adnotării sunt anexate). Proiectul științific de cercetare cu titlul “Hepatitele virale B și C cronice la copii: particularitățile clinice, imunologice, evolutive și optimizarea tratamentului antiviral” a fost examinat la ședința din 14 septembrie 2015, procesul verbal nr. 2 al Comitetului de Etică a Cercetării, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu” cu decizia corespunderii exigențelor etice (copia este anexată).

2.3. Metodele de prelucrare statistică a bazei de date

Datele clinice și paraclinice obținute au fost introduse în Ancheta individuală a cercetării pacientului cu HVBC sau HVCC, în fișa-cod individuală pentru fiecare caz, fiind prelucrate statistic computerizat, prin metode de analiză variațională, dispersională, corelațională, descriptivă și discriminantă. Rezultatele obținute au fost evaluate și analizate prin intermediul programelor Statistica 6.0 (Statsoft Inc) și EXCEL, utilizând funcțiile și modulele acestor programe.

Prelucrarea statistică a valorilor calitative și cantitative a fost realizată de dl Jucovschi Constantin, specialist în statistică medicală, la PC în programele Excel-2010, Statistica 4,7 Stat.ru, cu calcularea valorilor medii aritmetice, a deviației standard, compararea datelor prin aplicarea criteriilor parametrice t-Student, Fisher, a indicelui de corelație, cu determinarea coeficientului Pearson și a veridicității lui, calcularea riscurilor relative și a intervalului de încredere al rezultatelor tratamentului antiviral și neviral efectuat, folosind datele clinice și paraclinice ale monitorizării pacienților în timp la 1, 3, 5 ani.

2.4. Concluzii la Capitolul 2

1. Capitolul 2 (subcapitolul 2.1) include caracteristica generală a cercetării, cu prezentarea designului studiului (subcapitolul 2.2). În acest capitol au fost redate detaliat etapele realizării cercetării efectuate, metodologia selectării pacienților cu HVBC și HVCC, de chestionare a pacienților în baza anchetei individuale elaborată de autor, cu colectarea datelor demografice, evidențierea particularităților epidemiologice în fiecare caz concret, a semnelor clinice, paraclinice, anatomopatologice, a rezultatelor cercetării histologice a țesutului hepatic prelevat prin biopsie, efectuată în premieră de autor la copiii cu patologie cronică hepatică. Este descrisă etapa a II-a a studiului cu formarea stocului de probe de sânge pentru determinarea citochinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α . La această etapă au fost selectați pacienții cu HVBC și HVCC pentru formarea loturilor de bază și creat lotul copiilor “caz-control”.

2. În subcapitolul 2.2 sunt descrise criteriile de confirmare a diagnosticului de HVBC și HVCC la copiii incluși în cercetare, modalitatea completării loturilor de bază, cercetările statusului imun umoral și celular al limfocitelor T CD3 și subpopulațiilor lor, funcțiile hormonale tiroidiene și ale pancreasului; metodologia de inițiere a studiului clinic controlat și determinarea eficacității pacovirinei în tratamentul HVBC și HVCC la copii. De asemenea, în acest subcapitol sunt expuse criteriile de includere și excludere din cercetare; maniera monitorizării indicilor clinici, imunologici, virusologici, dinamica modificărilor instrumentale. Capitolul descrie realizarea etapei a III-a a cercetării consacrată studierii rolului citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α în loturile de bază și în grupul copiilor “caz-control”.

3. La această etapă a continuat acumularea datelor referitoare la imunitatea celulară și umorală la pacienții cu HVBC și HVCC, studiul clinic controlat cu determinarea eficacității INF alfa 2b pegialt (sau standard) monoterapie în HVBC și combinată cu ribavirină în HVCC. Capitolul conține descrierea criteriilor de includere în cercetare și a celor de excludere.

4. În capitolul de față a fost elucidată metodologia confirmării diagnosticului de HVBC și HVCC la copiii incluși în cercetare, cu utilizarea unui spectru larg și contemporan de metode clinice, biochimice, imunologice, virusologice, anatomomorfologice complexe (sonografie abdominală, elastometrie, FibroTest, biopsie hepatică, tomografie computerizată, rezonanță magnetică nucleară, scintigrafie), consultația cu specialiștii de profil pediatric în cazuri individuale. Datele clinice colectate au format baza de date, care au fost codificate în fișa-cod standard și prelucrate statistic, prin utilizarea metodelor matematice contemporane, ce a permis determinarea veridicității rezultatelor obținute.

3. HEPATITELE VIRALE B ȘI C CRONICE LA COPII ÎN REPUBLICA MOLDOVA. FRECVENȚA, FACTORII DE RISC, PARTICULARITĂȚILE EPIDEMIOLOGICE, CLINICE, PARACLINICE, FORMELE EVOLUTIVE

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

Hepatita virală B ca nosologie separată a început a fi înregistrată în Republica Moldova din 1966 (Spânu C. și col., 2008). Frecvența decelării AgHBs la populația generală a republicii variază în jur de 2-7%, iar a anti-HCV totali atinge 5%, această pondere fiind mult mai înaltă, comparativ cu alte țări europene [28]. Riscul de infectare cu VHB sau VHC pe parcursul vieții pentru toate grupele de vârstă ale populației generale în plan național constituie 20-60% [33]. În 1989 în Republica Moldova pentru prima dată a fost inițiată vaccinarea selectivă antihepatită virală B a nou-născuților de mame cu AgHBs pozitiv, fapt ce a condus la implementarea imunizării specifice anti-HVB a nou-născuților din maternitate, începând cu 1994, și a unor categorii de populație cu risc sporit (colaboratorii medicali, copiii din focarele familiale), în scopul reducerii morbidității prin HVB la copii și adulți [14, 33]. Începând cu 1997 și până în prezent în Republica Moldova continuă realizarea măsurilor profilactice complexe, vaccinarea și revaccinarea copiilor și a persoanelor cu risc sporit de infectare din toate regiunile republicii în cadrul celor patru Programe Naționale de combatere a hepatitelor virale B, C, D [14, 33].

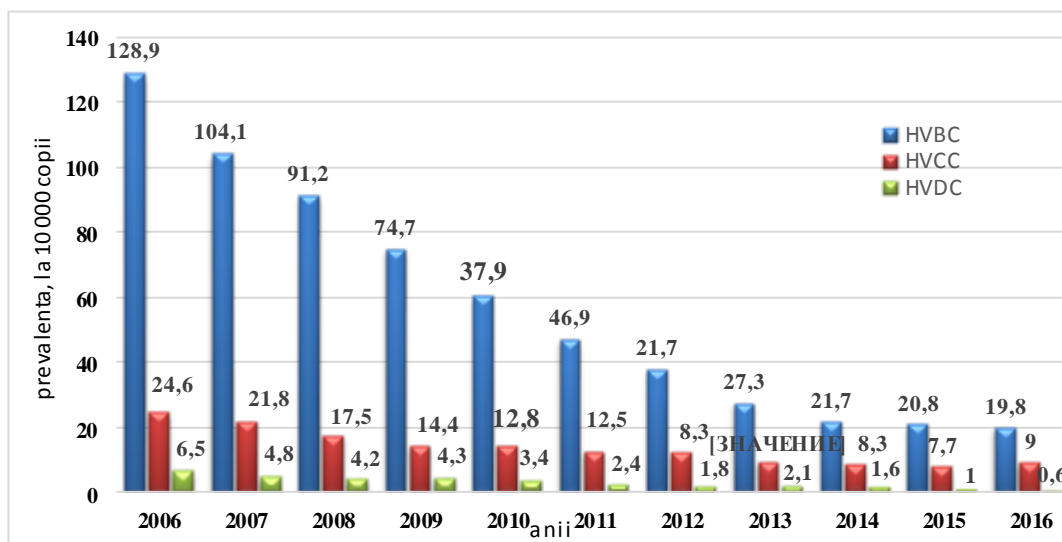


Fig. 3.1. Dinamica prevalenței morbidității prin hepatite virale B, C, D cronice la copii în perioada anilor 2006-2016, Centrul Național de Management în Sănătate, 2017

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). Conform datelor Centrului Național de Management în Sănătate pentru aceeași perioadă, incidența prin HVBC la copii 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 3.2).

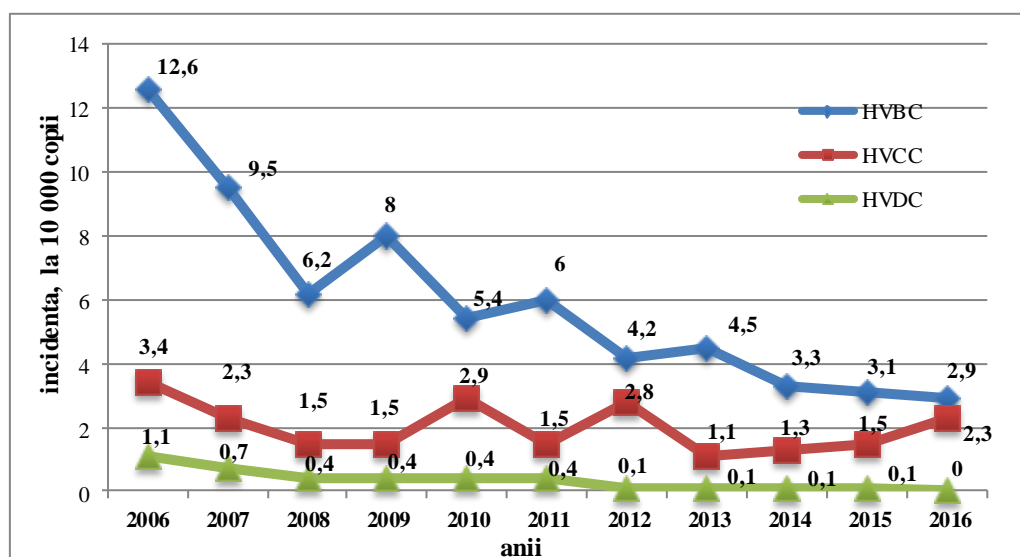


Fig. 3.2. Dinamica incidenței prin HVBC, HVCC și HVDC la copii în perioada anilor 2006-2016, Centrul Național de Management în Sănătate, 2017

Este important de menționat că simultan cu ameliorarea situației epidemiologice și a indicatorilor de sănătate privind morbiditatea prin hepatită virală B cronică la copii, au fost obținute succese considerabile în minimalizarea incidenței și prevalenței îmbolnăvirilor prin HVBC cu agentul delta – maladie care are un prognostic evolutiv mai rezervat, comparativ cu HVBC fără agentul delta [37, 38, 41].

Analiza demografică a dinamicii numărului absolut al copiilor de vârsta 0-17 ani 11 luni 29 zile diagnosticați cu hepatite virale B, C cronice, aflați în evidență în ultimii 10 ani, a constatat o dinamică pozitivă, cu diminuarea lor dramatică, care se datorează succeselor și realizărilor sistemului de sănătate publică în plan național și eficacității măsurilor profilactice specifice și nespecifice aplicate. Cu toate acestea, natalitatea redusă din ultimii ani și creșterea numărului absolut al copiilor diagnosticați cu HVCC în ultimii trei ani, semnalează existența problemelor diagnostice și curative privind sănătatea copiilor. Astfel, în perioada 2016-2017 în Republica Moldova în supravegherea medicilor de familie se aflau 249 de copii (cazuri noi diagnosticate în anul precedent) cu vârsta sub 18 ani, care suferă de hepatite virale B și C cronice confirmate, dintre care: 139 (56%) prezintă HVBC fără agent delta, 55 (22%) – HVCC și doar 4 (1,6%) cazuri de HVBC cu agent delta (Figura 3.3). La începutul anului 2018 au fost raportate 32 de cazuri de

hepatită cronică, inclusiv: HVBC fără agent delta - 16, HVCC - 9, HVCB cu agent delta - 1 și HC de etiologie nedeterminată - 6.

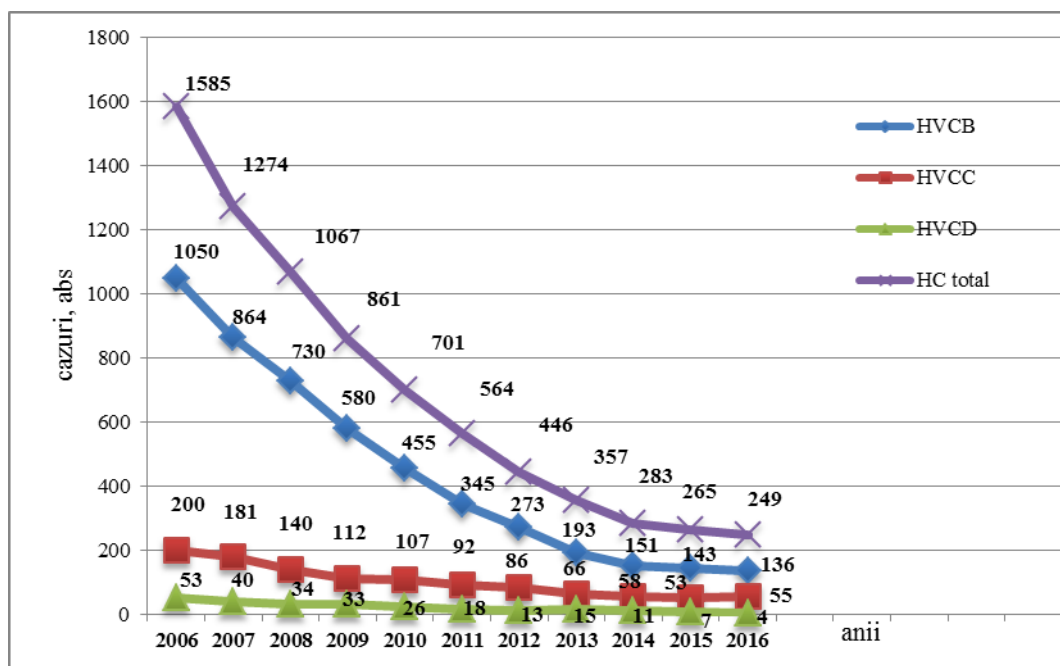


Fig. 3.3. Dinamica copiilor (cifra abs) suferinzi de HVBC cu agent delta și fără agent delta, HVCC aflați în evidență în perioada anilor 2006-2016 (Centrul Național de Management în Sănătate, 2017)

Structura etiologică a hepatitelor cronice la copii în Republica Moldova (Figura 3.4) constată că HVBC este o maladie predominantă, cu toate că incidența și prevalența prin această boală sunt în descreștere, iar ponderea HVCC la copii în ultimii ani are o dinamică spre majorare. Acest fenomen necesită explicație evidențiind factorii și mecanismele infectării copiilor cu VHB sau VHC, ce contribuie la menținerea lanțului epidemiologic și cronicizarea infecției, începând din fragedă copilărie. Este necesară stabilirea contingentelor de copii frecvent afectați, studierea minuțioasă a mecanismelor de circulație a virusurilor hepatotrope printre copiii de diferită vârstă, precum și revizuirea unor măsuri de supraveghere și a sistemului de control al hepatitelor virale B, C cronice în rândul populației generale și la copii, cu optimizarea măsurilor de profilaxie nespecifică și specifică.

Succesele marcante din ultimii ani în combaterea hepatitelor virale B, C, D în plan național prin introducerea vaccinării anti-HVB la nou-născuți, începând din maternitate, și a persoanelor cu risc sporit, modificarea schemei de vaccinare antihepatită virală B în Calendarul Național de Imunoprofilaxie cu administrarea a 4 doze de vaccin anti-HVB, utilizarea maximală în instituțiile medicale a instrumentelor medicale de uz unic și introducerea tehnologiilor sigure și calitative de sterilizare a dispozitivelor medicale, instrumentelor chirurgicale și endoscopice au contribuit considerabil la reducerea numărului cazurilor de hepatită acută virală B și C la copii. În același

timp este necesar de a semnală existența unui număr impunător de bolnavi asimptomatici infectați cronic cu VHB sau/și VHC, cu forme “oculte” de HVBC și HVCC și nediagnosticați, inclusiv printre copii și adolescenți, care sunt sursa potențială de infecție. Cu toate că Programul Național de combatere a hepatitelor virale B, C, D realizat în perioada anilor 2012 - 2016 a inclus revaccinarea copiilor vaccinați anterior, astăzi nu este cunoscută situația reală pe termen lung privind starea imunității anti-HVB dobândită postvaccinal la cei vaccinați în perioada 1998-2012. Putem admite că o parte dintre acești copii vaccinați anti-HVB la naștere au pierdut imunitatea dobândită postvaccinal, astfel devenind vulnerabili la vârsta adolescentului sau copilului mare către infecția cu VHB.

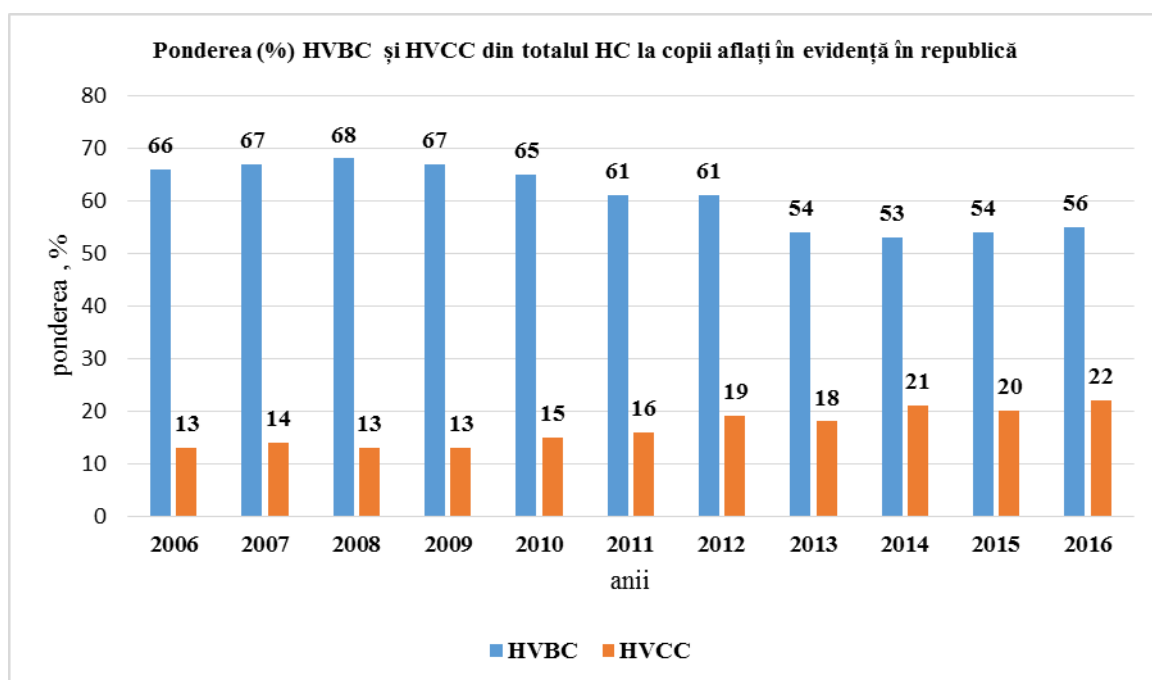


Fig. 3.4. Dinamica HVBC și HVCC (%) din totalul hepatitelor cronice la copii în Republica Moldova în perioada anilor 2006-2016 [28].

Conform datelor prezentate în Figura 3.4, în ultimii 10 ani HVBC fără agent delta la copii a avut și continuă să aibă o pondere înaltă în structura hepatitelor cronice în Republica Moldova de 66 % (2006) cu o diminuare ușoară până la 56% în 2016, iar HVCC – este în creștere progresivă de circa 2 ori: de la 13% (2006) până la 22% (2016).

Datele raportate în Rusia indică o pondere de 15 – 20% a HVBC din totalul hepatitelor cronice la copii, valoare mult mai mică, comparativ cu Republica Moldova, iar ponderea HVCC este de 30-50%, ceea ce sugerează o depistare activă a bolnavilor cu infecția cronică cu VHC în rândul copiilor [62].

Persistența ponderii înalte a bolnavilor cu HVBC și tendința de creștere a celor cu HVCC impune necesitatea revizuirii programelor profilactice celor axate ținut pe ameliorarea sănătății

copiilor prin aceste maladii infecțioase cronice, dirijate de Sistemul de Sănătate din republică, orientate spre depistarea activă și precoce a persoanelor infectate cronic, celor cu risc sporit și formarea unei strategii unice de consensus privind tratamentul etiopatogenetic cost-eficient în hepatitele virale B și C cronice la populația pediatrică.

Profilaxia primară și cea secundară ale infecției cu VHB sunt direct proporționale cu vaccinarea anti-HVB la copii și în populația generală, iar în cazurile infecției cu VHC – cu sporirea nivelului de educație sanitară al populației generale și asigurarea înalt calitativă a actului medical în instituțiile medico-sanitare publice și private.

Conform datelor statistice prezentate mai sus, din numărul total de 249 de copii cu hepatite cronice diagnosticați primar și aflați în evidența medicilor de familie în întreaga republică, 73% (181) au fost incluși în cercetarea de față, inclusiv 59,1% (107 pacienți) cu HVBC; 40,9% (74 pacienți) cu HVCC, (Figura 3.5).

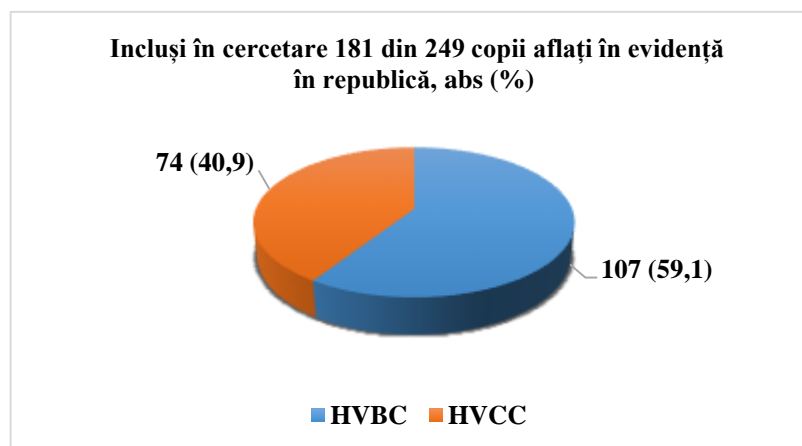


Fig. 3.5. Ponderea copiilor cu HVBC și HVCC incluși în cercetare

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, dar rămânând nediagnosticați. Cele mai dificile în plan diagnostic sunt formele “oculte” de infecție cronică cu VHB sau VHC, care necesită investigații costisitoare la marcherii virali, inclusiv cu utilizarea metodelor virusologice prin PCR și supravegherea de către specialiști experimentați în domeniu. Acest fapt, în opinia noastră, accentuează deficiențele existente în plan epidemiologic, reprezentate de executarea cu carențe a procesului de recunoaștere precoce a diagnosticului și depistarea activă a marcherilor infecției cu VHB și VHC la femeile gravide și fetițele adolescente; la examinarea preoperațională a copiilor programați pentru intervenții chirurgicale sau la pacienții cu transfuzii de sânge sau produse ale lui, prevăzută în programele naționale existente; a celor supuși dializei și a recipientilor de țesuturi și organe, neefectuarea administrării activ-pasive a IgHVB în plan național nou-născuților mamelor cu AgHBe pozitiv sau

bolnave de HVBC cu viremie VHB. Infectarea perinatală, vertical, a nou-născuților cu VHB sau VHC de către mamele lor infectate cronic este una dintre cele mai actuale probleme de care sunt preocupați experții în domeniu în plan mondial. Pentru facilitarea depistării active a infecției cronice cu VHB sau VHC în rândul copiilor este necesară executarea cu strictețe a programului national de imunoprofilaxie activ-pasivă, luarea de măsuri pentru producerea în țară a imunoglobulinei specifice IgHVB folosită în profilaxia activ-pasivă atât la nou-născuții cu risc de infectare perinatală, cât și la alte categorii de copii și adulți cu risc sporit de contaminare cu VHB. Se impune un program multidimensional și complex de ameliorare a sănătății copiilor din republică, necesar sistemului de ameliorare a calității vieții.

Tabelul 3.1. Caracteristica de bază a parametrilor principali la copiii cu HVBC și HVCC la includerea lor în cercetare

Parametrii	HVBC (LB) n=107 (59,1%)	HVCC (LC) n=74(40,9%)	total, n=181	p
Vârsta medie, ani	10,7±0,5	11,4±0,5	11±5,2	>0,05
Vârsta medie la depistare	6,3±5,3	5,4±0,5	3,5±0,4	<0,05
Sexul: masculin, n (%)	64 (59,8)	46 (62)	110 (60,8)	>0,05
feminin, n (%)	43 (40,2)	28 (38)	71 (39,2)	>0,05
Domiciliu: urban, n (%)	33 (31)	34 (46)	67 (37)	<0,05
rural, n (%)	74 (69)	40 (54)	114 (63)	<0,05
IMC*, kg/m ²	18,3±2,5	18,7±2,9	18,5±2,7	>0,05
Bi tot*, mcmol/l	15,8±1,1	20,1±3,2	17,5±19,8	>0,05
ALT*, ui/l	66±5,6	73±9,8	69±5,2	>0,05
AST, ui/l	55±6,3	59±6,5	59±4,6	>0,05
Viremie*, ui/ml	1 914 201 586± 1 272 910 855	2 871 671± 1 137 741	9 170 372 876± 731 875 432	>0,05
AgHBe pozitiv, n (%)	70 (65,4%)	-	70 (65,4%)	<0,001
Genotip VHC, abs (1/2/3a)		66/2/6	66/2/6	>0,05
Grad de elasticitate*, kpa (n)	5,8±0,4 (24)	5,4±0,2 (47)	5,5±0,2 (71)	<0,05
Stadiul fibrozei hepatice, n (%), inclusiv:	27 (23%)	33 (45%)	60 (33)	<0,05
F0-F1	17 (63%)	27 (82%)	44 (73)	<0,05
F1-F2	4	6	10 (16)	<0,05
F2-F3	4	0	4 (7)	<0,05
F3-F4	2	0	2 (3)	<0,05
IAH (biopsie hepatică), *(n)	8±1,8 (19)	4±2,1(6)	7,3±1,5 (25)	>0,05
Tratament antiviral cu INF alfa 2b, nr abs (%), inclusiv:	48 (45)	48 (65)	96 (53)	>0,05
RVS, n (%)	15 (32)	29 (60)	44 (46)	<0,001
RVP, n (%)	16 (33)	11 (23)	27 (28)	<0,001
NR	17 (35)	8 (17)	25 (26)	<0,001

Notă: * - valoarea medie și eroarea standard, IMC-indicele de masă corporală Kettle, Bi - bilirubina totală, IAH - indicele de activitate histologică, F – gradul de fibroză, RVS- răspuns virusologic susținut, RVP- răspuns virusologic parțial, NR- absența răspunsului.

În Tabelul 3.1. sunt prezentate caracteristicile generale și parametrii principali ai HVBC și HVCC la copiii incluși în studiu. Pacienții cu HVBC au avut vârsta medie de $10,7 \pm 0,5$ ani, iar cei cu HVCC – de $11,4 \pm 0,5$ ani; cu predominarea sexului masculin în 60,8% de cazuri ($p > 0,05$) și a celor din mediul rural în 63% (Figura 3.7), ($p < 0,05$).

În aspect etnic, 80,6% din pacienți cu HVBC și HVCC cronică erau moldoveni (HVBC – 86 copii; HVCC – 60 copii), ($p > 0,05$). Vârsta medie a copiilor la care a fost depistată HVBC a fost de $6,3 \pm 5,3$ ani, iar a celor cu HVCC – de $5,4 \pm 0,5$ ani, cu o semnificație relevantă statistică ($p < 0,05$). Aceste date demonstrează vulnerabilitatea copiilor de vârstă fragedă (5-6 ani) față de infecțiile cu VHB și VHC, existența dificultăților în plan diagnostic legate de HVBC și HVCC la această categorie de copii, cu depistare tardivă a acestor hepatopatii cronice infecțioase. Datele prezentate în Figura 3.1.6 relevă că ponderea hepatitei virale B sau C cronice la copii este direct proporțională cu vârsta. În grupul de vârstă al copiilor sub un an de viață HVBC și HVCC au fost rar diagnosticate. Printre copiii cu vârsta între 2 - 4 ani și 5 - 9 ani a predominat HVBC în 63% și 59% din cazuri respectiv, iar la cei de 10-14 ani – în 70% din cazuri, fenomen dramatic pe fundalul programului de vaccinare specifică anti-HVB. Printre copiii cu vârsta cuprinsă între 15-18 ani cazurile de HVBC și HVCC s-au atestat într-o proporție egală de 50% ($p < 0,05$).

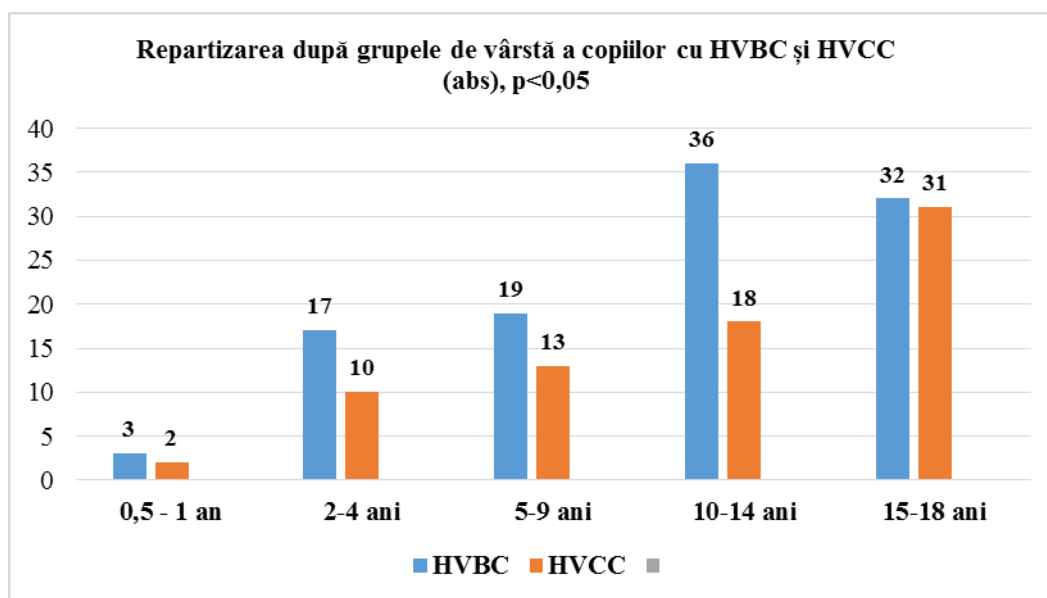


Fig. 3.6. Repartizarea copiilor cu HVBC și HVCC investigați după grupele de vârstă

Datele prezentate în Figura 3.6 arată că hepatitele virale B și C cronice cel mai frecvent sunt întâlnite la copiii de vârstă adolescenței, aceasta fiind una vulnerabilă prin particularitățile

fiziologice, restructurările produse în sistemul imun umoral și celular al copilului în creștere, ale statusului endocrin și, în special, cele legate de funcționalitatea glandei tiroide.

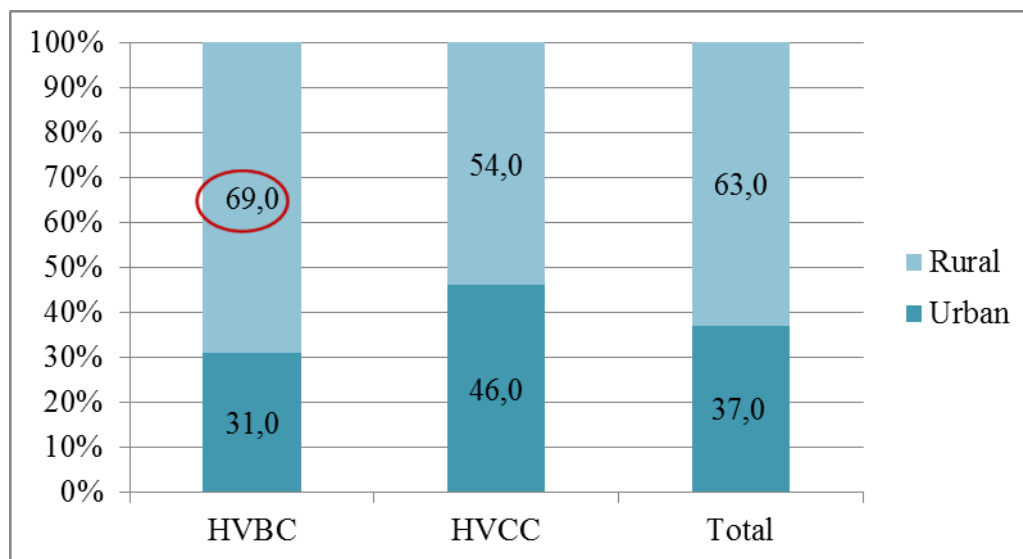


Fig. 3.7. Repartizarea pacienților cu HVBC și HVCC în funcție de mediul de trai (%), ($p_1, p_2 < 0,05$)

Analizând dependența formei cronice de infecție cu VHB sau VHC de mediul de trai a copiilor incluși în cercetare (Figura 3.7), se poate constata că hepatita virală B cronică (69%) și hepatita virală C cronică (54%) au o frecvență mai mare la cei domiciliați în mediul rural, comparativ cu cei din mediul urban ($p_1, p_2 < 0,05$).

Distribuția geografică a pacienților cu HVBC și HVCC (Figura 3.8) este neuniformă, reprezentată în 30 de raioane administrative ale Republicii Moldova, cu o înaltă veridicitate statistică: 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 fiind a copiilor din regiunile centrală și sudică ale Republicii Moldova ($p < 0,05$). Aceste date pe departe nu reflectă situația reală privind morbiditatea prin hepatite virale B și C cronice în rândul copiilor, în condițiile când acești indici la adulți sunt în creștere continuă, cu o rată înaltă de evoluție spre ciroză hepatică sau hepatocarcinom. Problema hepatitelor virale B sau C cronice la adulții tineri apți de muncă cu probabilitate se regăsește printre pacienții pediatrici.

Stabilirea definitivă a diagnosticului de HVBC și HVCC la copiii de diferită vârstă este rezultatul unui examen clinico-biologic complex și multilateral, cu utilizarea testelor funcționale specifice de înaltă sensibilitate, a celor imunologice, virusologice,antomopatologice contemporane, care deseori au nevoie să fie reevaluate în dinamică, în strânsă colaborare între specialiștii experimentați din domeniu cu cei de alt profil, implicând o mare responsabilitate decizională terapeutică. Distribuția geografică neuniformă și diminuarea dramatică a pacienților

pediatrici cu HVBC și HVCC în Republica Moldova reprezentată în Figura 3.1.8, pe fundalul indicilor similari ai morbidității la adulți în creștere, reflectă dificultățile diagnostice existente și la copii privind depistarea activă și precoce a infecției cronice cu VHB și VHC.



Fig. 3.8. Distribuția geografică a pacienților cu HVBC și HVCC (nr. abs), ($p < 0,05$)

Un factor important pentru dezvoltarea fizică echilibrată și proporțională a copilului este starea nutrițională a acestuia, începând de la naștere. Infecțiile cronice virale provocate de VHB sau VHC pot induce tulburări secundare de creștere și retardul staturo-ponderal la copii, astfel afectând dezvoltarea fizică normală și echilibrată. În scopul aprecierii statusului nutrițional la copiii cu HVBC și HVCC incluși în cercetare, ne-am propus evaluarea indicelui de masă corporală

(IMC, kg/m²) Ketle (Figura 3.9). Rezultatele obținute au demonstrat că dezvoltarea fizică a copiilor cu HVBC și HVCC la momentul includerii în cercetarea actuală a fost apreciată ca una armonioasă, ei având un status nutrițional corespunzător și o valoare medie a IMC Ketle de 18,5±2,7 kg/m² și un status psihoneurologic adecvat vârstei.

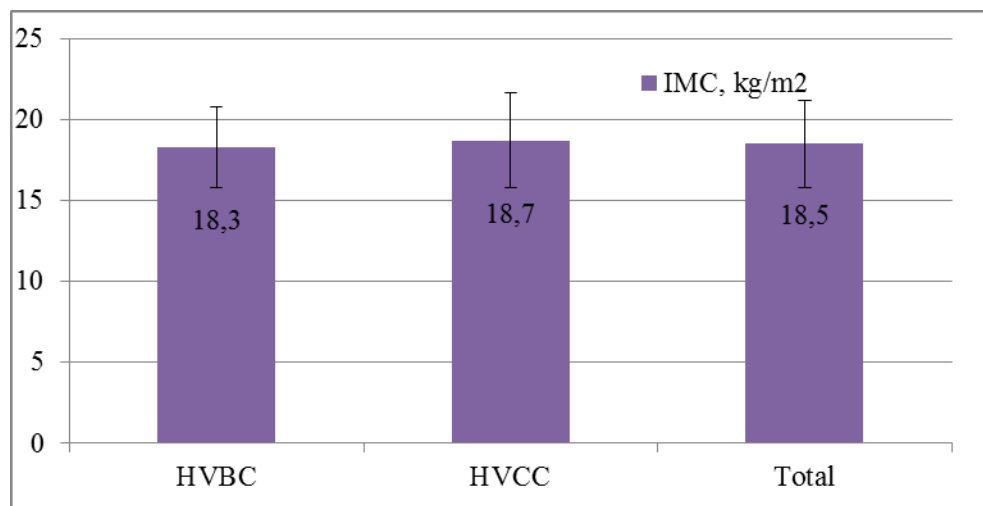


Fig. 3.9. Indicele de masă corporală Ketle (kg/m²) la copiii cu HVBC și HVCC

Datele obținute prin anchetarea copiilor și părinților acestora au constatat că diagnosticul de HVBC și HVCC a fost presupus pentru prima dată la vârsta medie a copiilor de 6,3±0,4 ani (HVBC - 5,8±0,5 ani; HVCC - 7,7±0,6 ani), odată cu depistarea primară a markerilor specifici pentru hepatitele virale B sau C și confirmarea diagnosticului de hepatită cronică virală ($p < 0,05$).

Durata medie a perioadei de confirmare a diagnosticului de hepatită virală cronică B sau C, de la momentul posibilei infectări și până la constatarea semnelor clinico-biologice caracteristice hepatitei virale B sau C cronice, a fost de 5,8±0,5 ani în HVBC și 3,8±0,4 ani în HVCC, cu o înaltă veridicitate statistică ($p < 0,05$).

Anamnesticul vieții și istoricul hepatitei virale B sau C cronice la fiecare pacient inclus în studiu a evidențiat faptul că în 85% din mamele acestor copii au avut o evoluție a sarcinii fiziologică și în doar 15% din cazuri graviditatea a evoluat cu gestoza pe toată perioada.

Mamele copiilor cu HVBC și HVCC au indicat prezența unor nocivități cu care au venit în contact: condiții de muncă nocive (0,6%) din cazuri, tabagismul familial – 1,7% din cazuri, abuzul de alcool la mamă – 1,7%, și 0,6% – la tată, iar 2 (1,1%) adolescenți au indicat că ei însuși fac abuz de alcool ($p > 0,05$).

Analiza statusului social al familiilor din care proveneau copiii cu HVBC și HVCC relevă că 83,4% din pacienți erau originari din familii nucleare, 11% – din familii monoparentale, iar 5,5%

din copii erau adoptați de rude ale părinților. În 56,4% din cazuri familiile copiilor au declarat un statut 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, vertical, cu VHB sau VHC în 41,5% din cazuri: în HVBC – în 50%; HVCC – în 30% ($p < 0,05$). În lotul copiilor cu HVBC, în 20,6% (22) din mamele acestora prezentau AgHBs în sânge presarcină, iar 29% (31) din mame se aflau în evidența medicului de familie sau a infecționistului teritorial cu diagnosticul confirmat de hepatită virală B cronică, o mare parte fiind în așteptarea inițierii tratamentului antiviral ($p < 0,05$).

În lotul copiii cu HVCC, în 24,3% (18) din cazuri mamele lor sufereau de HVCC (Figura 3.10), confirmată în baza criteriilor clasice aprobate în protocoalele clinice, ele aflându-se în evidența medicilor de familie, infecționiștilor sau a gastroenterologilor. Decelarea anti-VHC totali presarcină la mamele pacienților cu HVCC a fost menționată în doar 5,4% (4) din cazuri, acestea fiind asimptomatice, fără semne clinice și biologice caracteristice hepatitei virale C cronice ($p < 0,05$).

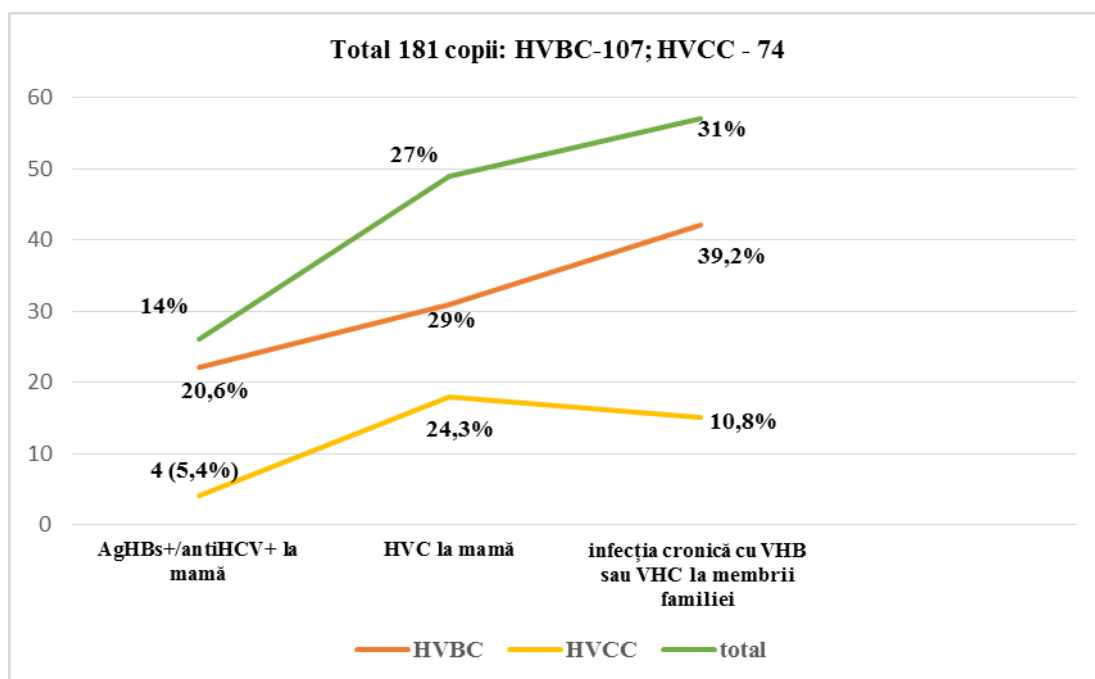


Fig. 3.10. Ponderea markerilor VHB sau VHC la mamele și membrii familiei copiilor cu HVBC și HVCC incluși în cercetare ($p < 0,001$)

Este important de precizat că în cadrul cercetării actuale genotipul VHC la pacienții cu HVCC în toate cazurile a corespuns genotipului VHC maternal, fapt ce confirmă probabilitatea înaltă a infectării acestor copii pe cale verticală, perinatal, de către mamele lor cu același tip și subtip de VHC. Acest fapt demonstrează cu veridicitate statistică relevantă ($p < 0,001$) că prezența infecției cronice cu VHC la femeile gravide are importanță în menținerea lanțului epidemiologic,

precum și indică riscul sporit de contaminare al nou-născuților cu VHC în travaliu sau în primele luni după naștere. Acești copii necesită o supraveghere riguroasă în primul an de viață, cu examinarea markerilor anti-HCV totali și IgM, iar în cazurile depistării ALT și AST majorate –cu determinarea ARN VHC în timp real și precizarea stării morbide a copilului.

Studierea riscului contractării infecției cu VHB sau VHC pe cale orizontală, intrafamiliar, de la membrii familiei sau rudele de linia I sau a II-a, aflate în evidență cu hepatita cronică virală B sau C (Figura 3.10), a demonstrat, statistic semnificativ, existența ratei înalte de circulație a infecției cronice la membrii familiei acestor copii. Printre copiii cu HVBC virusul hepatic B a fost decelat la 39,2% (42) din membrii familiei, inclusiv: AgHBs pozitiv și prezența HVBC la surori/frați (18), tată (13), bunică (11), ($p < 0,001$).

În lotul copiilor cu HVCC circulația anti-HCV totali, caracteristici infecției cronice cu VHC, la membrii familiei a fost determinată în doar 10,8% din cazuri: anti-HCV totali pozitivi sau prezența HVCC la surori/frați (1), tată (5), bunică (2), cu un risc minimal de transmitere a VHC pe cale orizontală ($p < 0,001$).

Datele privind istoricul vieții copiilor cu HVBC și HVCC din loturile de bază (LB și LC) au arătat că în 90,6% din cazuri copiii au fost născuți la termen și doar 9,4% erau prematuri. Greutatea medie la naștere a copiilor a fost de $3092 \pm 37,8$ g., 18,2% din ei suportând diverse manopere parenterale (i/m, i/v, perfuzii endovenoase etc.) cu scop curativ sau de îngrijiri medicale. În 9,8% din cazuri pacienții cu HVBC și HVCC au prezentat icterul prelungit în perioada nou-născutului, fapt pentru care au fost supuși tratamentelor parenterale (i/v, i/m) cu scop de dezintoxicare.

Menționăm că 62% dintre copiii cu HVBC și HVCC incluși în studiu nu au fost vaccinați anti-HVB la naștere, fiind copii neîncadrați în calendarul vaccinal, iar 38% din copii au fost vaccinați cu trei doze de vaccin conform schemei 0-1-6.

Cât privește modul de alimentare, 72,4% din pacienți cu HVBC și HVCC au fost alăptați la sân în primele 6 luni de viață; 87,8% din copii au prezentat un status psihoneurologic corespunzător vârstei, iar 1,7% (2) aveau un anamnestice eredocolateral agravat.

Analiza factorilor nocivi alimentari și predispozanți pentru cronicizarea infecției cu VHB sau VHC la copiii incluși în studiu a constatat la 1% (7) dintre aceștia consum abuziv de glucide și carbohidrați, la 9,4% (17) – utilizarea frecventă a produselor condimentate, iar la 0,6% (1) – prezența tabagismului ($p < 0,05$).

Respectarea igienei sanitare și a regulilor stricte individuale de utilizare a obiectelor tăioase de către copii este un moment epidemiologic important în profilaxia maladiilor transmisibile, inclusiv a infecției cu VHB sau VHC. 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) a constatat că în 63,5% din cazuri copiii utilizau în comun cu părinții și alți membri ai familiei lor obiectele tăioase cu destinație individuală, astfel fiind supuși riscului infectării cu VHB sau VHC intrafamiliar, pe cale habituală.

În 65,7% din cazuri hepatitele virale B și C cronice au fost diagnosticate ca primar cronice, doar 21,5% (39) din copii au suportat în antecedente hepatita acută virală, cu cronicizarea maladiei acute peste 6 luni de la debut.

Riscul contaminării copiilor cu VHB sau VHC (în %) prin intermediul mecanismelor parenterale este prezent în Figura 3.11. Conform datelor obținute, infectarea copiilor cu VHB sau VHC s-a produs probabil în 15,5% (28) din cazuri în legătură cu multiplele manopere parenterale cu scop diagnostic și curativ suportate de respondenți, cu perfuziile de plasmă și sânge – în 14,9% (27) din cazuri, intervențiile chirurgicale – în 5% (9), ca urmare a tratamentului stomatologic cu instrumente sterilizate insuficient – în 2,2% (4) din cazuri, iar în 20,4% (37) din cazuri cauzele infectării cu virusurile hepatice au rămas necunoscute.

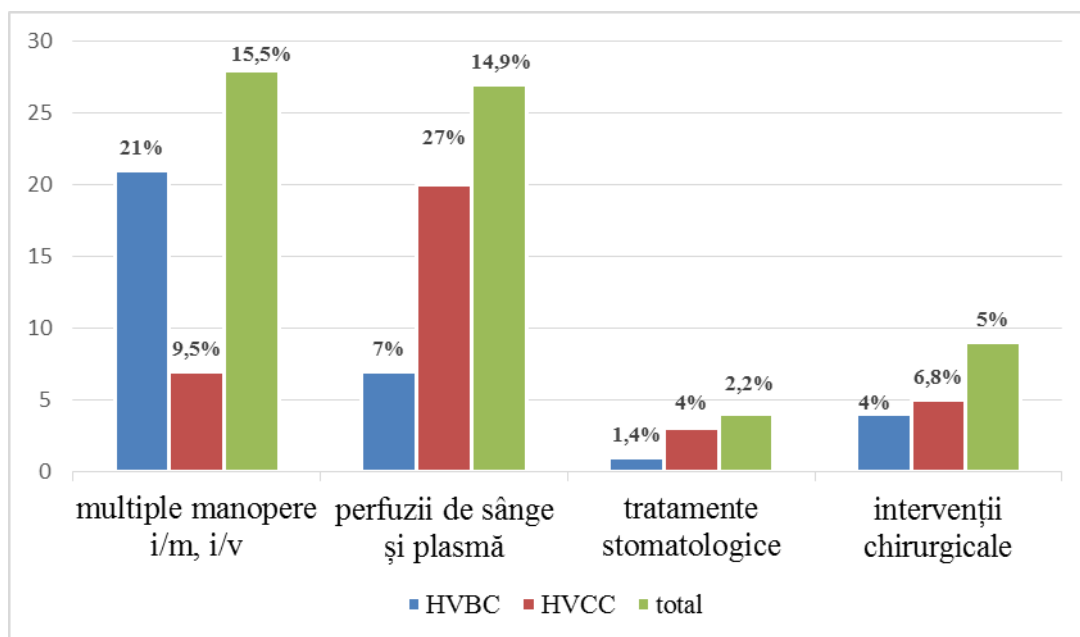


Fig. 3.11. Factorii de risc (%) parenteral ai infectării cu VHB sau VHC la copiii investigați, ($p < 0,001$)

Infectarea copiilor cu VHC cel mai frecvent a fost posibilă ca rezultat al multiplelor transfuzii de sânge și plasmă – 27% (20), după care urmează infectarea perinatală (vertical) – în 24,3% (18), sursa de infecție cu VHC fiind mamele lor infectate cronic cu VHC ($p < 0,001$). În 9,5% (7) din cazuri cu HVCC infectarea cu VHC avea legătură cu multiplele manopere parenterale, în 6,8% (5) – cu intervențiile chirurgicale, în 4% (2) din cazuri – în urma tratamentelor stomatologice cu instrumente sterilizate necalitativ, iar infectării habituale i-au revenit doar 1,4% (1) din cazuri ($p < 0,001$).

Conform datelor prezentate în Figura 3.11, contaminarea cu VHB a copiilor cu HVBC 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 dovedit 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.

Hepatitele virale B sau C cronice la copii pot fi frecvent asociate cu alte maladii acute sau cronice ale altor sisteme și organe, caracteristice vârstei copilăriei așa ca: afecțiuni frecvente ale tractului respirator superior și inferior, tractul gastrointestinal și bilio-digestiv, diabetul zaharat sau alte maladii cronice ale sistemului endocrin, cardio-vascular sau neurologic și altele.

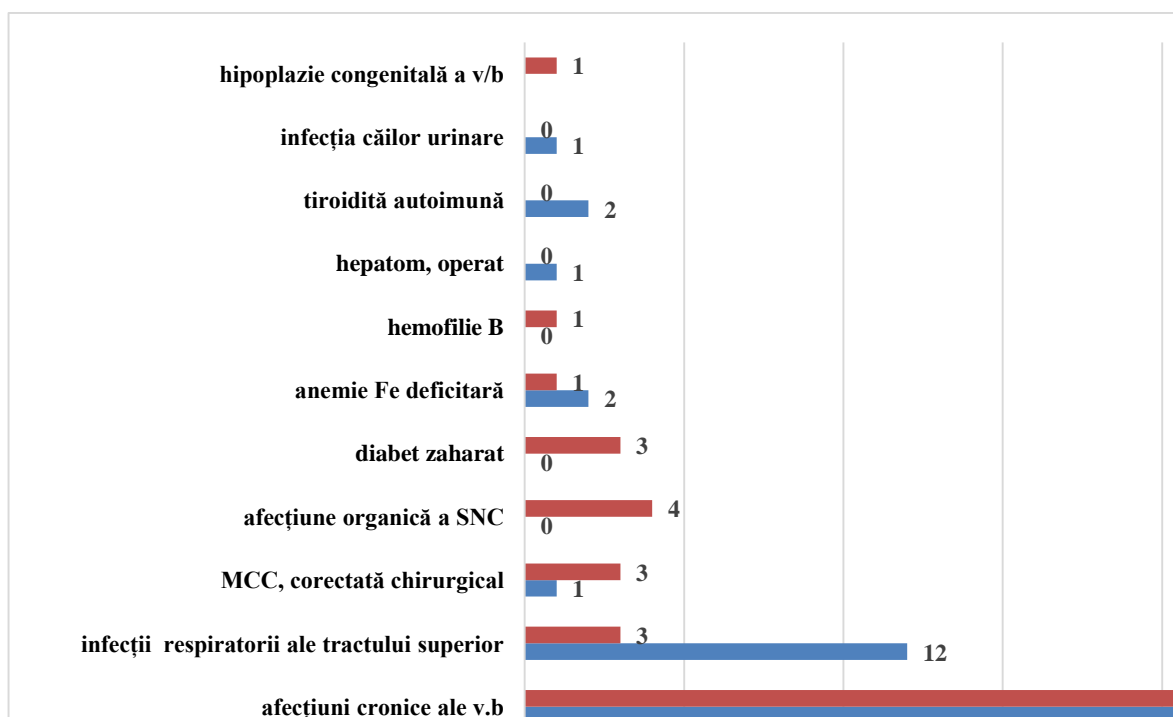


Fig. 3.12. Diversitatea maladiilor asociate HVBC și HVCC la copiii investigați (abs), $p=0,01$

Analizând diversitatea maladiilor asociate hepatitelor virale B sau C cronice la copiii incluși în cercetare, poate fi constatat (Figura 3.12) că cel mai frecvent au fost diagnosticate maladii cronice nevirale ale sistemului bilio-digestiv și mai rar, ale altor organe interne, fenomen constatat cu o semnificație relevantă statistic ($p=0,01$). Cele mai frecvente comorbidități în HVBC și HVCC au fost următoarele: afecțiuni cronice ale tractului digestiv superior – 28% (49) din cazuri (gastrite, duodenite cronice, boală ulceroasă, pancreatită cronică); afecțiuni cronice ale veziculei și căilor biliare, fenomenul sludj-ului biliar – 28% (49): dischinezii ale veziculei biliare – 13 copii, colecistită cronică acalculoasă – 33 copii, litiază biliară – 3 copii; infecții acute frecvente cu 3 episoade/an și mai multe ale tractului respirator superior și inferior – 7% (15) din cazuri (infecții acute respiratorii, rinite, faringite, bronșite, pneumonii acute); malformații congenitale ale

cordului (MCC) – 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) și anemie ferodeficitară – 1,7% (3); hemofilie B – 0,6% (1), hepatom operat – 0,6% (1), infecții ale tractului reno-urinar – 0,6% (1) din cazuri ($p=0,01$).

Diversitatea bolilor asociate și polimorfismul lor clinico-biologic la copiii cu hepatită virală B sau C cronică incluși în actuala cercetare, sunt raționamente în favoarea existenței unui mecanism etiopatogenetic de autoimunitate sistemică cu implicarea VHB sau VHC. Prin aceste argumente poate fi susținută ipoteza că virusurile hepatice B sau C au un tropism nu doar hepatic, dar și față de alte organe, inducând diverse tulburări patologice de caracter sistemic.

Evoluția HVBC și HVCC frecvent asociată cu maladiile acute și cronice de etiologie nevirală impune necesitatea de a efectua un diagnostic diferențial riguros și etapizat, bazat pe criterii obiective și elocvente. Manifestările clinice nespecifice și multisindromale constatate în timpul examenului fizic în HVBC și HVCC la copii, deseori pot fi caracteristice și pentru unele afecțiuni cronice ale tractului bilio-digestiv și necesită examinarea complexă a parametrilor clinici, biochimici, imunologici, virusologici cu testarea marcherilor virali specifici și neviralii pentru evitarea erorilor și definitivarea diagnosticului.

3.2. Particularitățile clinice, biologice și evolutive ale HVBC și HVCC la copii

Examenul fizic al pacientului pediatric și complexul de semne și sindroame biologice, caracteristice pentru hepatita virală B sau C cronică, reprezintă compartimentul-cheie principal în procesul de confirmare definitivă a maladiei hepatice și selectarea unui algoritm diagnostic etapizat. Tabloul clinic al HVBC și HVCC la copiii incluși în studiul de față a fost unul polimorf și multisindromal, cu semne clinice și biologice nespecifice unei sau altei forme cronice etiologice (Tabelul 3.2), reprezentând în ansamblu un complex de criterii generale pentru confirmarea prezenței maladiei cronice hepatice, inițierea algoritmului individual de cercetare, interpretare a gradului de severitate al activității procesului cronic inflamator în ficat și a stadiului evolutiv al maladiei.

Tabelul 3.2. Caracteristici generale ale semnelor clinice în HVBC și HVCC la copiii investigați

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, inclusiv: artralgii reactive	3	3	12	16,2	=0,001
Performanțe școlare reduse	22	21	5	7	=0,01

Printre semnele și sindroamele principale, caracteristice hepatitei virale B cronice la copii, pot fi regăsite următoarele, cu o predominare în 62,6% din cazuri a sindromului algic în hipocondrul drept (Tabelul 3.2., Figura 3.13): asteno-vegetativ - 54,2%, dispeptic - 46%, hepatomegalie moderată - 63% din copii, cu proeminarea ficatului cu 2 cm sub rebordul costal drept, având consistență medie și splenomegalie ușoară - 10% și moderată - 3,7% din cazuri ($p > 0,05$).

Manifestările clinice ale hepatitei virale C cronice la copiii incluși în studiu au fost similare celor cu HVBC, cu o expresie mai accentuată a hepatomegaliei în 72% din cazuri, deplasarea ficatului cu 2 cm sub rebordul costal drept, care avea o consistență mediu dură și margine indoloră, prezența splenomegaliei minimale la doar 4% din pacienți, cu proeminarea organului cu 1-2 cm sub rebordul costal stâng și retragere la ameliorarea stării generale; prezența sindroamelor: dispeptic – 58% din cazuri, dolor în hipocondrul drept – 55,4%, asteno-vegetativ – în 44,6% din cazuri, acestea variind individual de la caz la caz, fără o specificitate etiologică ($p>0,05$).

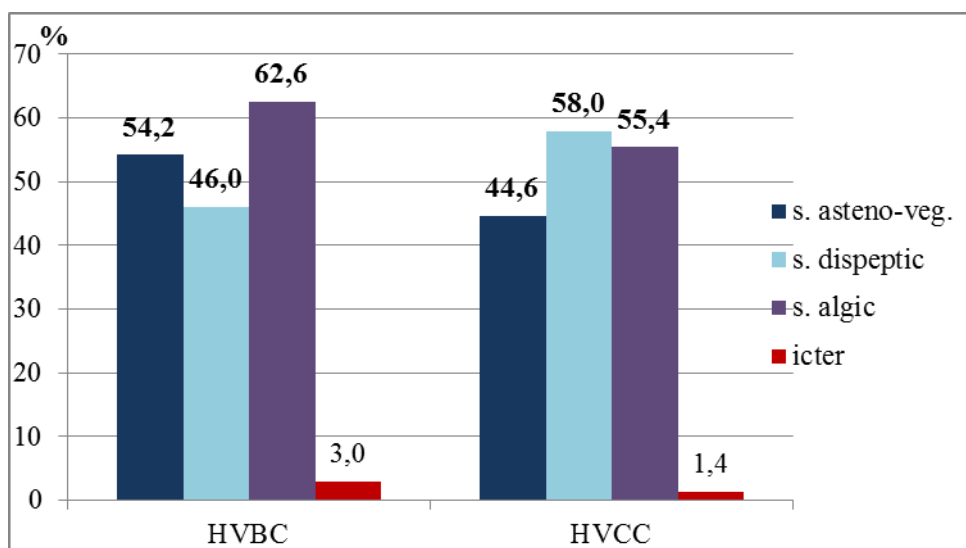


Fig. 3.13. Frecvența semnelor clinice generale în HVBC și HVCC la copiii investigați (%)

Doar 20% dintre copiii cu hepatită virală B cronică au prezentat hepatomegalie cu 3 - 4 cm și 12% – cu 5 cm sub rebordul costal drept (Figura 3.14), ficatul fiind indolor, de consistență dură și cu o margine rotundă ($p>0,05$).

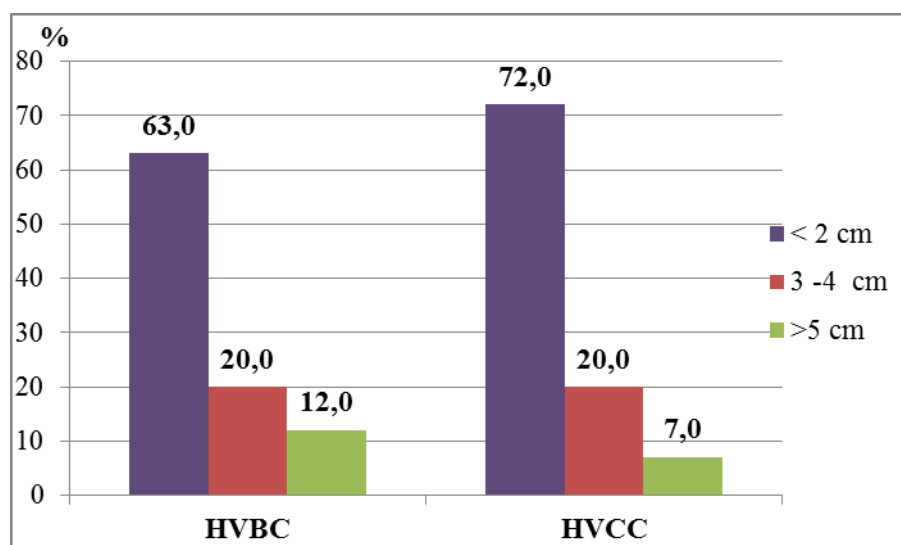


Fig. 3.14. Gradul hepatomegaliei în HVBC și HVCC la copiii incluși în studiu (%)

Pentru HVCC a fost caracteristică predominarea hepatomegaliei ușoare în 72% din cazuri și moderată la 20% din copii, cu proeminarea ficatului cu 2 cm și 3-4 cm respectiv, și la doar 7% din

pacienți a fost constatată o hepatomegalie importantă, mai mare de 5 cm, de consistență dură (Figura 3.14). Pentru hepatita virală C cronică la copiii incluși în studiu nu a fost caracteristică prezența splenomegaliei, cu excepția celei neînsemnate de 1-2 cm la 4% din pacienți, fiind atestată o evoluție mai blândă a procesului cronic infecțios viral C, comparativ cu cea în HVBC ($p>0,05$).

Manifestările extrahepatice (Figura 3.15) ale HVBC și HVCC la copii au fost rar întâlnite și exprimate prin artralгии reactive tranzitorii constatate în 3% din cazuri în HVBC și 16,2% - în HVCC, cu o semnificație statistică relevantă ($p=0,001$).

Printre semnele nespecifice, dar cu însemnătate clinică pentru pacient și medicii de familie, pediatri a fost constatarea la copiii cu HVBC și HVCC a reducerii performanțelor școlare în 21% din cazuri de HVBC și în 7% din cazuri de HVCC (Figura 3.15). Acest semn este unul nespecific, dar nu de neglijat și poate indica prezența sindromului de supraoboseală cronică la copilul cu HVBC sau HVCC asimptomatică, astfel fiind diminuate capacitățile de însușire a programului școlar. Reducerea performanțelor școlare la copil este un argument esențial și marcant la etapele precoce de diagnostic al HVBC sau HVCC, ($p=0,01$). Această importantă constatare poate servi drept un argument incontestabil pentru inițierea examenului paraclinic etapizat, cu testarea pacientului la markerii specifici pentru hepatitele virale B sau C cronice, și în special la copiii adolescenți.

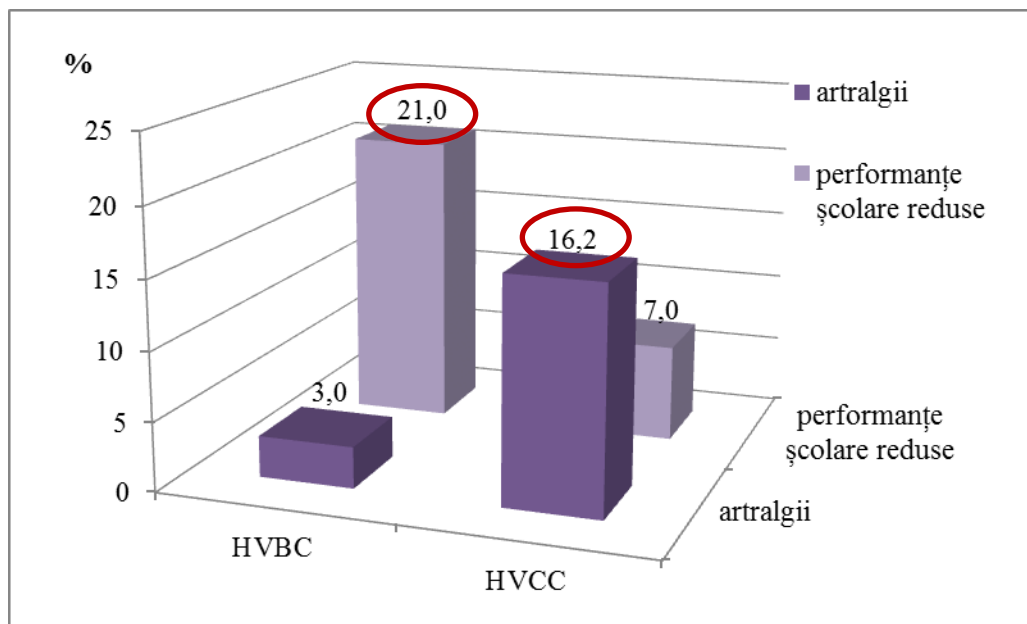


Fig. 3.15. Manifestări extrahepatice în HVBC și HVCC la copiii investigați (%)

Investigațiile clinice și de laborator cu efectuarea testelor funcționale hepatice, imunologice, virusologice și hormonale la pacienții pediatrici cu HVBC și HVCC au drept scop aprecierea gradului de activitate necroinflamatorie a procesului cronic hepatic și a severității maladii hepatice cronice indusă de VHB sau VHC. Rezultatele obținute în urma investigațiilor de

laborator la copiii cu HVBC și HVCC ne-au permis evidențierea unor semne biologice importante la etapele de confirmare a diagnosticului, relevante statistic.

Tabelul 3.3. Caracteristica sindroamelor biologice în HVBC și HVCC la pacienții investigați

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	103 103	18±0,5 28±0,7	107 107 55	66±5,6* 55±6,3 16,8±1	74 74 42	73±9,8* 59±6,5 16,7±0,9	p _{1,2,3} <0,001 p _{1,2,3} <0,001 p _{2,3} >0,05
Sindromul de colestază: bilirubina totală, mcmol/l gamaGT, mmol/l	103	11,9±0,4	107 107	15,8±1,1* 30±2,3*	74 74	20,1±3,2* 59±6,5*	p _{1,2} <0,01 p _{1,3} <0,05
Sindromul hepatopriv: proteina totală, g/l albumina, g/l IP, % fibrinogen, g/l			107 107 77 77	69±0,6 41±0,8 90±0,9 2,4±0,1	74 74 69 69	67±0,5 40±0,6 91±0,9 2,5±0,1	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 17 17 17	6,7±0,21 0,96±0,2 1,6±0,3 11,7±3,7	74 20 20 20	6,5±0,3 1,14±0,15 1,17±0,12 10,9±0,9	p _{2,3} >0,05 p _{2,3} >0,05 p _{1,2,3} >0,05
Sindromul dishormonal: HbA1, % peptida C, ng/ml T ₃ liber, nmol/l T ₄ liber, nmol/l TSH, ui/l			16 17 29 29 29	5,2±0,4 1,6±0,2 1,8±0,4 83±7,3 1,9±0,2	40 35 43 43 43	5,2±0,1 1,4±0,2 2,2±0,1 102±7 2,2±0,3	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; IP – indice de protrombină; HbA1 – hemoglobina glicolizată

Modificările enzimelor serice ale ALT, AST și de colestază sunt decisive pentru medicul clinician și orientează algoritmul de investigații spre teste imuno-serologice specifice, virusologice și moleculare de înaltă sensibilitate, având drept scop precizarea etiologiei procesului cronic inflamator hepatic, determinarea fazei și stadiului evolutiv al maladiei, permite selectarea schemei adecvate de tratament și stabilirea eficacității sau a nereușitei terapiei (Tabelul 3.3).

Rezultatele cercetării noastre au relevat diferențe semnificative ale unor parametri de laborator la pacienții cu HVBC și HVCC, comparativ cu cei din lotul copiilor „caz-control” considerați condiționat „somatic sănătoși” (Tabelul 3.3). Sindromul de citoliză, exprimat prin majorarea ALT și AST 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 minimal majorat, cu 2 - 2,5 valori față de cele de referință (Figurile 3.16 și 3.17a), în timp ce majorarea AST a fost neesențială, doar de 1,5 valori de referință, ($p_{1,2,3} < 0,001$).

Metabolismul Fe seric în HVBC și HVCC la copii nu a determinat modificări patologice la pacienții investigați, valoarea medie constiuind 16,8 - 16,7 mmol/l, fiind un indice de specificitate redusă și valoare statistică nerelevantă ($p_{2,3} > 0,05$).

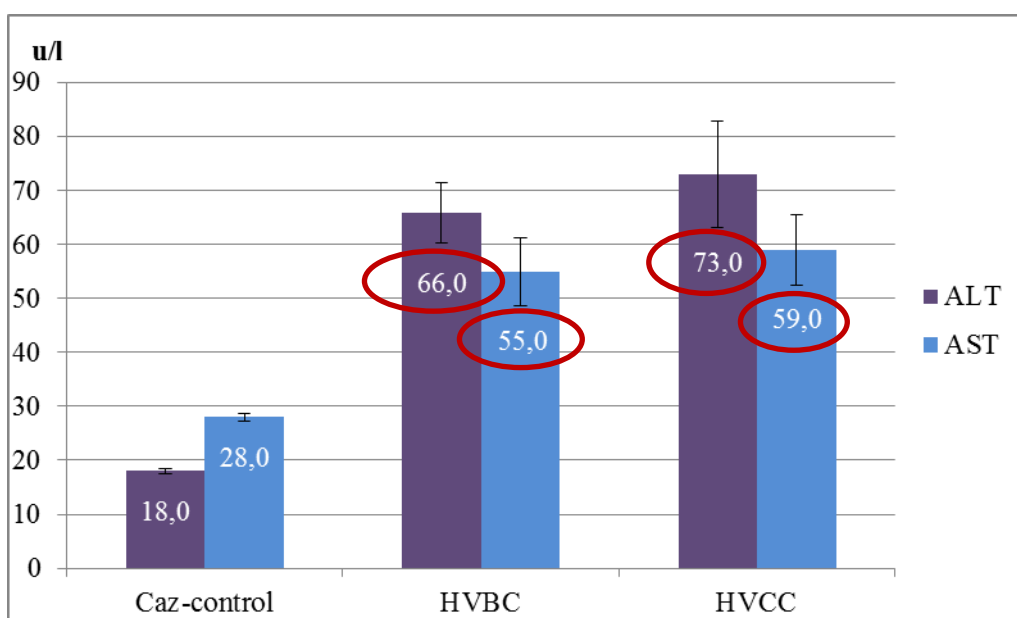


Figura 3.16. Caracteristica comparativă a sindromului de citoliză în HVBC și HVCC la copii investigați (ALT și AST în u/l), $p_{1,2,3} < 0,001$; $p_{1,2,3} < 0,001$

Sindromul de coleastăză este unul caracteristic formelor severe de maladie cronică hepatică și, în special, în cazul predominării hiperbilirubinemiei directe, denumit drept sindrom de coleastăză. Prezența valorilor crescute ale bilirubinei serice este în corelație directă cu gradul de severitate al maladii hepatice. Creșterea valorilor serice ale bilirubinei totale pe contul fracției directe semnifică prezența sindromului de coleastăză, atunci când este majorată fracția indirectă – se constată prezența componentului de hemoliză. La pacienții cu HVBC și HVCC incluși în studiu prezența sindromului de coleastăză a fost estimată prin determinarea valorilor serice ale bilirubinei totale și fracțiilor ei, ale gama-glutamyltranspeptidazei drept marker sensibil al

sindromului de colestază și enzimă de mare valoare diagnostică pentru estimarea severității procesului cronic inflamator în ficat (Figura 3.3).

Sindromul de colestază a fost predominant la copiii cu HVCC, exprimat prin majorare a gama-glutamyltranspeptidazei, cu valoarea medie de $59 \pm 6,5$ mmol/l și o relevanță statistică înaltă, comparativ cu copiii cu HVBC și cei din lotul „caz-control” ($p_{1,2} < 0,01$; $p_{1,3} < 0,05$).

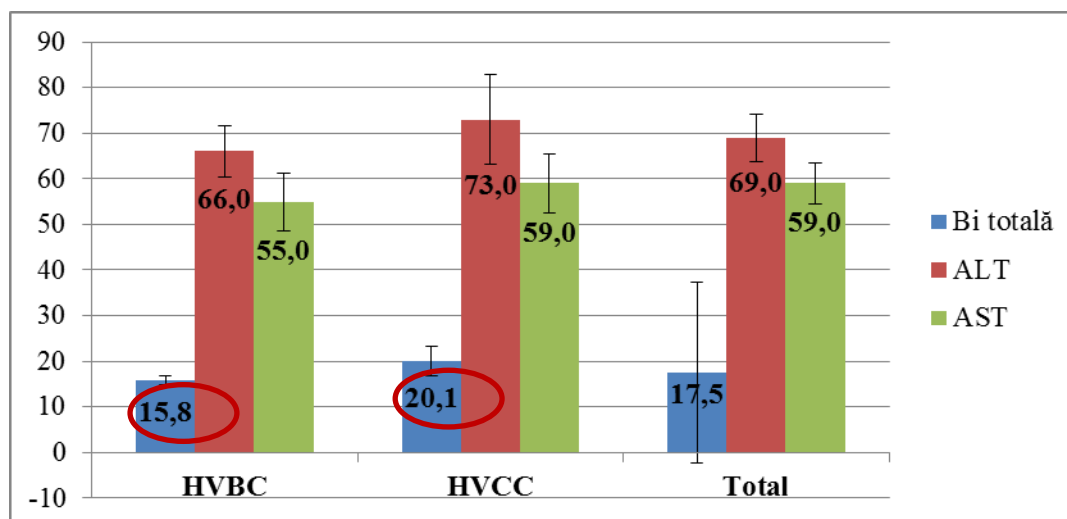


Fig. 3.17a. Nivelul Bi totale, ALT și AST la copiii cu HVBC și HVCC investigați (în mmol/l și μ mol/l respectiv), $p_{1,2} < 0,01$; $p_{1,3} < 0,05$

Funcția de sinteză a ficatului la copiii cu HVBC și HVCC incluși în cercetare a fost studiată prin aprecierea sindromului hepatopriv și determinarea în sânge a proteinei totale, albuminei, indicelui de protrombină și a fibrinogenului (Tabelul 3.3 și Figura 3.17b). Este cunoscut faptul, că dereglarea funcției de sinteză a ficatului apare frecvent în situațiile de decompensare funcțională, caracteristice cirozei hepatice și insuficienței hepatocelulare. 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 capacitățile funcționale ale ficatului. Acești parametri de laborator au o mare valoare clinică pentru clinician și necesită a fi examinați pe parcursul supravegherii în dinamică a pacienților cu hepatite virale B sau C cronice ($p_{2,3} < 0,05$).

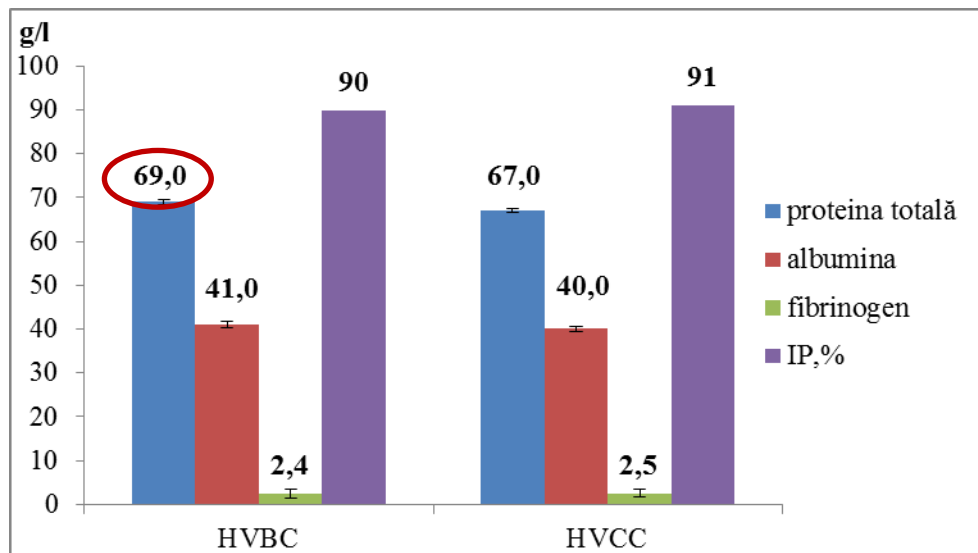


Fig. 3.17b. Sindromul hepatopriv în HVBC și HVCC la copiii investigați, exprimat prin valori medii ale proteinei totale ($p_{2,3}<0,05$), albuminei și fibrinogenului (în g/l), IP (%)

Aprecierea statusului imunității umorale în hepatitele virale B sau C cronice 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. Aceste modificări, exprimate prin prezența hiperimunoglobulinemiei IgG, sunt dependente de dezechilibrul existent în sistemul imunoreglator al organismului-gazdă infectat cronic cu VHB sau VHC, cu accentuarea celui din sistemul B limfocitar.

În studiul nostru valorile medii ale IgA și IgM serice la copiii cu hepatite virale B și C cronice au fost mai reduse, iar cele ale IgG (Figura 3.18) erau evident crescute, comparativ cu copiii din lotul „caz-control” ($p_{1,2,3}>0,05$). Valori nesemnificativ 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.

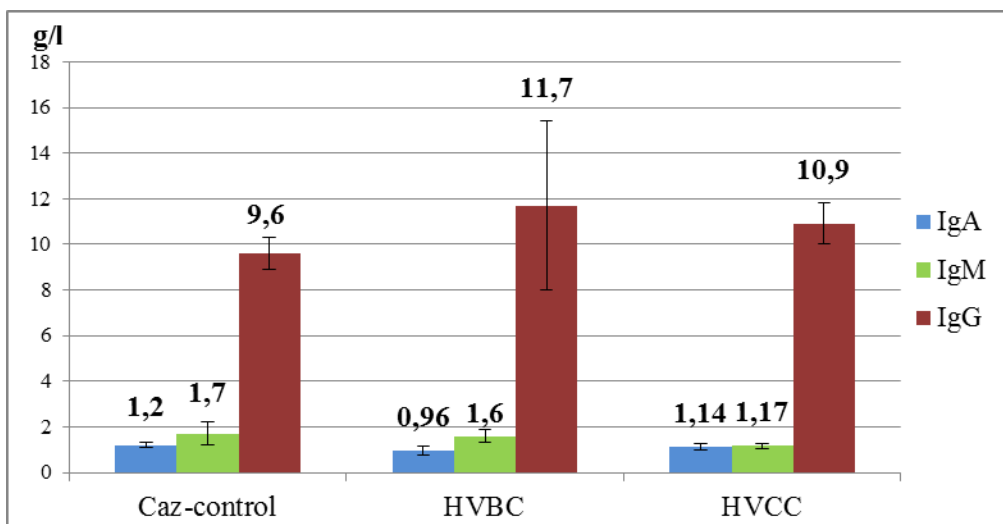


Fig. 3.18. Valorile medii ale IgA, IgM, IgG (g/l) în HVBC și HVCC la copiii investigați, ($p_{1,2,3}>0,05$).

Modificările biologice ale parametrilor de laborator în HVBC comparativ cu HVCC la pacienții incluși în cercetare au fost exprimate și prin tulburări secundare dishormonale ale pancreasului și glandei tiroide neînsemnate. La pacienții cu hepatită virală B și C cronică a fost determinată o evoluție spre majorare a peptidei C în sânge mult mai exprimată în HVCC, ($p_{2,3}<0,05$). Studiarea funcției incretorii a pancreasului (Tabelul 3.3) nu a determinat tulburări patologice la pacienții cu HVBC și HVCC, cu depistarea unor valori normale ale glicemiei nictemerale și ale celei glicolizate HbA1 (valoarea medie $5,2\pm 0,4\%$), $p_{2,3}>0,05$. Datele obținute la pacienții cu HVBC și HVCC sunt o motivație importantă pentru studii aprofundate în continuare la acest compartiment ce ține de funcțiile endocrine și exocrine ale pancreasului la acești copii.

Studierea particularităților statusului hormonal al tiroidei la copiii cu HVBC și HVCC s-a axat pe determinarea în sânge a fracțiilor libere T_3 , T_4 și TSH (Tabelul 3.3., Figura 3.19).

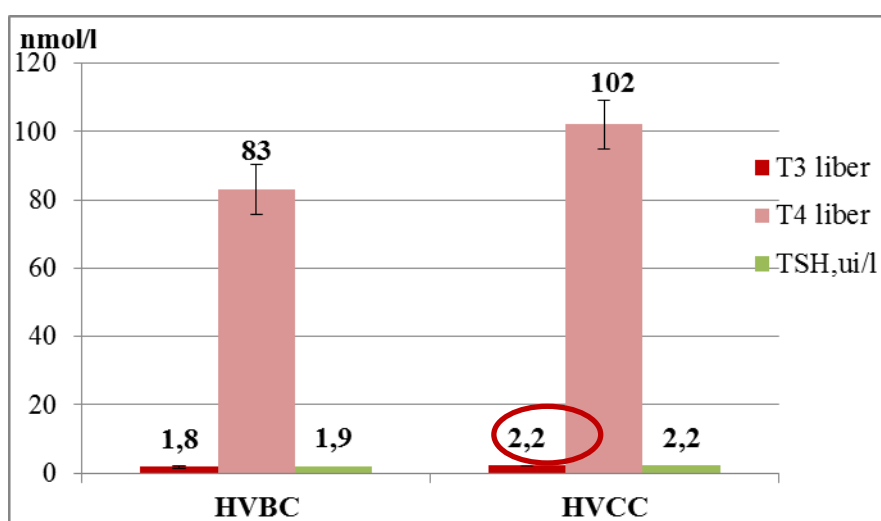


Fig. 3.19. Hormoni tiroidieni T_3 , T_4 fracția liberă (nmol/l), TSH (ui/l) în HVBC și HVCC la pacienții investigați ($p_{2,3}<0,05$)

T₃ (triiodotironina) este responsabilă de acțiunile hormonilor tiroidieni la nivelul diverselor organe - țintă. Cea mai mare parte a hormonului T₃ se formează extratiroidian, în special în ficat, prin deiodinarea enzimatică în poziția 5' a T₄. Din acest motiv concentrația serică de T₃ reflectă mai mult starea funcțională a țesuturilor periferice, decât performanța secretorie a glandei tiroide. Reducerea conversiei T₄ în T₃ poate fi influențată de unele remedii medicamentoase sau realizată în condițiile unor afecțiuni nontiroidiene severe, generând scăderea concentrației serice a T₃ liber. Hormonul TSH este unul tirostimulant și susține biosinteza și eliberarea hormonilor tiroidieni. Controlul biosintezei și al secreției hormonilor tiroidieni T₃, T₄ și TSH este mediat în cadrul sistemului hipotalamo-hipofizo-tiroidian.

Rezultatele obținute în cadrul studiului de față denotă că valori crescute ale fracției libere a T₃ prezentau doar copiii cu hepatită virală C cronică, comparativ cu cei cu HVBC, la care valorile medii erau inferioare celor de referință, ($p_{2,3} < 0,05$).

Reeșind din cele expuse mai sus, lipsa tulburărilor semnificative ale nivelului seric al fracției libere a hormonilor T₃ și T₄ în HVBC și HVCC la copiii examinați poate fi explicată cu acele particularități fiziologice caracteristice vârstei adolescentului. În acest context sunt necesare studii aprofundate și țintite privind starea funcțională hormonală a tiroidei în infecția cronică virală la copiii suferinzi de VHB sau VHC.

Pentru pacienții cu HVCC a fost mai relevantă prezența sindromului de colestază ($p_{1,3} < 0,05$), citoliză ($p_{1,2,3} < 0,001$), hepatopriv cu hipoproteinemie ($p_{2,3} < 0,05$) și prezența sindromului dishormonal, cu tulburări ale funcției incretorii a pancreasului și tendința spre majorare a peptidei C, a modificărilor parțiale ale funcției glandei tiroide cu majorare neesențială a fracției libere a T₃ (Tabelul 3.3) și creșterea creatininei serice mai mult caracteristică pentru copiii cu HVCC ($p_{2,3} < 0,05$).

În ambele loturi de pacienți cu HVBC și HVCC nu au fost constatate modificări ale funcției de sinteză a ficatului cu valori în limita normei ale proteinei totale, albuminei, coagulogramei, absența tulburărilor metabolismului Fe și al glucidelor (HbA1), cu valori ușor majorate ale hormonilor tiroidieni T₃ și normale ale T₄ și TSH ($p_{2,3} > 0,05$).

Rezultatele obținute în studiul nostrum privind particularitățile clinice și biologice ale HVBC și HVCC la copii confirm faptul că în evoluția maladiei hepatice virale cronice la pacienții pediatrici nu sunt caracteristice modificări severe ale funcțiilor de bază ale ficatului, pancreasului și tiroidei, acestea necesitând reevaluare în dinamică.

Predominarea sindromului de citoliză și colestază la pacienții cu HVCC, comparativ cu cei cu HVBC, este un argument decisiv pentru activitatea practică a medicului de familie și a pediatriilor prin imperativul selectării unui algoritm diagnostic imuno-serologic și virusologic etapizat și personalizat, având drept scop precizarea definitivă a diagnosticului.

Determinarea markerilor serologici specifici de fază cronică și testarea celor de fază acută pe etape la copii, în fiecare caz individual, are un rol important și decisiv în procesul de diagnostic diferențial și cel de definitivare al hepatitei virale B sau C cronice, dar și în rezoluții terapeutice. Determinarea genotipului VHB sau VHC, a nivelului viremiei VHB sau VHC în scopul precizării fazei procesului viral și monitorizării procesului de replicare virală, are semnificație epidemiologică și importantă valoare prognostică.

Expresia antigenică și valoarea anticorpilor specifici pentru VHB sau VHC sunt dependente de statusul imun celular al organismului gazdă, determinând forma clinică evolutivă a HVBC și HVCC la copii. Conform datelor prezentate în Tabelul 3.4., procesul viral cronic hepatic în HVBC a evoluat în 95% din cazuri în fază de viremie activă VHB: faza I (de imunotoleranță) – definită prin AgHBe pozitiv ($p < 0,001$) în 65%, cu viremie înaltă și valoare medie ADN VHB de $1,97 \times 10^9$ ui/ml în 68% din cazuri ($p < 0,001$).

Tabelul 3.4. Statutul imuno-serologic al markerilor VHB și VHC în HVBC și HVCC la copiii investigați

Marcherii virali	HVBC (n=107 pacienți)		HVCC (n=74 pacienți)		p
	n	%	n	%	
AgHBe pozitiv	70	65			<0,001
Anti-HBe	37	35			<0,001
Anti-VHD totali 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 (I fază de imunotoleranță)	69	68			
>2 000 - 20 000 000 ui/ml (II fază imunoreactivă)	23	22			
<2000 ui/ml (III fază neactivă)	10	10			
ADN VHB negativ (ocult), <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	

În 22% din cazuri procesul cronic viral în HVBC la copiii incluși în studiul de față a evoluat în faza II (imunoreactivă), cu grad înalt de viremie și ADN VHB între 2 000 - 20 000 000 ui/ml ($p < 0,001$). Rezultatele obținute la acest compartiment permit a afirma, că hepatita virală B cronică la copii are mai frecvent o evoluție subclinică, cu manifestări clinice și biologice polimorfe și nespecifice, cu activitate clinic-biologică minimală, dar într-o versiune a procesului viral cronic definit prin faze de imunotoleranță și imunoreactivitate, care poate persista timp îndelungat, astfel asigurând o evoluție blândă.

HVBC la copii în 15% din cazuri a fost asociată cu prezența antiVHD totali, procesul evoluând în formă de suprainfecție diagnosticată pe fundalul markerilor VHB. Procesul cronic viral hepatic indus de VHB și VHD suprainfecție în 12% din cazuri a fost exprimat prin viremie înaltă VHD (Figura 3.20) și nivel mediu ARN VHD de $3,9 \times 10^7 \pm 6,5 \times 10^5$ ui/ml ($p > 0,05$).

HVBC în 10% din cazuri a evoluat în fază virală VHB neactivă (faza III) cu ADN VHB sub 2000 ui/ml, AgHBe negativ – în 35% din cazuri. În doar 5% din cazuri HVBC a evoluat în formă “ocultă”, caracterizată prin ADN VHB nedetectabil în sânge sau cu valori sub 200 ui/ml.

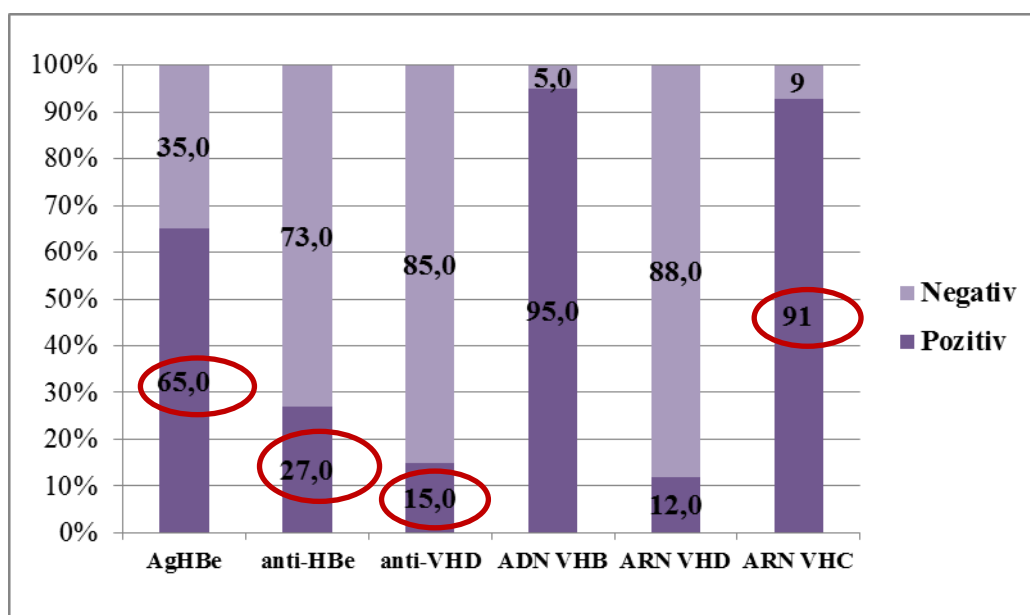


Fig. 3.20. Statusul imuno-serologic al markerilor VHB și VHC la copiii cu HVBC și HVCC investigați (%)

HVCC la pacienții incluși în cercetare în 91% din cazuri a evoluat cu replicare activă a VHC și doar în 9% din cazuri procesul viral a fost neactiv (Figura 3.20).

În 68% din cazuri de hepatită virală B cronică la copiii incluși în studiu nivelul viremiei VHB a fost unul foarte înalt, cu ADN VHB mai mare de 20 000 000 ui/ml, în 22% – cu viremie moderată și ADN VHB între 2 000 - 20 000 000 ui/ml, iar 10% din copii – cu viremie minimală, dintre care la ½ ADN VHB a fost sub 200 ui/ml (Figura 3.21).

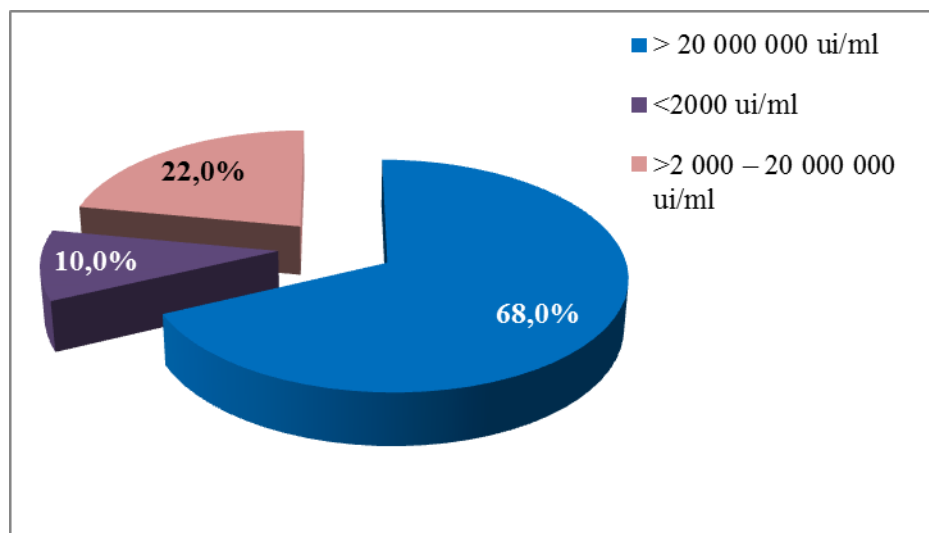


Fig. 3.21. Gradul viremiei VHB exprimat prin ADN VHB (%) în HVBC la copiii cu investigații

Pentru copiii cu hepatită virală C cronică incluși în studiu a fost caracteristică predominarea genotipului 1b (Figura 3.22) în 89,1% din cazuri, a genotipului 3a – în 8,2%, iar la 2,7% din pacienți – a genotipului 2 al VHC. Genotipul 1b în HVCC este considerat un predictor de prognostic rezervat și al rezistenței la tratamentul antiviral clasic cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard). Genotipurile 2 și 3a ale VHC au fost mai rar întâlnite printre pacienții cu HVCC incluși în studiu, favorizând evoluția mai blândă a maladiei hepatice virale cronice, cu un prognostic mai favorabil în timp și a unui răspuns virusologic susținut în 100% din cazuri la cei supuși terapiei antivirale cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard) combinată cu ribavirină.

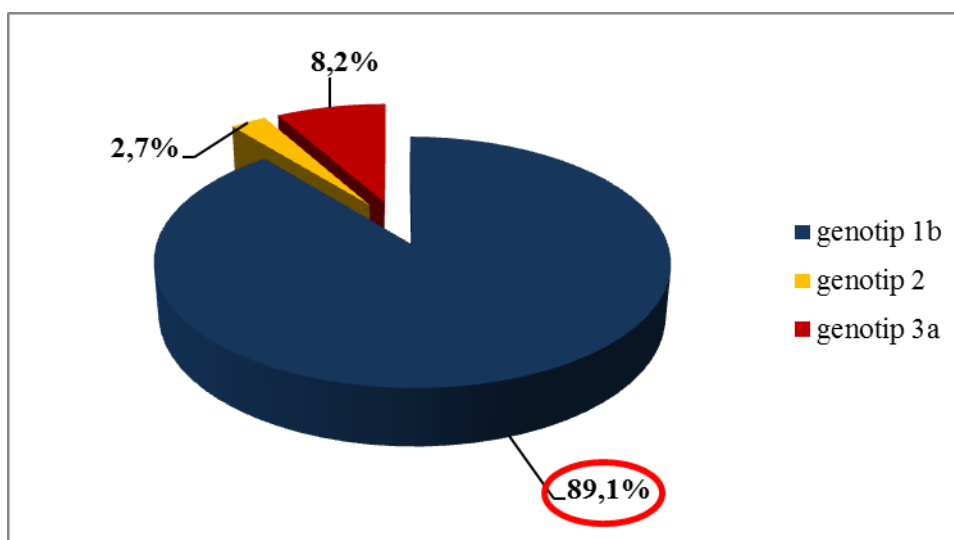


Fig. 3.22. Structura genotipică a VHC în HVCC la copiii cu investigații (%)

În 89,1% din cazuri HVCC la copiii incluși în cercetare au fost afectați de genotipul 1b VHC, în 8,2% – de genotipul 3a și doar în 2,7% din cazuri – de genotipul 2 (Figura 3.22). Procesul viral cronic în hepatita virală C cronică în 67 de cazuri a fost replicativ, dintre care în

55% din cazuri cu viremie înaltă VHC (Tabelul 3.4) exprimată prin ARN VHC cu valori 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 hepatita virală C cronică (Figura 3.23) a evoluat în fază de reproducere moderată a VHC, cu valori ale ARN VHC sub 600 000 ui/ml și doar 9% dintre pacienți au fost cu viremie sub 200 ui/ml sau cu aviremie ($p > 0,05$).

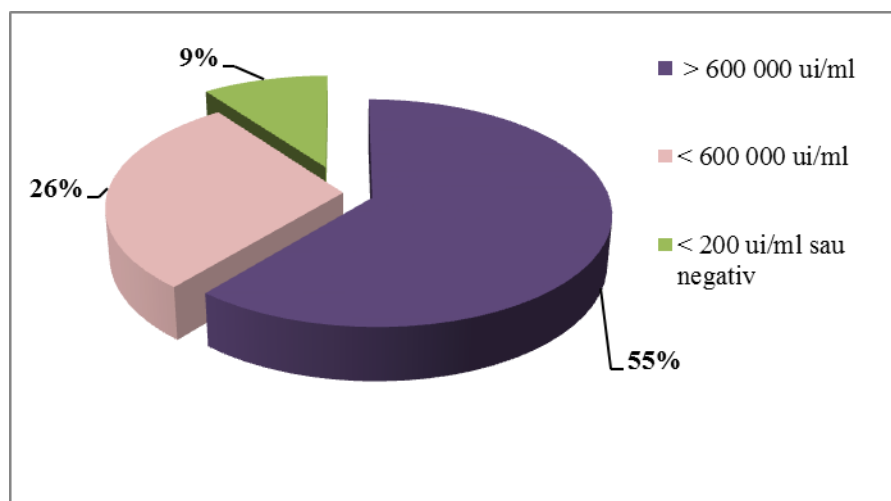


Fig. 3.23. Cuantificarea gradului de viremie VHC (%) în HVCC la copiii incluși în studiu

Modificările structural-anatomice ale ficatului în hepatitele virale B sau C cronice la copii pot fi determinate în timpul ecografiei abdominale standardizate, iar în cazuri individuale – prin utilizarea aplicației Doppler portal color. Examenul ecografic are un potențial înalt de obținere a informației privind dimensiunile și poziționarea anatomică a ficatului, caracterul ecogenității parenchimului hepatic, determinarea diametrului venei portale și lienale, gradul de implicare al organelor din vecinătate în procesul patologic cronic și efectuarea diagnosticului diferențial. Aplicația Doppler portal color facilitează depistarea precoce a semnelor de hipertensiune portală în HVBC și HVCC la copii în cazurile unei evoluții progresive.

În cercetarea actuală la toți pacienții cu hepatită virală B și C cronică a fost inițial efectuată ecografia abdominală standardizată, iar la subiecții cu splenomegalie s-a utilizat aplicația Doppler portal color (Tabelele 3.4 și 3.5). Ecografia abdominală în 12% din cazuri de HVBC și 8% de HVCC nu a constatat modificări structural-anatomice ale ficatului ($p < 0,05$). La o treime (29%) din pacienți cu HVBC a fost determinată hiperecogenitatea difuză ușoară a parenchimului ficatului, la 33% - moderată și la 26% din cazuri – hiperecogenitatea pronunțată, cu semnificație statistică relevantă ($p < 0,05$), astfel fiind justificată importanța clinică a acestei explorări instrumentale la etapa de confirmare a diagnosticului de hepatită virală B sau C cronică la copii.

Modificările ecografice ale ficatului la pacienții cu HVCC au constatat predominarea hiperecogenității difuze pronunțate în 46% cazuri, ușoare – în 30% și moderate – în 16% din cazuri, datele fiind relevante statistic comparativ cele similar atestate la pacienții cu HVBC ($p < 0,05$).

În ambele loturi de bază cu hepatită virală B cronică și hepatită virală C cronică 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 hipomotorice ale veziculei biliare (Tabelul 3.5).

Tabelul 3.5. Modificările structural-anatomice ale ficatului la ecografia abdominală în HVBC și HVCC la pacienții cercetați

Tipul de modificări	HVBC (nr =107)		HVCC (nr =74)		p
	nr	%	nr	%	
Absența modificărilor	13	12	6	8	<0,05
Hiperecogenitate difuză ușoară	31	29	22	30	<0,05
Hiperecogenitate difuză moderată	35	33	12	16	<0,05
Hiperecogenitate difuză pronunțată	28	26	34	46	<0,05
Veziculă biliară cu pereți îngroșați	42	40	33	45	>0,05
Calculi, polipi biliari	8	7,5	3	4	>0,05
Dischinezii ale v/biliare, „sludj” biliar	20	19	13	18	>0,05

Notă: p – semnificația statistică între loturi; teste statistice: t-Student; criteriul Fisher.

Semnele instrumentale caracteristice colecistitei cronice calculoase și polipozei veziculei biliare au fost depistate în 7,5% din cazuri de HVBC, comparativ cu doar 4% (3 copii) cu HVCC ($p > 0,05$). Prezența concomitentă a litiazei sau polipozei biliare și a hepatitelor virale B sau C cronice la copii este un factor agravant, ce poate influența negativ răspunsul pacientului la tratamentul antiviral. Drept exemplu este cazul unui pacient în vârstă de 16 ani, diagnosticat cu hepatită virală C cronică genotip 1b și fază de viremie înaltă VHC, la care a fost confirmată concomitent și litiaza biliară. Pacientul a fost supus tratamentului antiviral cu interferon alfa 2b pegilat și ribavirină timp de 48 de săptămâni, însă răspunsul virusologic așteptat cu negativarea ARN VHC nu a fost obținut. La 8 luni după tratamentul antiviral efectuat pacientul a suportat coledoctomia.

Evoluția frecvent undulantă, cu recăderi și progresare a hepatitelor virale B și C cronice la copii asociate altor comorbidități presupune existența mecanismelor patogenetice de implicare a virusurilor hepatotrope în menținerea procesului cronic inflamator nu numai ținut în ficat, dar și cu afectarea sistemului biliar. Examenul ecografic complex al organelor interne abdominale, indiscutabil este unul de primă linie în procesul de definitivare a diagnosticului de hepatită cronică virală B sau C la copii. Deoarece examenul clinic la copiii cu HVBC și HVCC, concomitent cu hepatomegalia a depistat și prezența splenomegaliei cu 2-4 cm sub rebordul costal stâng în 13,7% din cazuri, la 102 pacienți cu HVBC și HVCC a fost efectuată dopplerografia sistemului vascular portal, cu aprecierea diametrului venei portale și lienale și viteza medie a circulației splanhnice sangvine (Tabelul 3.6). La copiii somatic sănătoși viteza medie a fluxului sangvin în v. portală și v. lienală este de 0,15 - 0,20 m/sec. În cercetarea noastră ne-am propus utilizarea aplicației Doppler portal color la 29 de copii cu HVBC și HVCC, care au prezentat splenomegalie (Tabelul 3.6). Viteza fluxului sangvin în venele portală și cea lienală au fost calculate din înregistrările Doppler portal color în timpul examenului sonografic abdominal.

Tabelul 3.6. Indicii dopplerografiei portale în HVBC și HVCC la pacienții investigați

Parametrii	HVBC (n =107 pacienți)		HVCC (n =74 pacienți)		p
	1		2		
	nr	valoarea	nr	valoarea	
Diametrul v. portale, mm*	102	9±0,3	74	9,4±4	>0,05
Diametrul v. lienale, mm*	102	6±0,1	74	5,9±0,2	>0,05
Viteza medie de circulație a sângelui în v. portală, m/sec	29	0,13±0,1	17	0,12±0,2	>0,05
Viteza medie de circulație a sângelui în v. lienală, m/sec	29	0,13±0,1	17	0,12±0,1	>0,05

Notă: * - valoarea medie; p – semnificația statistică între loturi; teste statistice: t-Student; criteriul Fisher

Rezultatele obținute la pacienții cu HVBC și HVCC examinați prin aplicație Doppler portal color nu au depistat majorare a diametrului venei portale și lienale nici la un pacient, astfel confirmând absența semnelor de hipertensiune portală la această etapă de maladie (p>0,05). Viteza medie de circulație a sângelui în v. portală și v. lienală, atât la pacienții cu HVBC cât și la cei cu HVCC, a fost mai mică (p>0,05), comparativ cu valorile de referință la subiecții sănătoși. Tulburările circulației sangvine în sistemul circulator splanhnic sunt caracteristice stadiilor mai avansate ale maladii hepatice cronice inflamatorii, așa ca hipertensiune portală și ciroza hepatică. La copiii cu hepatită virală B sau C cronică și evoluție progresivă aplicația Doppler portal color

poate fi utilizată în procesul de supraveghere în dinamică a pacienților, având drept scop depistarea timpurie a semnelor instrumentale precoce ale evoluției progresive a bolii și inițierea tratamentului adecvat.

Din numărul total de pacienți cu HVBC și HVCC incluși în cercetare, 111 copii (HVBC – 68; HVCC – 43) au fost reexaminați clinic și paraclinic la 1 și 3 ani după tratament. La toți pacienții (100%) a fost constatată o dinamică pozitivă cu ameliorarea stării generale, stabilizarea parametrilor clinici și biochimici de laborator modificați anterior ($p=0,001$). Stare generală satisfăcătoare peste 1 și 3 ani de supraveghere au prezentat 69% din pacienți cu HVBC și 91% cu HVCC ($p<0,05$). 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, prezența durerilor surde periodice în hipocondrul drept sau epigastru după mese copioase, grețurilor și inapetenței, cu semnificație relevantă statistic ($p<0,05$). Examenul fizic efectuat în dinamică a constatat în 54% din cazuri de HVBC și 49% de HVCC persistența hepatomegaliei și proeminarea cu 3 cm a ficatului sub rebordul costal drept, de consistență mediu dură, iar în 2 cazuri de HVBC – a hepatomegaliei importante de 4-5 cm ($p>0,005$).

Tabelul 3.7. Caracteristica comparativă a parametrilor clinici, anatomo-biologici evaluați în dinamică peste 1 an în HVBC și HVCC la copiii investigați

Parametrii evaluați	HVBC (n=67)	HVCC (n=43)	p
bilirubina totală*, mcmol/l	13,6+0,9	11,6+0,8	>0,05
ALT*, ui/l	69+13,5	29+3,4	<0,05
AST*, ui/l	49+7,6	28+3,4	<0,05
proteina totală, g/l	68+0,8	69+0,9	>0,05
gama GT*, mmol/l	33+9	30+4	>0,05
• AgHBe+ (abs)	47	-	<0,001
anti-HBe-(abs)	47		
• viremie*, ui/ml	2,4 x 10 ⁸	1,2 x 10 ⁶	>0,05
elasticitate*, kpa	6,2+1 (10)	5,8+0,2 (26)	<0,001
USG abdominal fără dinamică negativă (abs)	67	43	>0,05

Notă: * - valoarea medie și devierea standard, p – semnificația statistică. Teste statistice aplicate: t-Student pentru datele de tip continuu; testul Fisher exact, pentru datele nominale.

Splenomegalia neînsemnată (1 cm) a fost apreciată la doar 2 pacienți cu HVBC și 1 cu HVCC ($p>0,005$). Rezultatele examenului clinico-biologic efectuat peste un an după includerea în cercetare sunt prezentate în Tabelul 3.7.

În 67% din cazuri de HVBC la copii s-a constatat persistența AgHBe (<0,001) în lipsa antiHBe, sindromul de citoliză moderată cu ALT majorat de 3 ori față de valorile de referință, viremia înaltă VHB, fără tulburări patologice ale funcției de sinteză a ficatului și metabolismului bilirubinei. La toți pacienții examinați prin ecografie abdominală în dinamică, nu s-a atestat progresarea semnelor structural-anatomice constatate la examenul anterior ($p > 0,05$).

Cercetările imuno-serologice cu aprecierea dinamicii nivelului viremiei VHC, efectuate la o distanță de un an la copiii cu HVCC au evidențiat 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 o valoare medie a elasticității de 6,2 kpa la copiii cu HVBC și de 5,8 kpa la cei cu HVCC, ceea ce corespunde persistenței 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 hepatitelor virale B și C cronice active, inclusiv cu persistența sindromul asteno-vegetativ, doli în hipocondrul drept, a citolizei recurente și a nivelului fluctuant al viremiei VHB și VHC cu reapariția ARN VHB sau ARN VHC. Pe parcursul a 3-5 ani de monitorizare a pacienților cu HVBC și HVCC nu am diagnosticat nici un caz de progresare spre ciroză hepatică a maladii hepatice virale. La o singură pacientă (0,9%) cu vârsta de 17 ani, supravgheată cu hepatită virală B cronică, diagnosticată la vârsta de 5 luni și infectată cu VHB perinatal de către mama ei bolnavă de HVBC în fază de viremie activă pe toată această perioadă, a fost dobândită seroconversia spontană AgHBs/anti-HBs peste 16 ani de evoluție a bolii. Examenul clinic, biologic și anatomo-morfologic al pacentei date a demonstrat regresarea în timp a semnelor clinice caracteristice hepatitei virale B cronice doar către vârsta de 17 ani, cu dobândirea seroconversiei spontane totale anti-HBs și dispariția AgHBs din sânge.

3.3. Modificările anatomopatologice în HVBC și HVCC la copii

Hepatita virală cronică, prin definiția sa, provine de la termenul de “hepatită cronică” care, după Sherlock Sh., 1989 și Buligescu L. (1997, 1999), reprezintă un proces inflamator în ficat, care se prelungește mai mult de 6 luni, cu modificări inflamator-distrofice necrotice induse de virusurile hepatice B sau C, ce evoluează cu un polimorfism clinico-biologic, fără dezorganizarea arhitectonicii lobulului hepatic și elemente caracteristice cirozei hepatice [11, 64, 65]. Definirea diagnosticului de HVBC sau HVCC la copii numai în baza criteriilor epidemiologice, clinice, biologice în mod cronologic nu poate fi complexă fără estimarea gradului de activitate al procesului inflamator, fibroză și a stadiului maladii cronice hepatice prin utilizarea tehnicii de biopsie hepatică, cercetare histologică a țesutului prelevat sau prin metode neinvazive de cuantificare așa ca elastometria sau FibroTestul.

Având drept scop aprecierea particularităților anatomo-morfologice și histologice ale procesului inflamator cronic hepatic indus de VHB și VHC, la 25 de copii cu HVBC (19) și HVCC (6) incluși în cercetare a fost efectuată puncția-biopsie hepatică cu acul Menghini, executată în premieră în Republica Moldova de către autor. Cuantificarea activității necro-inflamatorii și a gradului de fibroză s-a realizat după scorul Knodell [11, 16]. Rezultatele biopsiei hepatice și ale cercetării histo-morfologice a țesutului hepatic prelevat la copiii cu hepatită virală B și C cronică sunt prezentate în tabelul 3.8.

Tabelul 3.8. Indicele de activitate histologică (M±m) și fibrozei hepatice (după Knodell) la 25 pacienți cu HVBC și HVCC investigați

parametrul	HVBC (nr =19)	HVCC (nr =6)	p
IAH* după activitatea necroinflamatorie:	8,3±1,9	4,3±2,1	>0,05
inflamație portală < 10 puncte (abs)	11	6	
necroză focală intralobular >10-18 puncte (abs)	6	-	
necroză periportală >18 puncte (abs)	2	-	
Stadiul hepatitei și cuantificarea gradului de fibroză:			
Fibroză absentă (abs)	11	1	>0,05
Fibroză minimală în tractul portal, fără septuri (abs)	2	4	
Fibroză în tractul portală, intralobulară, cu septuri, fără pseudolobul (abs)	2	-	
Fibroză porto-portală, cu pseudolobul (abs)	2	1	

Notă: * - valoarea medie; p – semnificația statistică între loturi.

În studiul nostru am efectuat estimarea componentelor structurale în țesutul hepatic prelevat, prevăzută de clasificarea internațională ESPGHAN. Conform rezultatelor obținute la cercetarea histologică a țesutului hepatic prelevat la copiii cu HVBC și HVCC, leziunile necroinflamatorii în

ficat au fost apreciate drept unele minimale și moderate (Figura 3.24), cu calcularea valorii medii a indicelui de activitate histologică (IAH) după scorul Knodell: în HVBC $8,3 \pm 1,9$ puncte și în HVCC $4,3 \pm 2,1$ puncte, ($p > 0,05$).

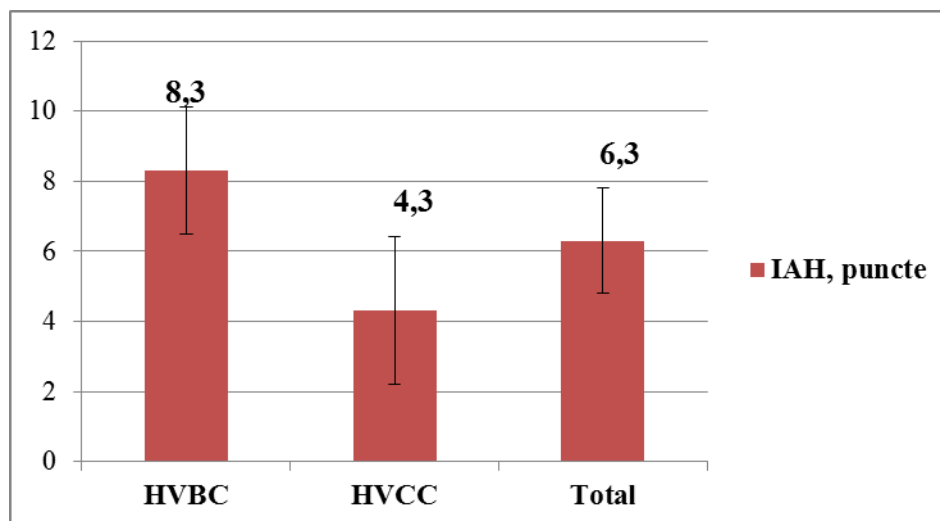


Fig. 3.24. Indicele de activitate histologică (IAH) în HVBC și HVCC la copiii investigați ($p > 0,05$)

Modificările necroinflamatorii în HVBC și HVCC au fost minimale și moderate, exprimate prin inflamație portală < 10 puncte - în 58% din cazuri de HVBC și în 100% de cazuri de HVCC. Necroza focală intralobulară, cuantificată cu 10-18 puncte, a fost apreciată în 6 cazuri de HVBC, iar necroză periportală, cuantificată cu 18-22 de puncte, au prezentat doar 2 pacienți cu HVBC. Modificările histologice în țesutul hepatic la cei 6 pacienți cu HVCC nu au evidențiat semne severe ale bolii cu necroză focală intralobulară și periportală, astfel fiind justificată evoluția benignă a bolii cu leziuni histologice minimale.

Evaluarea stadiului hepatitelor virale B și C cronice prin cuantificarea gradului de fibroză (Tabelul 3.8) a arătat că, în 58% din cazuri HVBC și 17% HVCC a 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 la 4 cu HVCC, iar fibroza hepatică prezentă în tractul portal și intralobular, cu formarea septurilor de țesut conjunctiv, fără formarea pseudolobulului hepatic, a fost constatată în 2 cazuri de HVBC și era absentă în HVCC. Fibroza avansată porto-portală și prezența pseudolobulului hepatic a fost apreciată în 2 cazuri de HVBC și un caz de HVCC, fapt ce confirmă prezența dezorganizării arhitectonicii lobulului hepatic și a caracteristicilor specifice unui stadiu mai avansat de boală, ca trecerea în ciroză hepatică.

Cu toate că modificările histologice induse de infecția cronică cu VHB și VHC la copiii examinați nu au avut o relevanță statistică veridică ($p > 0,05$), ce rezultă din numărul mic de copii supuși biopsiei hepatice, această metodă a fost și rămâne în continuare “standardul de aur” în

precizarea gradului de severitate al procesului cronic inflamator în ficat și confirmarea definitivă a diagnosticului. Dificultățile tehnice la efectuarea biopsiei hepatice la copii, în special la cei de vârstă mică, dar și cele ce țin de interpretarea fragmentelor mici de țesut hepatic prelevat (Figura 3.25), necesită a fi depășite cu alte explorări instrumentale, mai puțin invazive și informative, ce ar permite o apreciere cât mai obiectivă a modificărilor structurale histologice și stadializarea maladiei cronice.



Fig. 3.25. Efectuarea biopsiei hepatice prin metoda oarbă cu acul Menghini (efectuată de autor, la un pacient în vârstă de 13 ani cu HVBC)

În Figurile 3.26 – 3.34 sunt prezentate imagini ale modificărilor histologice în HVBC fără și cu agent delta și HVCC, determinate în țesutul ficatului prelevat prin biopsie hepatică, cu excepția unui caz de HVCC, cercetat post-mortem (Figura 3.34), (arhiva personală).

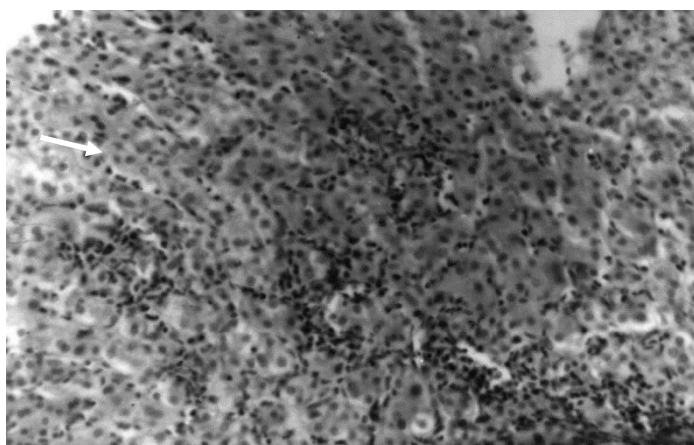


Fig. 3.26. Fragment de țesut hepatic cu prezentarea unui lobul în HVBC (C. E, 11 ani), AgHBe+, viremie înaltă VHB: dezorganizare ușoară trabecular-hepatocelulară în focar, cu infiltrație inflamatorie moderată (A2), distrofie granulară și microvacuolară, reacție ușoară a reticulocitelor (săgeată), IAH 12 puncte, x 180. Colorație cu hematoxilină-eozină

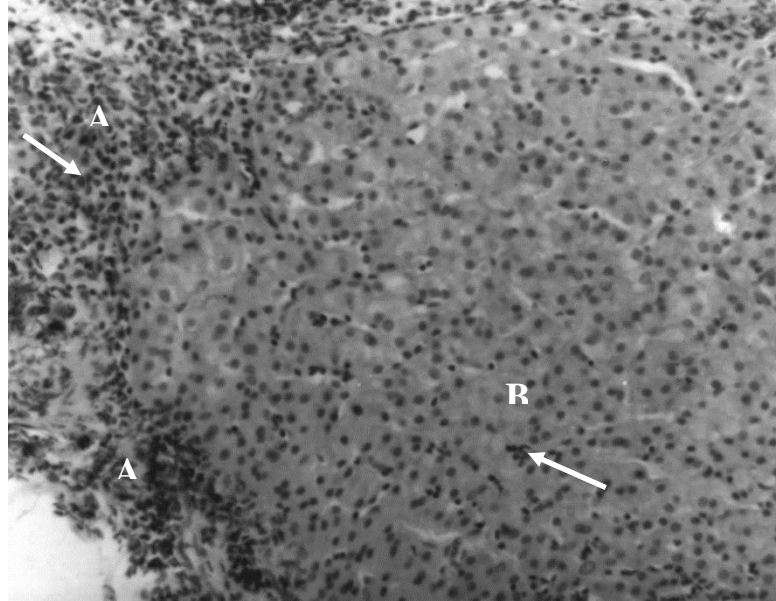


Fig. 3.27. Biopsat de țesut hepatic cu un fragment al tractului portal în HVBC (C.N., 13 ani), viremie > 20 000 000 ui/ml. A - tract portal; B - lobul hepatic: celularizare intensă a tractului portal (săgeată), infiltrație inflamatorie moderată A2, dezorganizare ușoară trabecular-hepatocelulară a lobului hepatic cu infiltrație inflamatorie minimală intralobular A1 (săgeată), IAH 12 puncte, F0. Colorație cu hematoxină-eozină, x 180

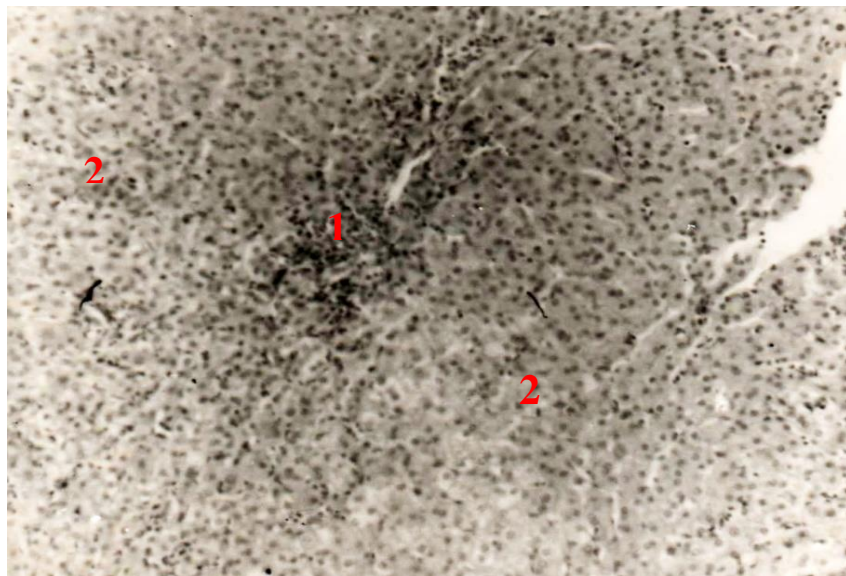


Fig. 3.28. Biopsat al țesutului hepatic în HVBC (D. P., 13 ani), cu AgHBe-, aviremie VHB: 1-spațiul portal cu infiltrație inflamatorie minimală A1; 2- parenchim hepatic cu păstrarea structurilor trabecular-hepatocelulare, limfocite unice intrasinusoidală, IAH 4 puncte. Colorație cu hematoxină-eozină, x 75

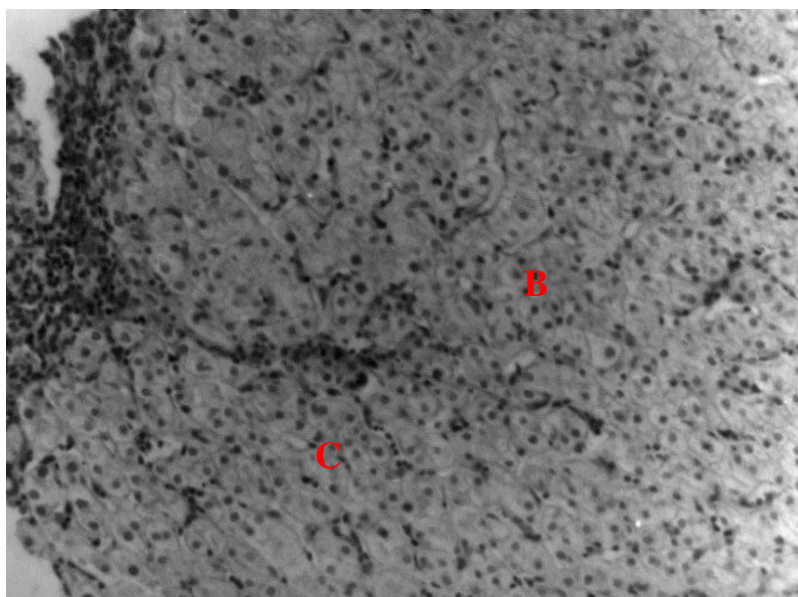


Fig. 3.29. Biopsat de țesut hepatic în HVBC (C.I., 9 ani), AgHBe+, viremie VHB <2 000 ui/ml: A- celularizare intensă inflamatorie în tractul portal polimorf A1; B - parenchimul hepatic cu tumefiere ușoară, distrofie granulară și microvacuolară hepatocelulară, limfocite dispersate în sinusoides; C – accentuarea inflamatorie a sinusoidelor prin prezența infiltratului limfocitar și reacție reticulară, fibre conjunctive fine, IAH 6 puncte. Colorație cu hematoxilină-eozină, x 75

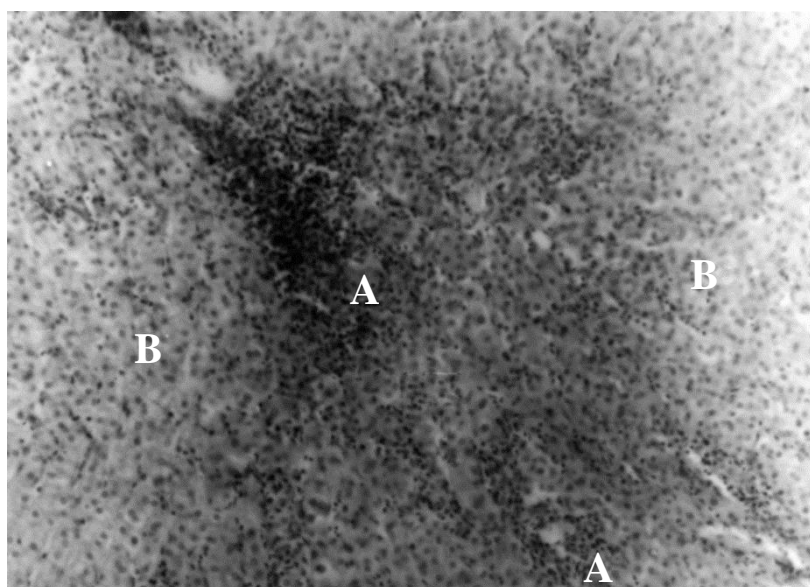


Fig. 3.30. Biopsat al țesutului hepatic în HVBC (pacient în vârstă de 15 ani), AgHBe+, viremie VHB < 20 000 ui/ml: A - infiltrație polimorfă celulară în tractul portal A2, absența fibrozei, B- infiltrație dispersă minimală în aria lobulului A1, × 75, IAH 10 puncte. Colorație hematoxilină-eozină

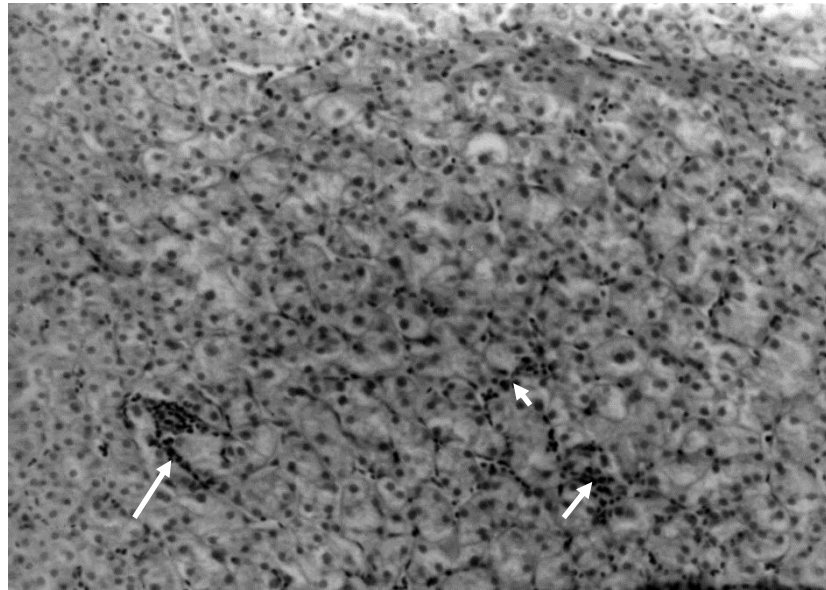


Fig.3.31. Biopsat al țesutului hepatic cu un fragment al lobulului hepatic în HVBC: dezorganizare ușoară a componentei trabeculare hepatocelulare în focar: infiltrație celulară polimorfă dispersă și focară moderată A2, absența fibrozei, × 180. IAH 8 puncte. Colorație hematoxilină-eozină

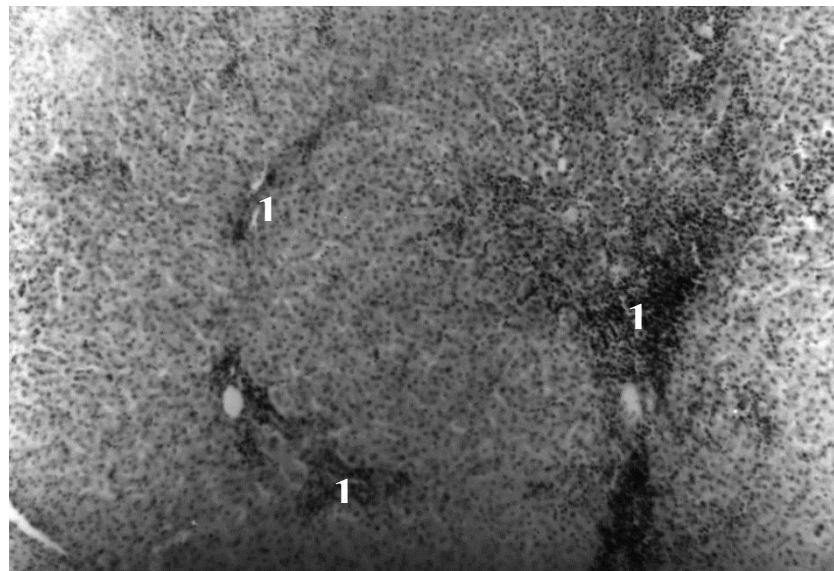


Fig. 3.32. Biopsat al țesutului hepatic cu două spații portale în HVBC cu agent delta (G. I, 8 ani), cu AgHBe+, viremie moderată: 1 – necroză periportală în punte A2, fibroză porto-portală F1-F2, IAH 22 puncte, × 180. Colorație hematoxilină-eozină

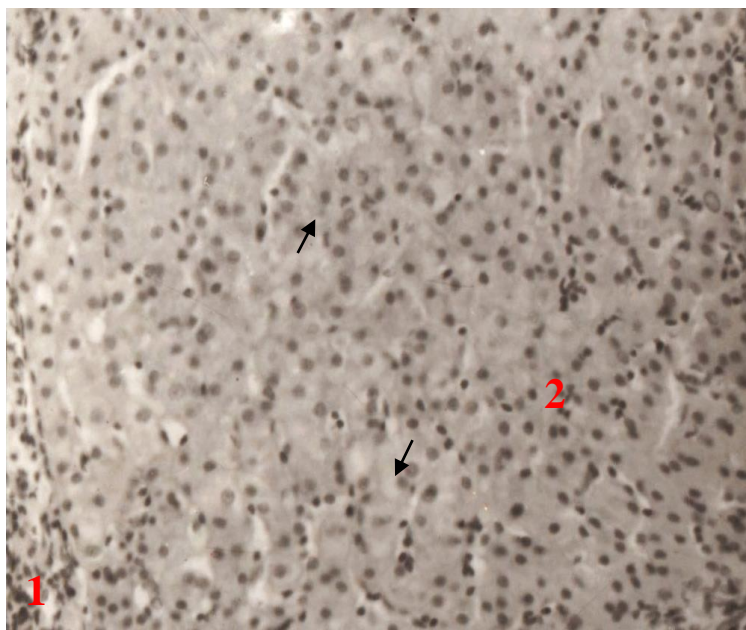


Fig. 3.33. Biopat al țesutului hepatic în HVBC cu AgHBe -, absența viremiei:
 1 – tract portal cu inflamație minimală A0; 2 - limfocite unice disperse în sinusoid (săgeată), absența fibrozei, IAH 2 puncte, × 180. Colorație hematoxină-eozină

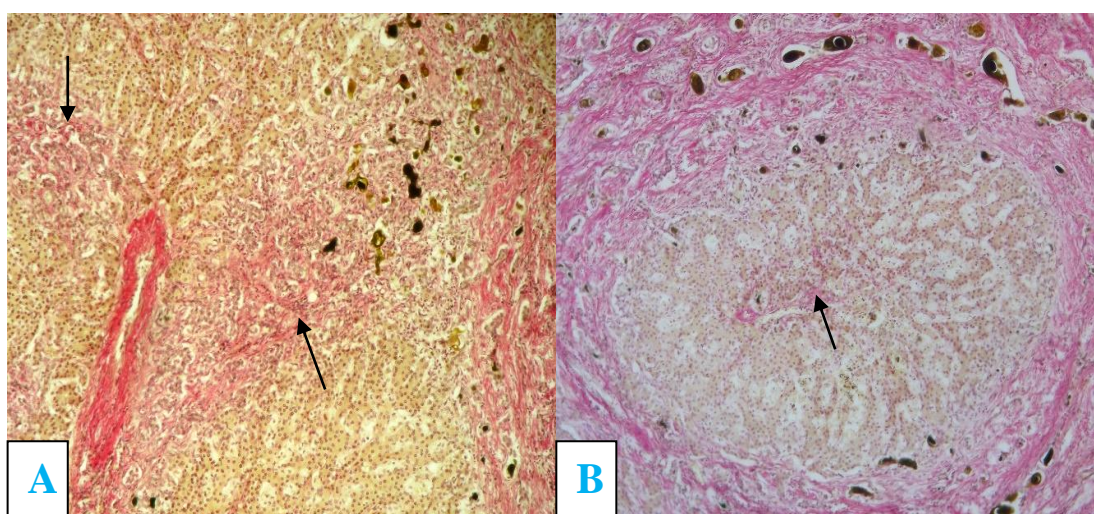


Fig. 3.34. Biopate (A și B) de țesut hepatic în HVCC genotip 1b, viremie înaltă și hipoplazie totală congenitală a colecistului (D.I., 6,5 luni, decedat): A - fibroză porto-centrală F3-F4 în punți (săgeată), proliferarea pseudochistică a colangioloelor, trombi biliari și limfocite unice; B – fibroză porto-portală F4 și pseudolobul hepatic, reacție sclerogenă centrolobulară (săgeată), proces necroinflamator la periferia lobulului hepatic A1. IAH 16 puncte, × 75. Colorație Van Gieson (picrofuchsină), țesutul a fost prelevat post-mortem

Determinarea durtății ficatului prin metode neinvazive, așa ca elastometria (FibroScan) sau FibroTestul, permite aprecierea gradului de fibroză hepatică și stadializarea maladei cronice a

ficatului cu semnificație clinică importantă. Dezavantajul cercetării prin elastometrie hepatică cu ajutorul dispozitivului FibroScan este că el nu poate fi folosit la copiii cu greutatea ponderală sub 20 kg. Complexul clinico-biochimic FibroTest are o specificitate fiabilă de 95-99% și poate fi utilizat în HVBC și HVCC la copiii mai mari de 3 ani [17]. Reieșind din particularitățile tehnice ale procedurii de biopsie hepatică, ne-am propus aprecierea prin metode neinvazive a gradului de fibroză hepatică și stadializarea procesului cronic hepatic prin elastometrie (FibroScan) sau FibroTest la 74 de copii cu HVBC (27) și HVCC (47) cu vârsta mai mare de 7 ani (Tabelul 3.9).

Tabelul 3.9. Cuantificarea gradului de fibroză hepatică în HVBC și HVCC prin elastometrie (FibroScan, 502, Franța) la pacienții investigați

Gradul de fibroză (după scala Metavir)	HVBC (nr=27 pacienți)		HVCC (nr=47 pacienți)		p
	nr (%)	valoarea	nr (%)	valoarea	
F0-F1	17 (63)		27 (82)		<0,05
F2	4 (15)		6 (18)		<0,05
F3	4 (15)		0		<0,05
F4	2 (7)		0		<0,05
Valoarea medie a elasticității hepatice, kpa*	27	5,8±0,4	47	5,4±0,2	>0,05

Notă: * - valoarea medie; nr – numărul absolut al pacienților; p – semnificația statistică între loturi; teste statistice: t-Student; criteriul Fisher.

Valoarea medie a elasticității hepatice la copiii cu HVBC a fost de 5,8±0,4 kpa, iar la cei cu HVCC - de 5,4±0,2 kpa, fără semnificație statistică relevantă între loturi ($p > 0,05$). Conform datelor prezentate (Tabelul 3.9), HVBC în 63% și HVCC în 82% din cazuri au evoluat cu fibroză hepatică minimală F0-F1, fapt ce corespunde stadiului 0 - 1 al maladii hepatice cronice, având o veridicitate statistică relevantă la compararea datelor obținute între loturi ($p < 0,05$). 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 copiii cu HVBC, iar de gradul IV (F4) – la 7% (2) din pacienții cu HVBC investigați, fapt patognomonic și semnificativ statistic cirozei hepatice ($p < 0,05$).

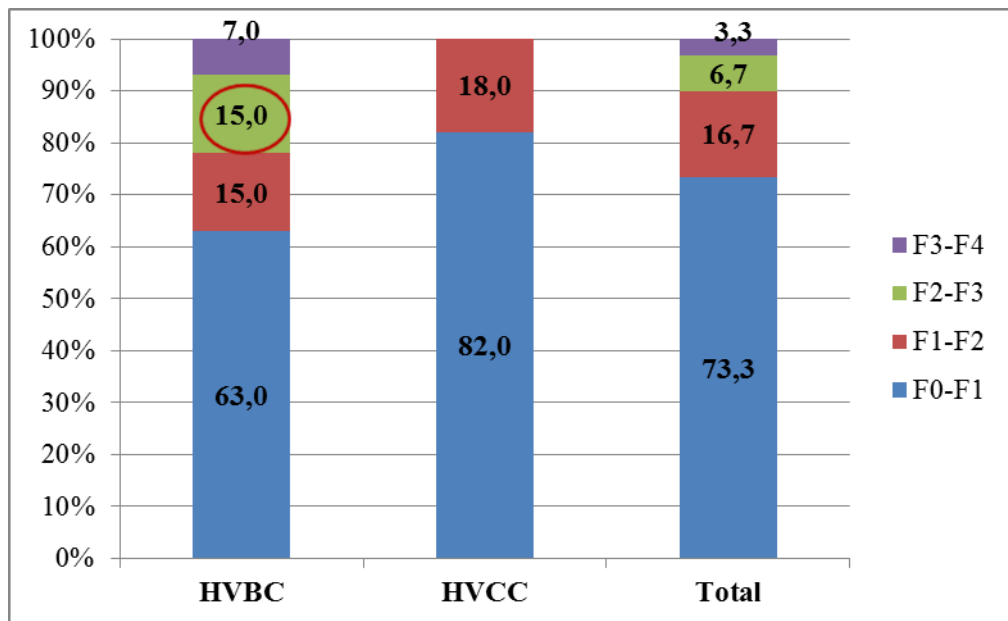


Fig. 3.35. Cuantificarea și structura (%) gradului de fibroză hepatică HVBC și HVCC la copiii investigați

Valoarea medie a elasticității hepatice (Figura 3.35.) la copiii cu HVCC a fost mai mică, comparativ cu cei cu HVBC, cu predominarea în 82% din cazuri a fibrozei hepatice minimale (F0-F1) și în 18% – a celei moderate (F2). Fibroză hepatică avansată F3 și F4 a fost determinată doar la pacienții cu HVBC în 7% din cazuri, fapt ce confirmă o evoluție mai severă a acestei forme clinice, fenomenul fiind de veridicitate înaltă ($p < 0,05$).

Concluzii la Capitolul 3

1. Hepatitele virale B și C cronice la copii în Republica Moldova sunt maladii predominante în structura etiologică a hepatitelor cronice, cu o pondere de 55% prin HVBC și 22% prin HVCC, cu distribuție teritorială neuniformă și indici ai incidenței și prevalenței mult mai avansați față de cei europeni, fiind o problemă importantă de sănătate publică.
2. Vârsta medie a copiilor cu HVBC și HVCC a fost de $11 \pm 5,2$ ani. HVBC a fost mai frecvent depistată la copiii de vârstă 5-10 ani, iar HVCC printre cei de vârstă 10-18 ani, cu predominarea sexului masculin în 60,8% și a copiilor din mediul rural în 63% din cazuri.
3. Infectarea copiilor cu VHB (în 50% din cazuri) și VHC (în 30% din cazuri) a fost posibilă pe cale perinatală, vertical, în timpul travaliului sau în primele luni după naștere prin măsuri de îngrijire, sursa principală de infecție fiind mamele purtătoare de AgHBs sau anti-VHC pozitivi sau bolnave de HVBC sau HVCC în forme viremice ($p < 0,05$).
4. Riscul contaminării cu VHB al copiilor cu HVBC în urma multiplelor manopere parenterale a fost constatat în 21% din cazuri ($p < 0,001$). Infectarea cu VHC a copiilor cu HVCC în 27% din cazuri a fost o consecință a multiplelor transfuzii de sânge și plasmă, urmată de riscul infectării în cadrul multiplelor manopere parenterale cu instrumente sterilizate insuficient în 9,5% din cazuri, al manevrelor chirurgicale – în 6,8%, stomatologice – 4%, fenomen demonstrat cu o înaltă veridicitate statistică ($p < 0,001$).
5. Manifestările clinice și biologice ale hepatitelor virale B și C cronice la copii incluși în cercetare au fost nespecifice, multisindromale și polimorfe, frecvent evoluând cu alte comorbidități ale sistemului bilio-digestiv. HVBC la copii în 26% din cazuri a fost asociată cu maladii cronice ale tractului digestiv superior și mai rar, în 22% din cazuri, cu afecțiunile cronice ale veziculei și căilor biliare. HVCC la copii în 34% din cazuri a evoluat pe fundalul proceselor cronice inflamatorii ale veziculei și căilor biliare, iar în 28% din cazuri - cu gastroduodenitele cronice, boala ulceroasă ($p = 0,01$), fiind un impediment dificil evolutiv în plan diagnostic și curativ.
6. HVBC la copii s-a manifestat ca o maladie cronică infecțioasă cu evoluție clinico-biologică și histologică blândă, cu predominarea sindromului asteno-vegetativ, algic în hipocondrul drept, reducerea performanțelor școlare (21%), hepatomegalie minimală (63%), splenomegalie tranzitorie (10%), citoliză minimală fluctuantă, tulburări minimale ale funcției de sinteză a proteinelor, predominarea formelor AgHBe pozitive în 65,4% și a fazei de imunotoleranță cu viremie înaltă și ADN VHB $> 1,9 \times 10^9$ ui/ml, fibroză hepatică minimală F0-F1 și valori medii ale elasticității hepatice mici ($5,8 \pm 0,4$ kpa).
7. Tabloul clinico-biologic și histologic caracteristic HVCC la copii a fost exprimat prin evoluție primar cronică, predominarea sindromului algic în hipocondrul drept (55,4%),

asteno-vegetativ (44,6%), hepatomegalie moderată (72%) și avansată (20%). 16,2% din copiii cu HVCC au manifestat semne extrahepatice în formă de artralгии secundare ($p=0,001$), cu predominarea genotipului 1b VHC (89%) și, mult mai rar, a genotipului 3a (8%) și 2 (2%), evoluție blândă, cu sindrom de citoliză moderată ($p<0,001$) și hiperbilirubinemie minimă ($p<0,01$), fază de replicare înaltă VHC (61%), activitate histologică și fibroză minimală (82%), indice de elasticitate de 5,4 kpa ($p< 0,05$).

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

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

Sistemul imun al copilului este unul complex și are drept funcție principală apărarea organismului în cazurile acțiunilor agenților infecțioși, având ca proprietate fundamentală capacitatea de a recunoaște ca străine celulele proprii infectate și stocarea informației privind reacțiile imune. Mecanismele imunopatogenetice și factorii ce favorizează cronicizarea infecției cu VHB sau VHC la copii pe parcursul anilor reprezintă o problemă actuală de cercetare științifică. VHB și VHC sunt agenți virali care sensibilizează reacțiile de apărare din partea celulelor imonocompetente. Implicarea imunității celulare înnăscute, nespecifică, ca răspuns la infectarea copiilor cu unul dintre virusurile hepatotrope este diferită și depinde de vârsta contaminării. Limfocitele T și B sunt unicele celule imunocompetente ce poartă receptori specifici de antigen (Ag), fiind mediatorii principali ai imunității adaptative la copii.

Celulele T limfocitare au o durată de viață de zeci de ani și proveniență în ficat, splină și în măduvă hematogenă, reprezentând 65-80% din numărul total al limfocitelor. Reproducerea și maturizarea lor are loc în timus unde acestea ajung prin migrare, contribuind la asigurarea protecției organismului prin mecanisme de menținere a echilibrului T și B celular și distrugere a celulelor infectate. Celulele T se clasifică în: Th (helper sau CD4), asigură răspunsul imun celular și umoral Th1, sunt responsabile de stimularea dezvoltării celulelor T supresor citotoxice și creșterea activității macrofagice, și Th2, care cooperează cu limfocitele B și cele macrofagice în inducerea răspunsului imun umoral; limfocitele T supresor (CD8), care au rol reglator și de control, cu proprietăți de diminuare a răspunsului imun umoral și celular; limfocitele T citotoxice (CD8 citotoxice), responsabile de citotoxicitatea mediată celular și implicate în apărarea antivirală, antitumorală și de respingere a grefelor). Celulele T limfocitare helper (CD4) și supresor (CD8) au o durată de viață scurtă, iar celulele T limfocitare cu memorie au o durată de viață de peste 40 de ani, cu o perioadă activă de 10-15 ani. Diferențierea celulelor Th (CD4) are loc prin medierea de către citochinele IL-12, IL-18, IL-21 și IFN- γ , cu transformarea lor în Th1, care sintetizează IL-2, TNF- α și β , iar cele mediate de IL-4 - sunt formate ca celulele Th2, care sintetizează IL-6, IL-10 și alți mediatorii proinflamatori.

Celulele B constituie în jur de 15 % din numărul total de limfocite, fiind responsabile de răspunsul imun umoral, au o durată de viață de câteva zile, sunt producătoare de anticorpi specifici, pe care îi secretă după ce se transformă în plasmocite, maturizându-se în măduva osoasă cu difuzare

în lichidele biologice. Celule NK (kileri naturali) constituie în jur de 10% și au proprietatea de a distruge celulele infectate, asigurând funcția de toxicitate.

Tabelul 4.1. Indicii imunității celulare, % (abs) în HVBC și HVCC la copiii investigați

Indicii	Caz-control (n=22 pacienți)		HVBC (nr=107 pacienți)		HVCC (nr=74 pacienți)		p _{1,2} ; p _{1,3} ; p _{2,3}
	1		2		3		
	nr	M±m	nr	M±m	nr	M±m	
CD3, T limf. tot, % CD3, abs	22	66±1,4 1,8±0,2	25	52±2,8 1,6±0,3	25	60±1,3 1,6±0,2	<0,001, <0,01, <0,01 >0,05, >0,05, >0,05
CD19, B limf. tot, % CD19, abs	22	18±1,0 0,58±0,1	25	13,4±1,7 0,33±0,1	25	12,3±1,2 0,36±0,1	<0,05 <0,001 >0,05 <0,05 <0,05 >0,05
CD4, T helper, % CD4 abs	22	39±1,8 1,1±0,2	25	36±1,8 1±0,2	25	36±1,3 0,9±0,1	>0,05 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05 >0,05
CD8, T supresor, % CD8, abs	22	27±1,1 0,8±0,1	25	18±2,3 0,48±0,1	25	23±1,0 0,67±0,1	<0,01 <0,05 <0,05 <0,05 >0,05 >0,05
CD4/CD8	22	1,43±0,1	25	3,06±0,6	25	2,05±0,4	<0,05 >0,05 >0,05
(CD4+CD8)/CD3	22	0,97±0,02	22	1,05±0,04	22	0,97±0,02	>0,05 >0,05 >0,05
CD5, T limf. mature, % CD5 abs	22	61±0,97 1,7±0,1	22	47±3,4 1,2±0,1	22	52±1,9 1,7±0,2	<0,001 <0,001 >0,05 <0,05 >0,05 >0,05
CD16, NK, % CD16 (NK, abs)	22	12±1,2 0,33±0,04	15	14,7±1,1 0,32±0,03	15	18±0,9 0,44±0,1	>0,05 <0,001 <0,05 >0,05 >0,05 >0,05
CD HLA DR, limfocite T activate/ limfocite B, % CD HLA DR, abs	22	29,9±1,98 0,9±0,1	17	21,6±2,5 0,5±0,1	17	20±1,6 0,6±0,1	<0,05 <0,001 >0,05 <0,001 <0,01 >0,05

În scopul determinării particularităților imunității celulare la 50 de copii cu HVBC (25) și HVCC (25) ne-am propus a studia statusul imun celular al limfocitelor T CD3 și subpopulațiilor lor, până la includerea în cercetarea dată și după tratamentul antiviral (Tabelul 4.1). 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 a fost constatat un dezechilibru ponderal al limfocitelor T totale și al subpopulațiilor lor, cu veridicitate statistică înaltă, atât la compararea între loturile de bază (Figura 4.1), cât și cu cei din lotul „caz-control” ($p_{1,2}<0,001$; $p_{1,3}<0,01$; $p_{2,3}<0,01$).

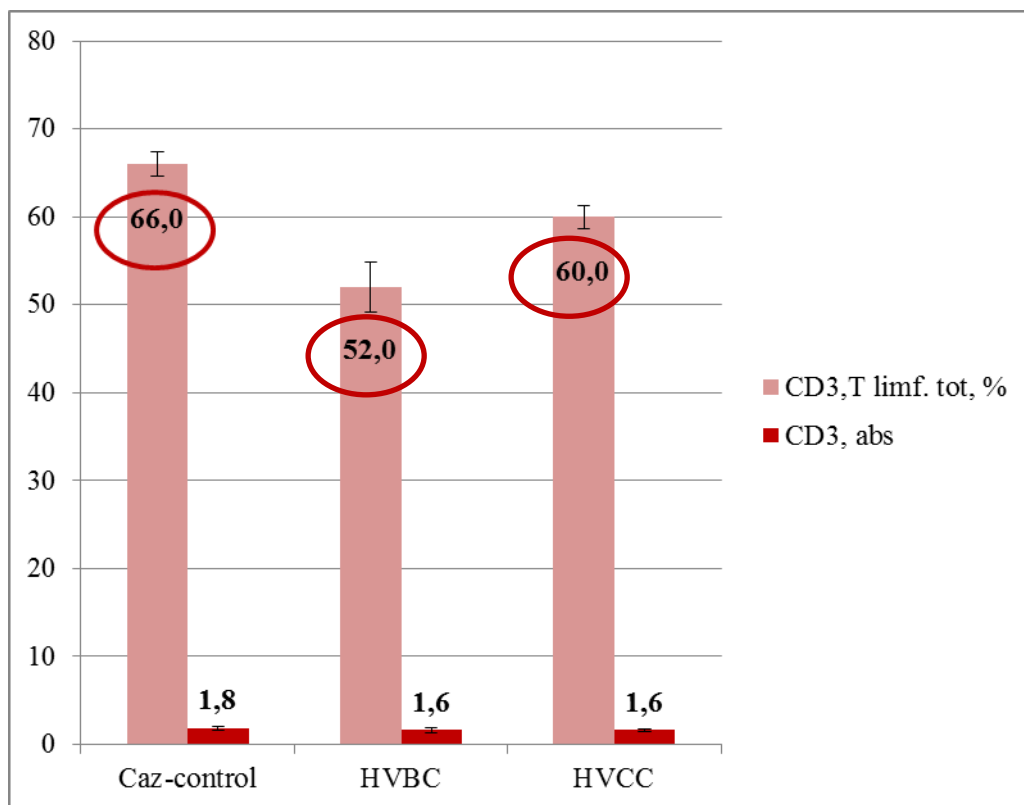


Fig. 4.1. Celulele T limfocitare totale (CD3) în HVBC și HVCC la copiii investigați (% , abs)

Diminuarea indicelui ponderal (%) și absolut al limfocitelor T (CD3) și limfocitelor B (CD19) este un indicator al prezenței imunodeficienței congenitale a celulelor T limfocitare, cu relevanță statistică maximală la compararea între loturi ($p_{1,2}<0,001$; $p_{1,3}<0,01$; $p_{2,3}<0,01$).

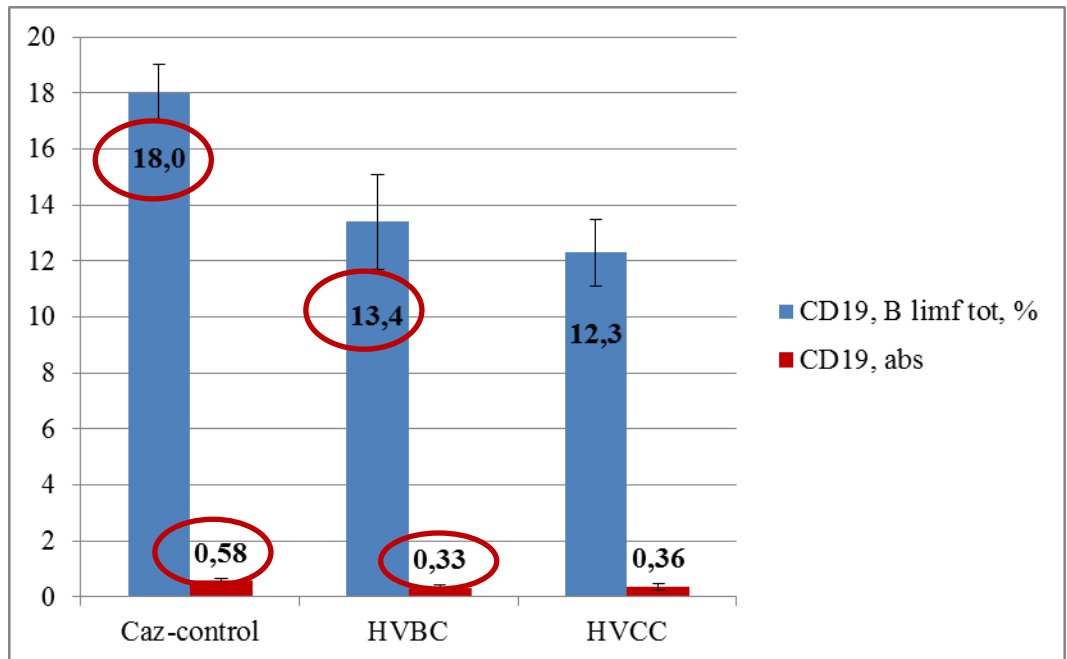


Fig. 4.2. Limfocitele B totale (CD19, % și abs) în HVBC și HVCC la copiii investigați

Dezechilibrul celulelor B (CD19) cu diminuarea ponderii și a numărului absolut al acestora, indică prezența imunodeficienței secundare și a fenomenului migrării lor în organul-țintă (ficat) afectat, sau poate sugera existența imunodeficienței congenitale celulare B cu o relevanță semnificativă statistică la compararea între loturi ($p_{1,2} < 0,05$; $p_{1,3} < 0,001$; $p_{2,3} > 0,05$), (Figura 4.2). Deficiențele congenitale sau secundare existente la pacienții infectați cu VHB sau VHC stau la baza unui răspuns imun neadecvat și întârziat, cu riscul major al cronicizării și evoluției persistente pe parcursul zecilor de ani.

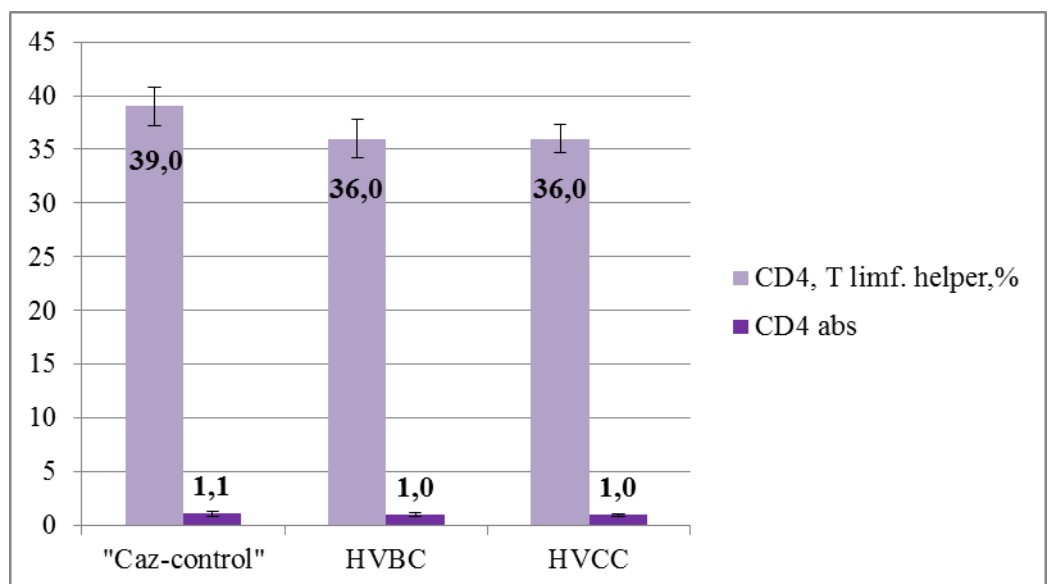


Fig. 4.3. Ponderea celulelor CD4+, limfocite T helper (% , abs) în HVBC și HVCC la copiii investigați

Rezultatele cercetării actuale au stabilit că ponderea celulelor T limfocite helper (CD4+) la copiii cu HVBC și HVCC au fost scăzute, comparativ cu cei din lotul “caz-control”, dar fără o semnificație relevantă statistică (Figura 4.3).

Cantitatea absolută și relativă a celulelor T supresor (CD8+) a fost diminuată la copiii cu HVBC și HVCC (Figura 4.4)., fiind mult mai evocatoare la cei infectați cronic cu VHB, semnificând prezența componentului autoimun și migrarea celulelor CD8+ spre organul-țintă afectat ($p_{1,2}<0,01$; $p_{1,3}<0,05$; $p_{2,3}<0,05$).

Raportul CD4+/CD8+ este un indice imunoreglator important pentru medicul practician în procesul de stabilire a diagnosticului de hepatită virală B sau C cronică la copii, dar și în cazurile deciziei terapeutice a schemelor de tratament. Indicatorul majorat al acestui raport este un marker direct proporțional mecanismelor autoimune de producere a leziunilor inflamatorii în ficat și poate influența rezultatele așteptate ale terapiei.

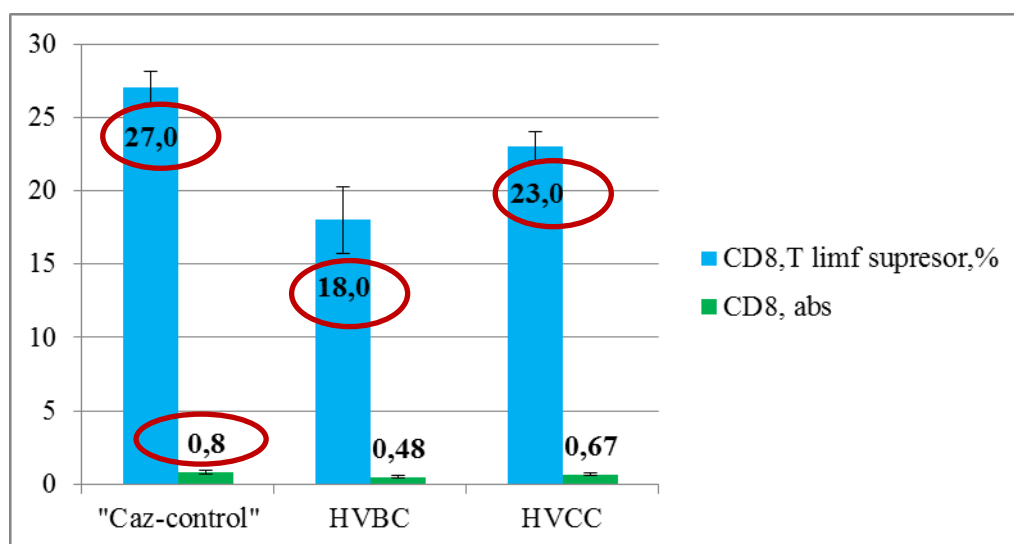


Fig. 4.4. Ponderea celulelor CD8+, limfocite T supresor (% și abs) în HVBC și HVCC la copiii investigați

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 hepatite virale B și C cronice, acest raport s-a prezentat cu valori majorate de 3 ori în HVBC și de 2 ori în HVCC, indicând prezența fenomenelor autoimune (Tabelul 4.1, Figura 4.4). Cu cât este mai mică ponderea CD8+, cu atât este mai mare raportul CD4+/CD8+, acesta fiind direct proporțional nivelului celulelor CD4+ și invers proporțional celulelor CD8+, justificând prezența componentului autoimun în evoluția procesului inflamator viral cu semnificație statistică valoroasă la compararea între loturi ($p_{1,2}<0,05$).

Rata scăzută a răspunsului virusologic așteptat la terapia antivirală efectuată cu INF alfa 2b pegilat la copiii cu HVBC, la părerea noastră, se regăsește în prezența componentului autoimun în evoluția maladiei și expresia majorată a indicelui imunoreglator CD4+/CD8+ cu valori inferioare ale CD8+. Semnificația diagnostică a acestui indicator pentru medicul practician este importantă și, uneori, decisivă în cazul necesității selectării remediilor antivirale eficiente și neofensive pentru copiii cu HVBC, ca predictor al răspunsului antiviral.

Ținând cont de cele stabilite în studiul dat, și anume, prezența dezechilibrului celulelor limfocitare T CD3 și a subpopulațiilor lor, majorarea indicatorului imunoreglator CD4+/CD8+ ca semn veridic al existenței substratului autoimun în HVBC la copiii din lotul de bază, ne-am propus să calculăm și un alt indicator imunoreglator (CD4+CD8)/CD3, obținut prin suma CD4+ și CD8+, raportată la numărul absolut al celulelor limfocitare T CD3 (Figura 4.5). Acest indicator nu a constatat o veridicitate statistică, dar s-a demonstrat drept unul direct proporțional valorii absolute a celulelor T limfocitare CD3 și invers proporțional ponderii celor B limfocitare (CD19), justificând existența dezechilibrului limfocitar T și B celular și a deficiențelor imune congenitale.

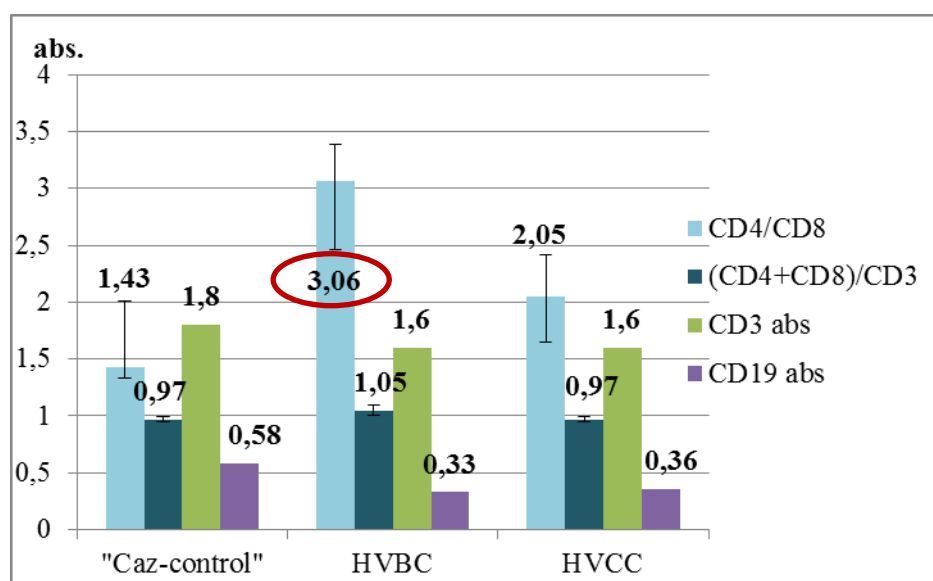


Fig. 4.5. Indicii imunoreglatori CD4/CD8 și (CD4+CD8)/CD3 în HVBC și HVCC la copiii investigați (abs)

Raportul (CD4+CD8)/CD3 la pacienții cu HVBC, comparativ cu cel din lotul copiilor „somatic sănătoși” și cei cu HVCC, a fost majorat, fără o relevanță statistică ($p > 0,05$). În viziunea noastră, raportul (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 raportul (CD4+CD8)/CD3 a existat o legătură direct proporțională, cu semnalarea componentei autoimune.

Este cunoscut faptul, că la etapa de maturizare, limfocitele T la suprafața lor duc celulele marker CD3+, și nu forma „dublu negativ” (CD4 - CD8 -). În sângele periferic la subiecții sănătoși celulele T limfocitare „dublu negativ” (CD4 -, CD8 -) se determină într-o proporție de 3-5%, iar cele „dublu pozitiv” – nu depășesc valoarea de 5%. Majorarea numărului 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 celulare, frecvent întâlnit în procesele autoimune. Valoarea 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 [46, 47, 50].

Rezultatele obținute la pacienții cu HVBC și HVCC examinați ne-au permis determinarea fenotipului „dublu negativ” (CD4 -, CD8 -) < CD3 într-o proporție 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) a constituit 21,6%, fiind determinat în 41% din cazuri de HVCC și 36% – cu HVBC. Datele căpătate în cercetările noastre ne permit a concluziona că una dintre particularitățile evolutive ale statusului imun al copiilor cu HVCC este predominarea fenomenului „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+)>CD3 la o treime din pacienți și a celui „dublu negativ” (CD4-, CD8-)<CD3 la 41%. Pentru hepatita virală B cronică la copiii incluși în studiul dat a fost caracteristică predominarea fenomenului „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+)>CD3 în 36% din cazuri, cel „dublu negativ” (CD4-, CD8-)<CD3 fiind determinat la doar 4% din copii. Rata mare a fenotipului „dublu pozitiv” la pacienții cu HVBC este o expresie a stimulării antigenice permanente a sistemului imun celular și a persistenței mecanismelor de apărare, ca rezultat al stresului cronic infecțios indus de VHB, astfel fiind demonstrată imaturitatea și decompensarea sistemului imun celular la copii.

Celulele T limfocite mature CD5 reprezintă o subpopulație celulară mică ca proporție de limfocite B, dar cu un rol important în declanșarea reacțiilor de apărare ale organismului uman. Rezultatele obținute în cercetarea actuală au confirmat ponderea diminuată a limfocitelor T mature (CD5) în ambele loturi ale pacienților cu HVBC și HVCC (Figura 4.6), cu relevanță statistică valoroasă la compararea indicilor între loturile de bază și cel martor ($p_{1,2}<0,001$; $p_{2,3}<0,001$).

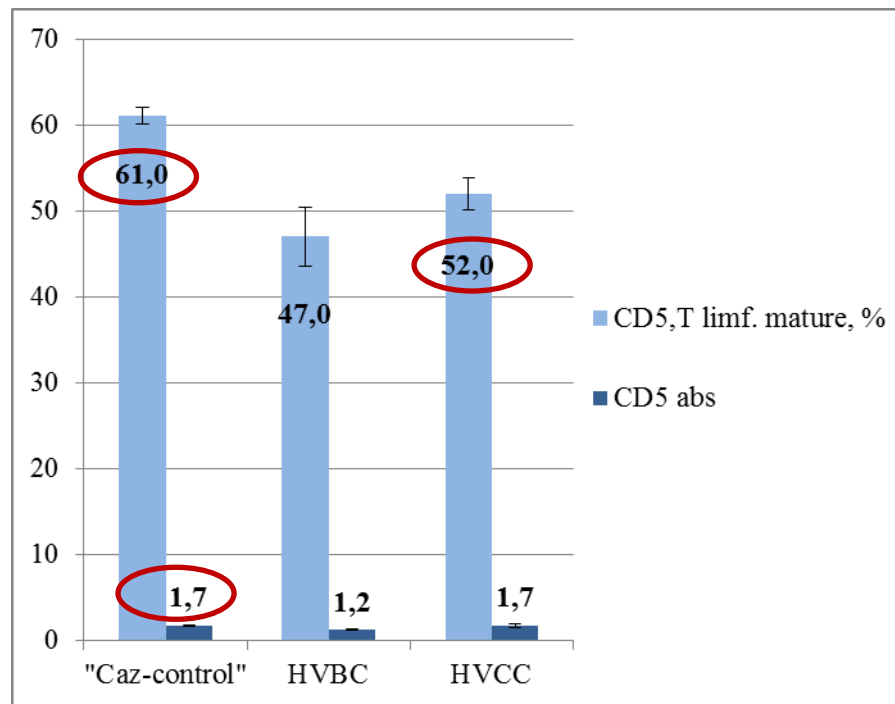


Fig. 4.6. Celulele T limfocitare mature CD5 (% , abs) în HVBC și HVCC la copiii investigați

La copiii cu HVBC și HVCC, comparativ cu cei din lotul martor, cu o veridicitate statistică, au fost constatate valori crescute ale celulelor T limfocitare CD16 (kileri naturali), caracteristice procesului activ viral cronic indus de VHB sau VHC (Figura 4.7); a limfocitozei și reacțiilor masive de eliminare a virusurilor hepatice prin mecanisme antigen-specifice și nespecifice cu relevanță statistică ($p_{1,3} < 0,001$; $p_{2,3} < 0,05$).

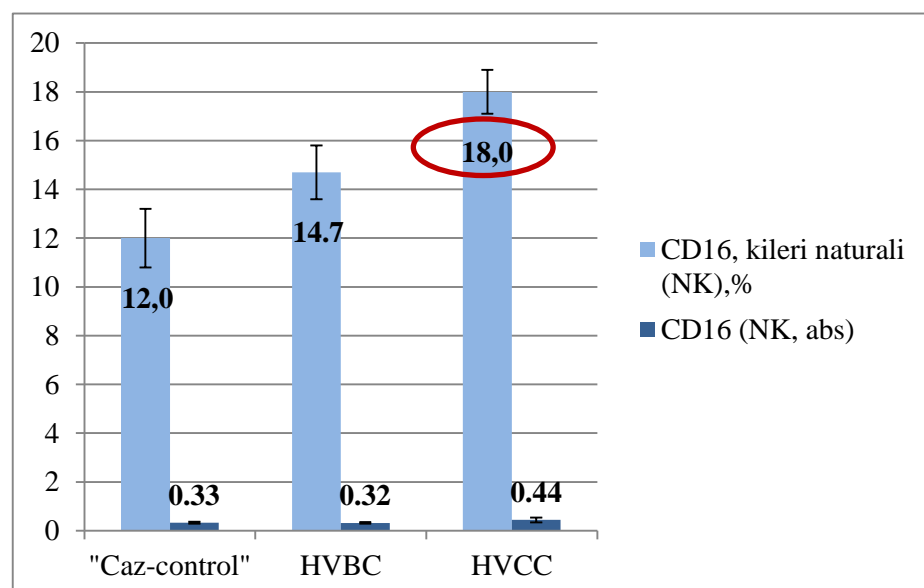


Fig. 4.7. Limfocitele T kileri naturali (NK) CD16 (% , abs) în HVBC și HVCC la copiii investigați

Majorarea cantitativă a numărului celulelor T limfocitare CD16 este specifică proceselor cronice virale, acestea corelând clinic cu procesul intens de stimulare antigenică persistentă, cu implicarea mecanismelor nespecifice și specifice de eliminare a VHB și VHC.

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

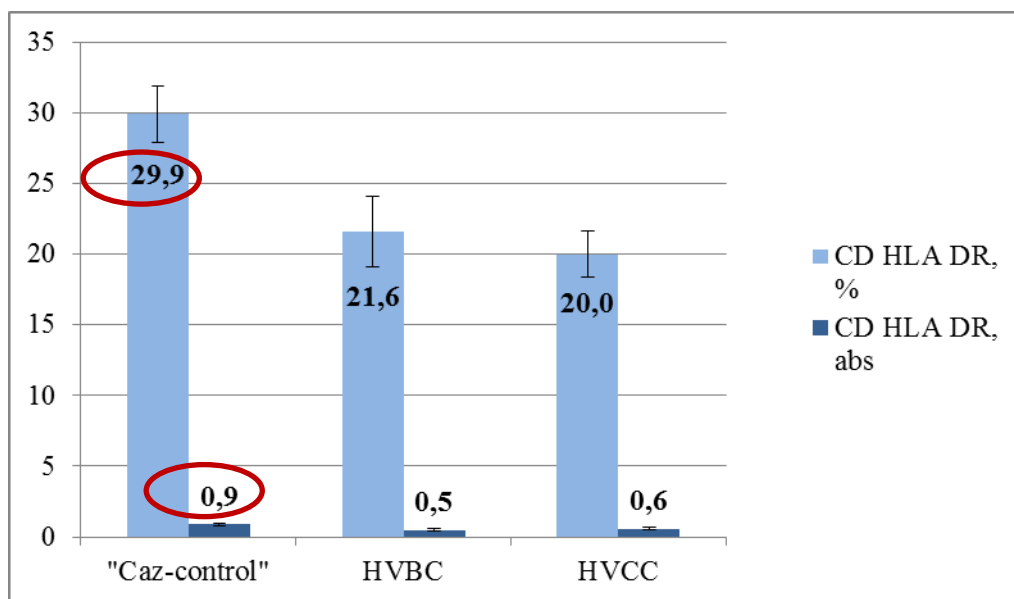


Fig. 4.8. CD HLA DR, limfocitele T activate/ limfocitele B (% , abs) în HVBC și HVCC la copiii investigați.

Diminuarea T limfocitelor activate cu fenotipul CD HLA DR la copiii cu hepatită virală B și C cronică confirmă prezența unui răspuns insuficient T celular la stimularea antigenică în HVBC și HVCC, astfel justificând la marea măsură evoluția maladiei în forme active cu viremie înaltă și persistentă VHB și VHC.

Diferențierea limfocitelor T în 2 tipuri de populații are loc doar în timus: limfocitele T helper (Th), care sunt purtătoare de markerul CD4+ și limfocitele T citotoxice, purtătoare de marker CD8+ într-un raport de 2:1 [39, 64]. La producerea de către timus a celulelor Th (neactive), în sânge, are loc activarea lor cu transformarea acestora în Th 1 și Th 2, care mediază reacțiile imune celulare în procesele inflamatorii cronice (Th1) sau a celor umorale cu sinteza anticorpilor specifici (Th2), [51]. Celulele CD8+ (limfocitele T citotoxice) asigură dezvoltarea răspunsului antiviral și asigură sinteza citokinelor proinflamatorii IL-2, INF- γ , TNF- α . Conform unei ipoteze în HVBC rolul important în eliminarea VHB din organism îl au reacțiile imune între celulele T helper 1 (CD4+) antigen-specifice și celulele T citotoxice (purtătoare de CD8+) [2, 3].

În HVCC la copii reacțiile imune ale organismului au un rol secundar în asigurarea mecanismului de lizare a hepatocitelor infectate, acestea fiind mediate de limfocitele T CD8+ citotoxice cu inducerea reacțiilor autoimune în majoritatea cazurilor. Persistența îndelungată a viremiei înalte VHC la cea mai mare parte de pacienți cu HVCC poate fi explicată prin variabilitatea genomică și modificarea persistentă a structurii antigenice a virusului, pe de o parte, și tipul reacțiilor imune realizate de sistemul imun celular al copilului infectat, pe de altă parte, care îi permit VHC de a se eschiva de la controlul imunologic, astfel asigurându-și reproducerea continuă și menținerea procesului cronic inflamator activ viral.

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

Citokinele proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α au un rol important în procesele de mediere și asigurare a răspunsului imun specific și nespecific în patologia infecțioasă la copii [1,4,8]. Estimarea rolului citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α în imunopatogeneza HVBC și a HVCC poate facilita percepția mecanismelor de mediere imună a proceselor inflamatorii cronice virale și descoperirea particularităților de funcționalitate ale celulelor imunocompetente.

Recunoașterea virusului și supresia procesului de replicare virală VHB sau VHC se realizează prin intermediul citokinelor proinflamatorii – interleukina 2 (IL-2), interleukina 6 (IL-6), factorul tumoral de necroză alfa (TNF- α), care asigură reglarea echilibrului celulelor T limfocitare și a subpopulațiilor lor, a celulelor B limfocitare, activarea lor, diferențierea celulelor efectoare și sinteza citokinelor antiinflamatorii IL-4, IL-10 [4, 7, 8]. Activarea citokinelor proinflamatorii este inițiată odată cu reproducerea activă a VHB sau VHC și creșterea titrului de viremie [2, 3]. Prin intermediul citokinelor proinflamatorii limfocitele T helper recunosc agentul patologic și stimulează activarea T limfocitelor kileri naturali pentru distrugerea hepatocitelor infectate, iar limfocitele T supresor diminuează aceste procese, asigurând astfel echilibrul imunologic celular în organism [9].

În scopul determinării importanței citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α în imunopatogeneza HVBC și HVCC la copii ne-am propus cercetarea valorilor serice ale limfocitelor T CD3 și a subpopulațiilor lor la 49 de pacienți cu HVBC (30), HVCC (19) și 21 de copii din lotul „caz-control”, (Tabelul 4.2).

Tabelul 4.2. Citokinele proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α în HVBC și HVCC la copiii investigați

Citokinele	Lotul „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

Conform rezultatelor obținute (Tabelul 4.2), la copiii cu HVBC și HVCC în sânge au fost determinate valori majorate de 20 de ori ale IL-2 față de cele de referință, cu o veridicitate statistică înaltă, comparativ cu indicele similar al copiilor din lotul „caz-control” ($p_{1,2}<0,05$; $p_{1,3}<0,05$; $p_{2,3}>0,05$). Am constatat de asemenea o dependență invers proporțională a valorilor serice ale IL-6 și TNF- α față de valorile IL-2 la pacienții din ambele loturi de bază (HVBC și HVCC).

Expresia înaltă a IL-2 în sângele pacienților cu HVBC și HVCC semnifică intensitatea răspunsului imun al organismului copiilor infectați cronic la pătrunderea agentului infecțios VHB sau VHC și proporția procesului de replicare virală (Figura 4.9). Interleukina proinflamatorie IL-2 este considerată un marker serologic important patogenetic în procesul de realizare a răspunsului imun specific și nespecific. IL-2 contribuie la activarea receptorilor față de IL-2 de pe suprafața limfocitelor T, stimulează maturizarea limfocitelor B și secreția de către hepatocit a proteinelor de fază acută, amplifică funcția neutrofilelor și a celulelor CD16 (NK), asigurând interrelația între mecanismele de realizare a procesului inflamator la nivelul sistemului celular imun, hormonal și nervos [45, 50, 51].

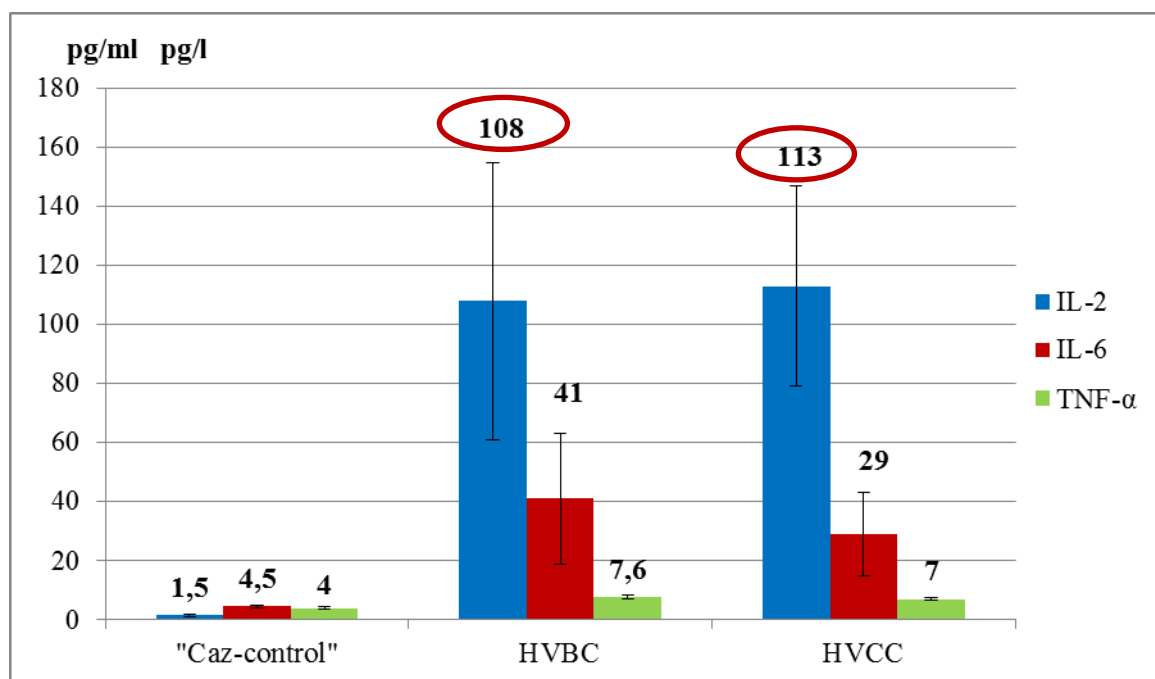


Fig. 4.9. Nivelul seric al citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6 (în pg/ml), TNF- α (pg/l) în HVBC și HVCC la copiii investigați

Diminuarea de 7 ori a valorilor serice ale citokinei proinflamatorii IL-6 și doar de două ori a valorilor TNF- α comparativ cu aceiași indicatori la copiii din lotul „caz-control” confirmă realizarea insuficientă a fenomenului de activare a celulelor limfocitare T și B, transformarea redusă a limfocitelor B în plasmocite – celule secretorii de anticorpi specfici. Aceste fenomene

induse de nivelele joase ale IL-6 și TNF- α serice la copiii cu HVBC și HVCC, în opinia noastră, au o interdependență directă cu procesele de stimulare antigenică persistentă de către VHB sau VHC și determină tipul răspunsului imun al copilului infectat cronic.

Citokina proinflamatorie IL-6 este sintetizată de către macrofage, limfocitele T și B, și are rolul de a asigura proliferarea în timus a celulelor limfocitare T, a limfocitelor B, a celor granulocitare și macrofagice, precum și stimularea producerii proteinelor de fază acută în procesele inflamatorii cronice [7, 8].

Factorul tumoral de necroză alfa (TNF- α) caracterizează procesele de inflamație și cele de eliminare a celulelor infectate prin citotoxicitate directă sau apoptoză celulară. Citokina proinflamatorie TNF- α este secretată de celulele macrofagice, limfocitele T și B și se referă la limfotokine, punctul lor de acțiune fiind poarta de intrare a agentului patogen infecțios, cu inducerea sintezei proteinelor de fază acută ale inflamației [2, 3, 8]. Din punctul nostru de vedere, nivelul seric al TNF- α la copiii cu HVBC și HVCC reflectă capacitatea sistemului imun de a răspunde adecvat la stimularea antigenică virală indus de VHB și VHC și atestă expresia severității procesului inflamator viral cronic în ficat.

Reglarea și controlul nivelului citokinelor inflamatorii în sânge este efectuată de citokinele antiinflamatorii IL-4, IL-10, IL-13 [7, 8]. Studiile clinice au constatat, că limfocitele T helper (Th1) prin intermediul IL-2 induc activarea limfocitelor T citotoxice (supresor) CD8+ și amplifică sinteza interferonului gama (INF- γ), IL-2, TNF- α [2, 3, 4]. Activarea limfocitelor T helper 2 (Th2) stimulează imunitatea umorală, contribuind la maturizarea limfocitelor B și la sinteza citokinelor proinflamatorii [3, 8]. Activarea Th1 favorizează declanșarea reacțiilor imune de eliminare a virusului din organism, iar a Th2 – a persistenței infecției cu VHB sau VHC [2, 8].

Cercetările noastre privind particularitățile celulelor limfocitare T CD3 și ale subpopulațiilor lor, expuse în subcapitolul precedent, au evidențiat un dezechilibru total al sistemului imun celular, cu o deficiență nesemnificativă a limfocitelor T helper (Th1 și Th2) CD4+, a limfocitelor T supresor CD8+ în ambele loturi de pacienți cu hepatite virale cronice B și C, demonstrate prin relevanța înaltă statistică la compararea indicilor între loturile studiate. Rezultatele obținute demonstrează rolul important al statusului imun celular în dereglarea procesului de sinteză a citokinelor proinflamatorii și antiinflamatorii, cu menținerea mecanismelor de sensibilizare antigenică persistentă a factorilor imuni celulari în organismului copilului infectat cronic cu VHB sau VHC. Cele expuse mai sus demonstrează cu certitudine care sunt acele mecanisme de cronicizare ale infecției cu VHB sau VHC la copii, precum și cele de menținere a reproducției virale timp îndelungat pe fundalul unei activități necroinflamatorii și fibrozei hepatice minimale.

Datele obținute în studiul nostru și prezentate în Tabelul 4.1 confirmă faptul că citokinele proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α au un rol important în realizarea mecanismelor

imunopatogenetice ale procesului viral cronic în HVBC și HVCC la copii prin instalarea imunodeficienței celulare secundare și menținerea procesului de reproducere virală continuă.

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 stabilit 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 III (neactivă) virală sau cu viremie minimală exprimată prin ADN VHB < 2000 ui/ml – valorile serice ale IL-2 și IL-6 au fost mai diminuate ($p > 0,05$).

Nivelul seric al citokinelor proinflamatorii IL-2 și IL-6 la copiii cu HVCC și ARN VHC < 600 000 ui/ml a fost mai mare, comparativ cu cei la care ARN VHC depășea 600 000 ui/ml ($p > 0,05$). Concentrația serică a TNF- α la pacienții cu HVBC și HVCC era crescută ne semnificativ, comparativ cu cei din lotul „caz-control”.

Studiile experimentale din ultimii ani, prin inducerea stresului la pacienții cu procese infecțioase, a constatat o regularitate de apariție a modificărilor privind concentrația serică a citokinelor proinflamatorii: în procesele acute infecțioase la etapele precoce se atestă expresia crescută a IL-1 α , IL-1 β , IL-6 și TNF- α , iar la etapele tardive ale procesului infecțios – creșterea IL-2, IL-3, IL-4, INF- γ [46]. Tulburările proceselor de adaptare a organismului copilului la procesul de stres cronic infecțios indus de VHB, în special la cei de vârstă fragedă, facilitează formarea dezechilibrului celular în sistemul imun celular, cu dezvoltarea stării de imunodepresie celulară prin mecanism secundar, și apariția disfuncțiilor în sistemul de sinteză a citokinelor proinflamatorii [46].

Rezultatele obținute în studiul de față au demonstrat prezența concentrației serice majorate a citokinei proinflamatorii IL-2 și concentrațiilor diminuate ale IL-6, TNF- α la copiii cu HVBC și HVCC în faze active de viremie VHB sau VHC. Intensitatea sintezei citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α este dependentă de mecanismele imunoreglatorii complicate ale sistemului celular limfocitar T și B și reflectă interacțiunea nemijlocită a multitudinii de factori a sistemului imun celular și umoral, prin activarea sau stoparea producerii acestora sau a celor antiinflamatorii. Această valoroasă corelație a diferitor factori ai imunității celulare și umorale la copii de diferită vârstă cu HVBC și HVCC este una decisivă pentru tipul răspunsului imun, exercitând rolul factorilor-cheie în procesul de cronicizare. Particularitățile modificărilor imunopatologice constatate în studiile noastre asupra statusului imun celular limfocitar T și B și al citokinelor proinflamatorii la copiii cu HVBC, ne-am propus o nouă viziune de abordare a patogenezei HVBC la copii cu implicarea imunității celulare și a citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6 și TNF- α , cu suplimentarea schemei de mecanisme imunopatogenetice ale procesului infecțios cronic indus de VHB la copii (Figura 4.10).

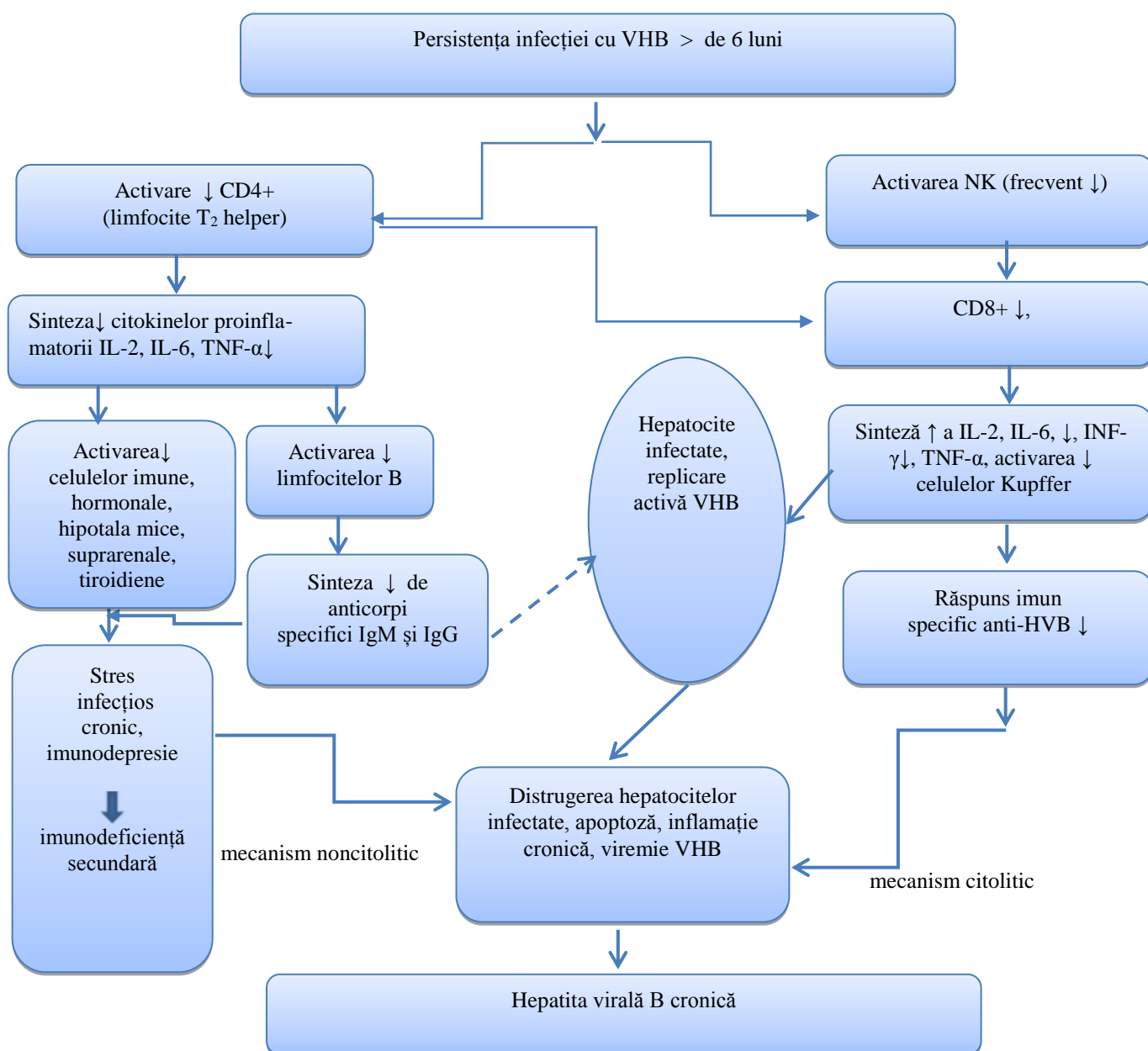


Fig. 4.10. Mecanismul imunopatogenetic în HVBC la copii, mediat de CD4+, CD8+ și citokinele proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF-α (propusă de autor, 2017)

În cazul infectării cu VHB a copiilor de diferită vârstă, pe de o parte, are loc activarea celulelor T2 limfocitare helper CD4+ și a fermeților ce stimulează sinteza citokinelor proinflamatorii IL-2 și IL-6. Pe de altă parte, se atestă activarea insuficientă a celulelor Kupffer și limfocitelor T NK de către semnalările prin impulsuri de stres de pe membrana hepatocitelor infectate, reducerea numărului de limfocite T supresor CD8+ în sânge din motivele migrării intense a acestora spre ficatul-țintă infectat și sinteza sporită de IL-2 și diminuată a IL-6, INF-γ,

TNF- α . Concomitent are loc sensibilizarea insuficientă a celulelor limfocitare B care, la rândul lor, sintetizează insuficient anticorpii specifici de clasa IgM și IgG către VHB. Ca rezultat al persistenței îndelungate, mai mult de 6 luni a VHB, are loc menținerea stresului cronic infecțios endogen, cu un răspuns imun nespecific insuficient, cu decompensarea mecanismelor neuro-endocrino-imune de apărare, persistența imunodepresiei și instalarea imunodeficienței secundare cronice. Prin intermediul celulelor limfocitare T CD8+, mecanisme noncitolitice și citolitice la copii are loc formarea hepatitei virale B cronice.

Concluzie la Capitolul 4

1. Statusul imunității celulare în expresia limfocitelor T CD3, CD4+, CD8+, CD5 mature, CD16 (NK), CD19 (B limfocite) și citokinelor proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α are un rol important în menținerea echilibrului reacțiilor imune în organismul copilului infectat cronic cu VHB sau VHC.
2. Imunodeficiența secundară, exprimată prin valori serice diminuate ale numărului celulelor limfocitare T totale CD3, supresorilor CD8+, CD5 mature, CD19 și creșterea celulelor CD16 (NK), este rezultatul „stresului cronic infecțios” dezvoltarea unui răspuns imun neadekvat și insuficient, mult mai marcant la pacienții cu HVBC.
3. Indicii imunoreglatori CD4+/CD8+ și (CD4+/CD8+)/CD3 au o semnificație clinică importantă ca markeri ai fenomenelor autoimune în HVBC și HVCC, acestea fiind mult mai evocatori în HVBC.
4. Fenotipul „dublu negativ” (CD4-, CD8-)<CD3 într-o pondere înaltă de 21,4% la 32% din pacienți cu HVCC și fenotipul „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+)>CD3 într-o pondere majorată de 21,6% la 41% din pacienți cu HVCC și la 36% cu HVBC este o justificare a persistenței reacțiilor imune induse de „stresul cronic infecțios” continuu și a decompensării mecanismelor de apărare ale organismului copilului la stimulările antigenice de către VHB și VHC.
5. La baza patogenezei proceselor cronice inflamatorii și ale fibrogenezei observate în hepatitele virale B și C cronice la copii se află reacțiile imune celulare limfocitare T și B, mediate de citokinele proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF- α , drept rezultat al procesului complicat de interacțiune între VHB sau VHC și organismul-gază.
6. Celulele limfocitare T CD3 și subpopulațiile lor au un rol important în imunopatogeneza hepatitelor virale B și C cronice la copii. HVBC se caracterizează prin tulburări ale echilibrului imun, cu diminuarea numărului celulelor limfocitare T CD3, CD19, CD8+, CD5, cu creșterea indicelui imunoreglator CD4+/CD8+, a CD16 (NK) și a fenotipului „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+)>CD3 la 36% din copiii ca exprimare a componentului autoimun.
7. Particularitățile statusului imun în HVCC la copiii incluși în studiu sunt manifestate prin dezechilibrul ușor al celulelor limfocitare B (CD19) și T limfocitare CD3, CD4+, CD8+, CD5, a fenotipului CD HLA DR, majorarea indicelui imunoreglator CD4+/CD8+ și a celulelor T limfocitare NK (CD16), predominarea fenotipului „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+)>CD3 în 41% din cazuri ca rezultat al persistenței mecanismelor autoimune de apărare. Procesele autoimune în HVCC la copii favorizează evoluția persistentă și silențioasă

a maladiei, menținerea îndelungată a procesului de reproducere activă a VHC și a procesului necroinflamator minimal sau moderat.

8. IL-2 este un mediator important al sistemului citokinelor proinflamatorii, contribuie la activarea receptorilor față de IL-2 de pe suprafața limfocitelor T, stimulează maturizarea limfocitelor B și secreția de către hepatocite a proteinelor de fază acută, amplifică funcția neutrofilelor și a celulelor kileri CD16 (NK), astfel menținând echilibrul celulelor imunocompetente, cu rol decisiv în imunopatogenza formelor clinice ale HVBC și HVCC. Valorile majorate ale IL-2 exprimă intensitatea răspunsului imun celular și gradul de expresivitate al viremiei în HVBC și HVCC la copii.
9. Citokinele proinflamatorii IL-6 și TNF- α la copiii cu HVBC și HVCC cu valori ușor majorate, concomitent cu valorile crescute ale IL-2, reflectă răspunsul imun întârziat și insuficient al sistemului imun celular, ca rezultat al dereglării mecanismelor de menținere a echilibrului imunologic și al sintezei reduse a mediatorilor inflamației cronice infecțioase induse de VHB sau VHC.

5. TRATAMENTUL ANTIVIRAL ȘI NEVIRAL ÎN HEPATITELE VIRALE B ȘI C CRONICE LA COPII ȘI PRINCIPIILE DE OPTIMIZARE A LUI

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

Strategiile terapeutice contemporane și etiopatogenetice în hepatitele virale B cronice la copii includ administrarea remediilor antivirale în monoterapie a alfa 2b sau 2a interferonului pegilat sau convențional, cu administrare subcutanată pentru un termen de 48 de săptămâni sau a analogilor nucleotidici (-nucleozidici), așa ca lamivudina, adefovir, entecavir, tenofovir disoproxil fumarat pe cale orală, pe un termen de câțiva ani (nivelul II de evidență, gradul de recomandare - 2, EASL - ESPGHAN [112, 140, 160]).

Standardul tratamentului etiopatogenetic în HVCC la copii recomandă administrarea combinată a interferonului convențional (3 admistrări pe săptămână) sau pegilat subcutanat, o dată în săptămână, combinată cu ribavirina în formă capsulată de 2 ori în zi, timp de 24-48 de săptămâni. Acest regim de tratament este unul complicat și costisitor, de lungă durată, cu multiple reacții adverse și o eficacitate redusă, în special în genotipul 1b VHC [137, 141]. Utilizarea acestor remedii antivirale în tratamentul HVBC sau HVCC la copii este dificilă, dependentă de vârsta, greutatea copilului și suprafața corporală, forma clinică a maladiei cronice, faza procesului viral, comorbiditățile existente, toleranța și complianța pacientului și a familiei lui la terapie [96].

Scopul principal al terapiei antivirale în HVBC și HVCC este reducerea pe termen lung a nivelului de viremie VHB sau VHC, inducerea seroconversiei parțiale AgHBe/anti-HBe la pacienții cu HVBC cu AgHBe pozitiv și meținerea răspunsului parțial imun antiviral, normalizarea ALT și a stării generale a pacientului, obținerea remisiei procesului cronic inflamator, supresia totală a reproducerii VHB sau VHC și obținerea optimală a seroconversiei totale AgHBs/antiHBs, pentru creșterea șanselor de vindecare și ameliorare a calității vieții acestor pacienți [96].

Din anul 2011, tratamentul antiviral cu INF alfa 2b pegilat la copii a fost aprobat de Ministerul Sănătății al Republicii Moldova în cadrul Programului Național de combatere a hepatitelor virale B, C și D și inițiat cu acordul scris al părinților pacienților. Protocolul de cercetare a obținut avizul favorabil al comisiei instituționale privind tratamentul costisitor al SCRC „Em. Coțaga” (2011) și al Comitetului de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (proces verbal nr. 2 din 21.09.2015). Criteriile de includere și excludere în studiu au fost descrise în capitolul „Materiale și metode de cercetare”. Designul cercetării este prezentat în Figura 5.1. Fiecărui pacient înrolat în studiu i-a fost efectuat screeningul clinic și paraclinic (acuzele, anamneșticul maladiei, anchetarea epidemiologică, examenul fizic, biochimic, imuno-serologic, instrumental) după metodologia descrisă în capitolul precedent.

Studiul de față a inclus 98 de copii cu HVBC (49) și HVCC (49), cu vârsta cuprinsă între 3-18 ani, viremie VHB sau VHC măsurată cantitativ și sindrom de citoliză prezent, dintre care

doar 96 (HVBC - 48; HVCC - 48) au finisat cura de tratament. Durata tratamentului cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard) monoterapie în HVBC a fost de 24-48 de săptămâni, iar a celui combinat cu ribavirină în HVCC - de 24-48 de săptămâni, în dependență de genotipul VHC. Pacienții cu HVBC și HVCC pentru tratament antiviral au fost selectați din numărul copiilor spitalizați în secția de hepatologie pediatrică a SCRC “Em.Coțaga” în perioada 2010-2016 cu diagnosticul de hepatită cronică.

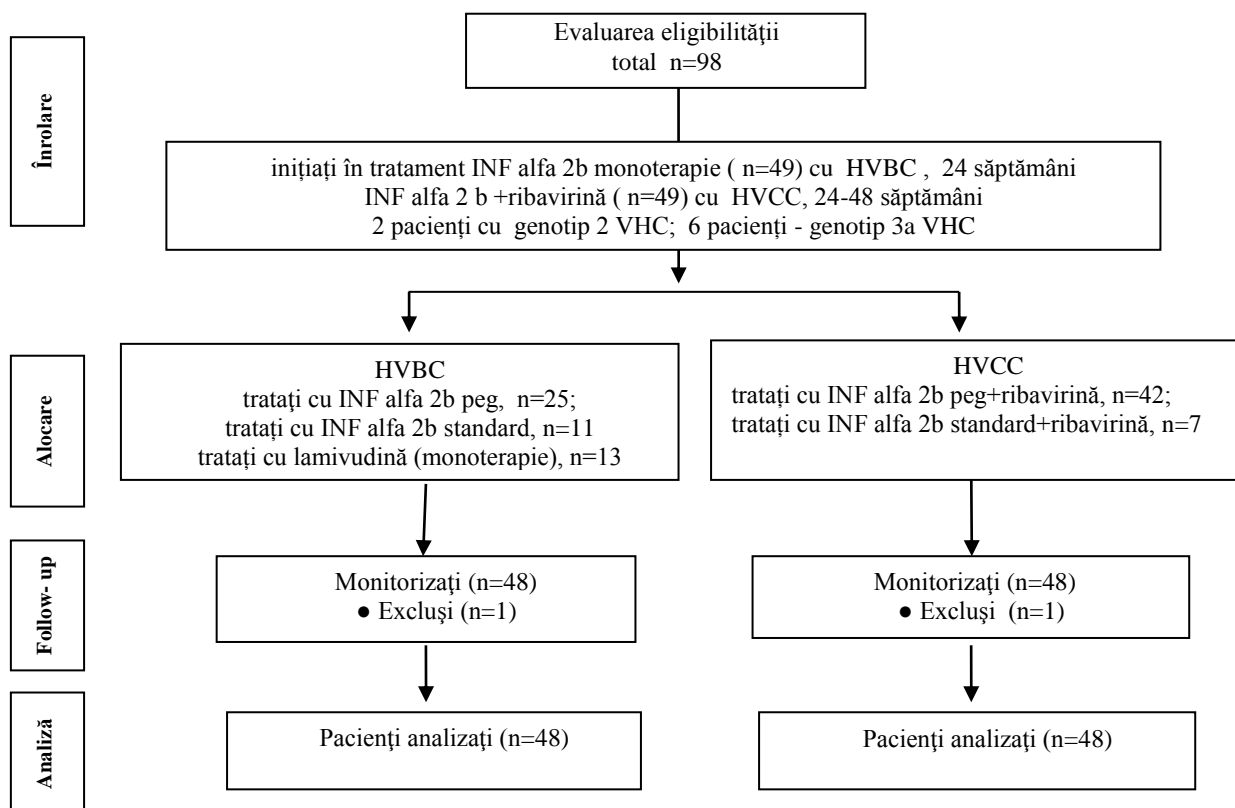


Fig. 5.1. Diagrama CONSORT a fluxului de pacienți tratați cu INF alfa 2 b pegilat (sau standard) monoterapie în HVBC sau combinată cu ribavirină (biterapie) în HVCC.

Diagnosticul de HVBC și HVCC la copii a fost confirmat în baza criteriilor aprobate de Clinical Practice Guideline (EASL, ESPGHAN). Sindromul de citoliză a fost stabilit în baza ALT și AST crescut ≥ 2 ori față de valorile normale. Marcherii VHB în HVBC testați pretratament au fost următorii: HBsAg+, anti-HBs, anti-HBcor totali, HBeAg+, anti-VHD totali, determinarea genotipului VHC, ADN VHB, ARN VHD și ARN VHC (semicantitativ) și cantitativ (în două etape) prin metoda PCR Real Time, cu echipament Corbett Rotor-GENE Abbott 2000RT (Centrul Republican de Diagnostică). În HVCC, anti-HCV totali au fost determinați prin metoda imunoenzimatică ELISA.

Interferonul alfa 2b standard a fost administrat parenteral în doze 3 mln x 3 ori în săptămână, iar interferonul alfa 2 pegilat – în doză 60 mcg/m²/săptămână (echivalent cu 1,5 mcg/kg/săptămână) timp de 24 de săptămâni în HVBC (fără agent delta) și de 48 de săptămâni – asociată cu agentul delta. În 13 cazuri de HVBC la copii de vârstă sub 5 ani, care nu au fost încadrați în tratamentul cu interferon alfa 2b pegilat, la acordul familiei pacientului, a fost administrată lamivudina în doză 3 mg/kg/24 de ore pentru o perioadă de 48 de săptămâni.

În HVCC interferonul alfa 2b (standard) la copiii incluși în cercetare a fost administrat parenteral, în doza de 3 mln x 3 ori/săptămână, iar interferonul alfa 2b pegilat – în doză 60 mcg/m²/săptămână (echivalent cu 1,5 mcg/kg/săptămână) combinat cu ribavirina, în doză de 15 mg/kg/corp/24 de ore în două prize oral, timp de 24 de săptămâni în genotipul 2 și 3 VHC și timp de 48 de săptămâni – în genotipul 1 VHC.

Tabelul 5.1. Remediile antivirale utilizate și ponderea (%) copiilor tratați cu INF alfa 2b pegilat (sau standard) monoterapie în HVBC și combinat cu ribavirină în HVCC

Remediile antivirale	HVBC (n=48 pacienți)	HVCC (n=48 pacienți)	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

Fiecare pacient înrolat în tratamentul antiviral a fost reevaluat fizic, clinic și imuno-serologic peste 1 lună, apoi la 3, 6, 9 și 12 luni de tratament privind starea generală, acuzele, greutatea ponderală, frecvența pulsului, tensiunea arterială, reacțiile adverse, parametrii paraclinici: hemograma și trombocitele, bilirubina totală și fracțiile ei, ALT, AST, proteina totală. Măsurarea cantitativă a ADN VHB, ARN VHD (în cazurile de prezență a agentului delta) și ARN VHC a fost efectuată la a 4-a, la 12, 24, 48 de săptămâni și peste 6 luni după terminarea tratamentului antiviral.

Drept răspuns virusologic timpuriu la tratamentul cu remedii antivirale a fost considerată negativarea ADN VHB și ARN VHC la 12 săptămână de tratament, iar menținerea negativă a nivelului viremiei VHB sau VHC timp de 6 luni după finalizarea tratamentului antiviral a fost considerată ca un răspuns virusologic susținut (RVS). Lipsa negativării viremiei peste 3 luni de

tratament sau a diminuării cu mai puțin de 2 log₁₀ ui/ml a ADN VHB sau ARN VHC a fost considerată ca absența răspunsului (NR), iar diminuarea nivelului viremiei cu mai mult de 2 log₁₀ ui/ml peste 3 luni de tratament a fost considerată ca un răspuns virusologic parțial (RVP).

Din cei 98 de copii cu HVBC și HVCC înrolați în tratamentul antiviral, o cură deplină au efectuat 96; doi pacienți au fost excluși din motiv individual: un pacient cu HVCC a abandonat terapia având intoleranță la interferon alfa 2b pegilat și ribavirină cu persistența sindromului de cefalee rezistentă timp de 2-3 zile după injectarea INF, a sindromului gripal exprimat; alt pacient cu HVBC – din motivul plecării peste hotarele țării împreună cu familia. Toți ceilalți pacienți care au urmat până la finisare cura de tratament antiviral au prezentat o complianță înaltă la tratament, beneficiind de suport medico-psihologic pe toată perioada.

Reacțiile adverse (Figura 5.2.) constatate pe parcursul tratamentului antiviral cu INF alfa 2b pegilat (monoterapie) sau combinat cu ribavirină au fost următoarele: sindrom gripal în 25 (100%) din cazuri de HVBC și în 24 (49%) cu 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 cu HVBC și 33% (16) cu HVCC, exprimate prin diminuarea nivelului hemoglobinei serice (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 remediului, 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 cu succes 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.

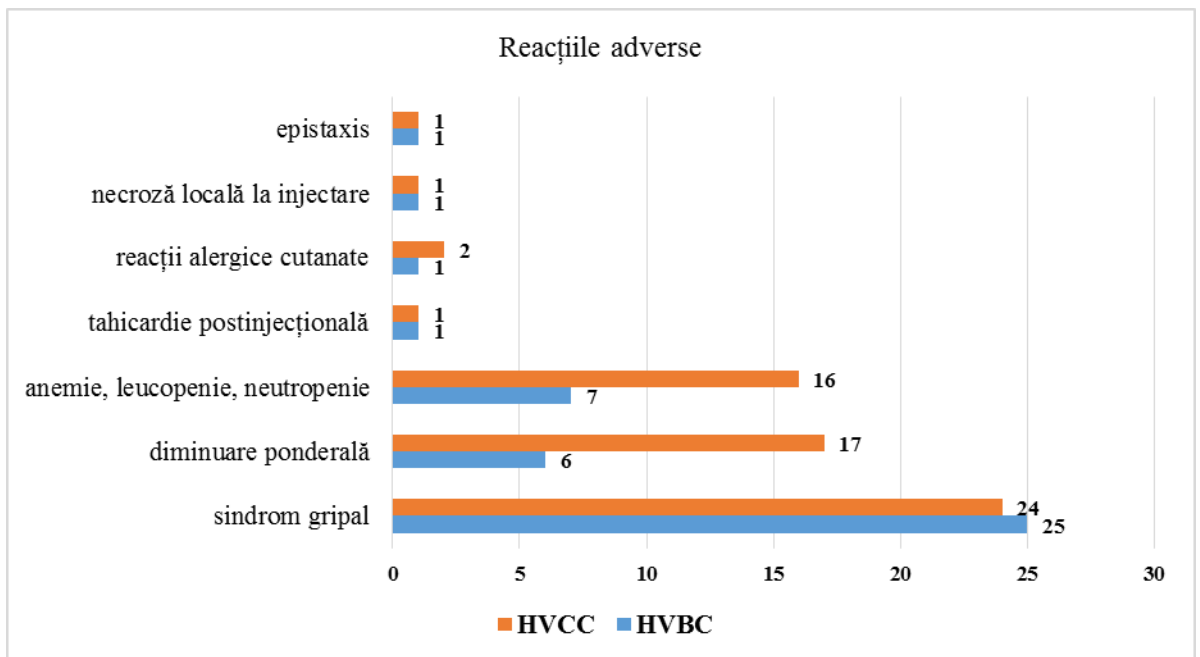


Fig. 5.2. Reacțiile adverse în HVBC și HVCC la copiii tratați cu cu INF-alfa 2b pegilat sau standard (monoterapie) în HVBC și celui combinat cu ribavirină în HVCC (abs), $p < 0,001$

Rezultatele obținute în actuala cercetare demonstrează o veridicitate statistică relevantă (Figura 5.3) a eficienței terapiei antivirale cu interfereon alfa 2b (standard sau pegilat) în 31% (15) din cazuri de HVBC și 60% din cazuri de HVCC ($p < 0,001$).

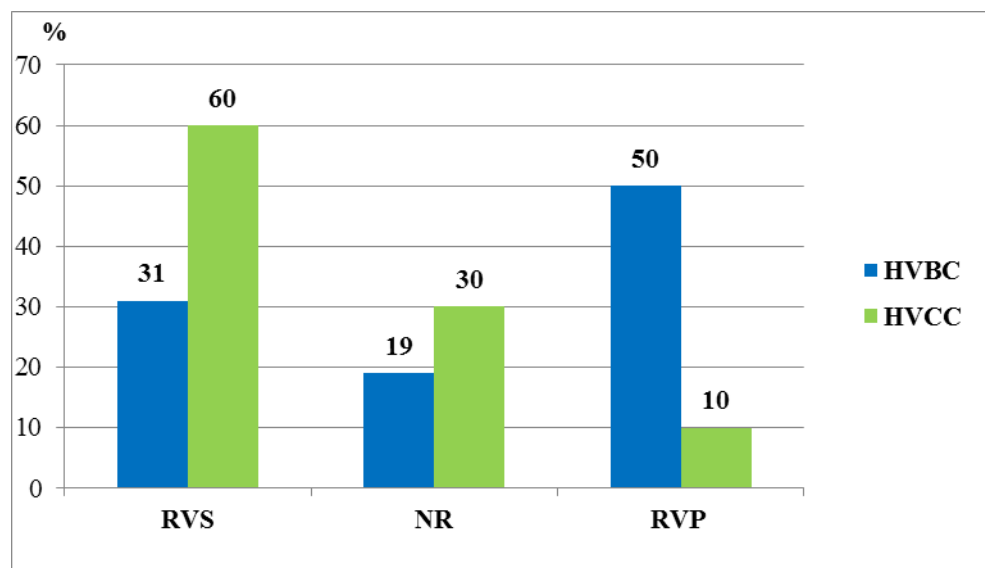


Fig. 5.3. Rezultatul tratamentului antiviral cu INF-alfa 2b pegilat sau standard (monoterapie) în HVBC și celui combinat cu ribavirină (biterapie) în HVCC (%), $p < 0,001$

50% din pacienții cu HVBC tratați cu interfereon alfa 2b (standard sau pegilat) au realizat un răspuns virusologic parțial (RVP), iar 19% din pacienți nu au răspuns la terapia efectuată ($p < 0,001$). Terapia combinată antivirală la pacienții cu HVCC care au primit INF-alfa 2b pegilat și

ribavirină au prezentat răspuns virusologic susținut (RVS) în 60% din cazuri, RVP – în 10% din cazuri. 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 peste 3 luni de la debutul terapiei și care s-a menținut timp de 5 ani de supraveghere dinamică.

Remediile antivirale utilizate pentru tratamentul antiviral în HVBC și HVCC la copiii incluși în studiu sunt prezentate în Tabelul 5.1. Reexaminarea pacienților cu HVCC la 6 luni după anularea tratamentului antiviral a constatat că RVS (Figura 5.4.) a fost menținut în 59,2% (29) din cazuri, iar răspunsul virusologic parțial obținut anterior a fost menținut doar de 22,4% (11) din cazuri ($p < 0,001$).

Un număr de 111 (61%) pacienți cu activitate inflamatorie și persistență a viremiei VHC au fost monitorizați pe durata de 1 an, 22,4% (39) cu viremie au continuat supravgherea timp de 3 ani, iar 4,4% (8) – timp de 5 ani.

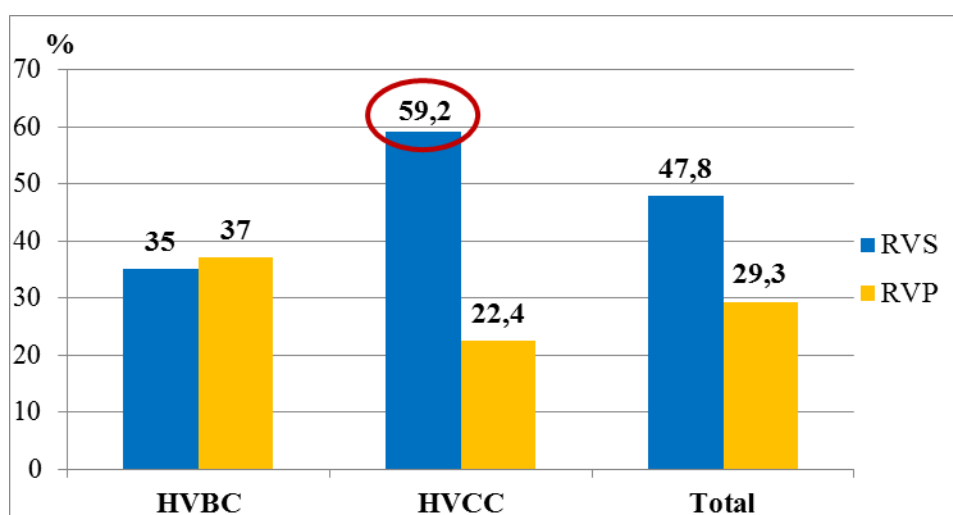


Fig. 5.4. Rezultatul tratamentului antiviral cu INF alfa 2b peg (standard) în HVBC și HVCC la copiii incluși în studiu. RVS – răspuns virusologic susținut; RVP – răspuns virusologic parțial, în % ($p < 0,001$)

Managementul terapeutic al hepatitelor virale B, C cronice la copii continuă să reprezinte o problemă dificilă nerezolvată în practica pediatrică până în prezent [161]. La copii sunt raportate date insuficiente privind eficacitatea terapiei antivirale pe termen lung. Rezultatele pe termen lung ale pacienților cu vârsta între 3 - 12 ani tratați cu lamivudină indică o rată redusă a RVS între 15-34% din cazuri, existând riscul major pentru instalarea acidozei lactice, a hiperamilazemiei, dezvoltarea pancreatitei acute sau apariția mutațiilor rezistente la remediu în timp.

Vom menționa că tratamentul HVBC la copii rămâne limitat doar la interferon alfa 2b sau 2a pegilat (monoterapie) sau la lamivudină în cazul contraindicațiilor la INF. Utilizarea analogilor

nucleozidici așa ca adefovirul, entecavirul, tenofovirul aprobate în tratamentul HVBC la copii, este neaccesibilă prin costuri crescute și absența programelor susținute financiar, unicul remediu de alternativă fiind doar lamivudina. Există multiple controverse privind selectarea și eligibilitatea copiilor cu viremie înaltă VHB și ALT și AST normale [161].

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 corelație Pearson a unor parametri fizici, biochimici și virusologici (Tabelul 5.2.).

Tabelul 5.2. Indicii de corelație (r) după Pearson dintre parametrii fizici, clinici și anatomo-biologici în HVBC și HVCC la copiii incluși în cercetare

Parametrii comparați	ALT	AST	Viremie la 3 luni	viremie la 6 luni	CD4, %	CD8, %	IL-2	IL-6,	TNF- α
ALT	-	0,87**	-0,11	0,09	0,014	-0,019	0,053	0,173	-0,145
Viremie inițială	-0,08	-0,07	0,71**	0,26	-	-	-	-	-
Viremie la 12 luni	-0,07	-0,07	-0,02	0,99**	-	-	-	-	-
gradul de F inițial	-0,034	0,26	-0,06	-0,16	0,160	0,047	0,000	0,160	0,047
CD3,%	0,54	-	0,92	-	0,620*	0,489*	0,284	0,185	0,860*
CD19,%	0,021	-	-0,003	-	0,240*	0,226	1,0*	0,841*	0,107
CD4/CD8	-	-	-	-	0,36**	0,720*	-0,004	0,160	0,047
CD4+CD8/CD3	-	-	-	-	-	0,304*	-0,283	0,018	0,860*
CD16,%	1,0*	-	0,460**	-	0,841*	0,148	0,572	-0,148	-0,148

Notă: * - $p < 0,0001$; ** - $p < 0,05$; absența steluței - $p > 0,05$; „-” – absența cercetării de corelație

Conform datelor prezentate în Tabelul 5.2, se constată 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: există o corelație foarte strânsă și înalt semnificativă între ALT și AST ($r=0,87$), nivelul viremiei inițiale și al celei de la 3 luni ($r=0,71$), nivelul viremiei la 6 luni și peste 1 an de tratament ($r=0,99$), dintre gradul de fibroză și

vârsta pacientului ($r=0,32$), datele fiind prezentate și în Figurile 5.5 - 5.7, ele având semnificație statistică relevantă ($p < 0,001$).

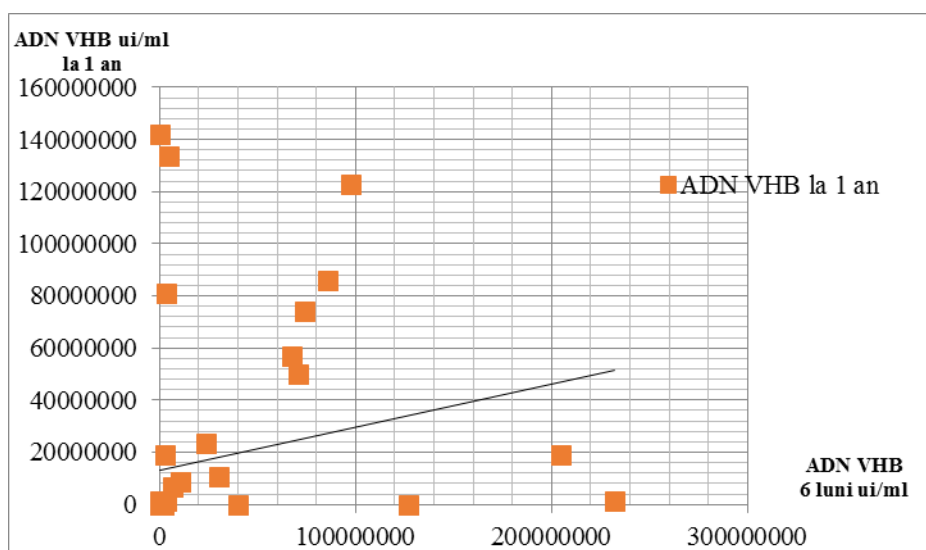


Fig. 5.5. Corelația dintre nivelul viremiei ADN VHB la 6 luni și la un an la copiii cu HVBC investigați ($r=0,99$)

O corelație rezonabilă (Tabelul 5.2.) a fost constatată între coeficientul de elasticitate (exprimat în kpa) și nivelul bilirubinei totale seice ($r=0,40$); nivelul viremiei inițiale pretratament și coeficientul de elasticitate exprimat ($r= 0,49$) și o corelație slabă între vârsta copilului și gradul de fibroză hepatică ($r=0,30$).

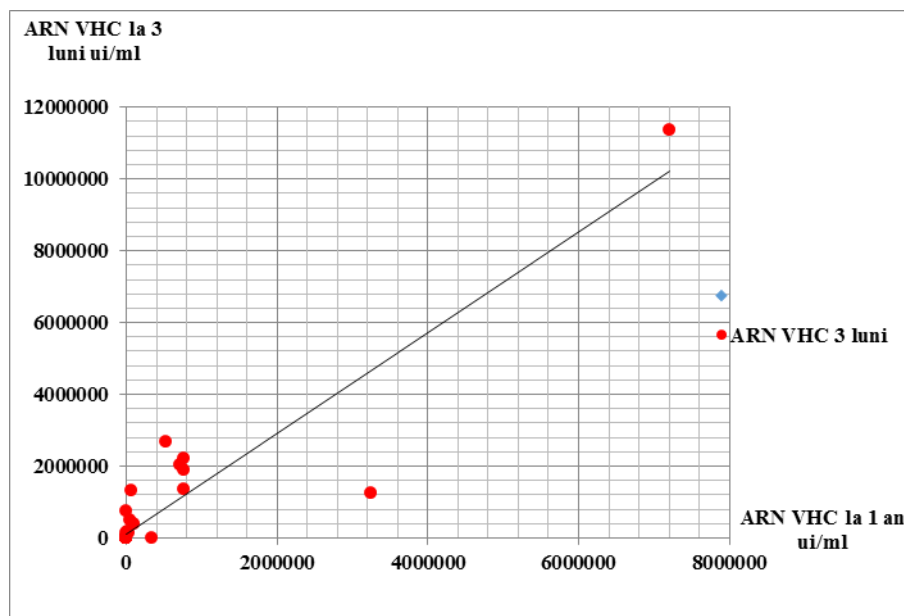


Fig. 5.6. Corelația dintre nivelul viremiei ARN VHC la 3 luni și la 1 an în HVCC la la copiii investigați ($r=0,92$).

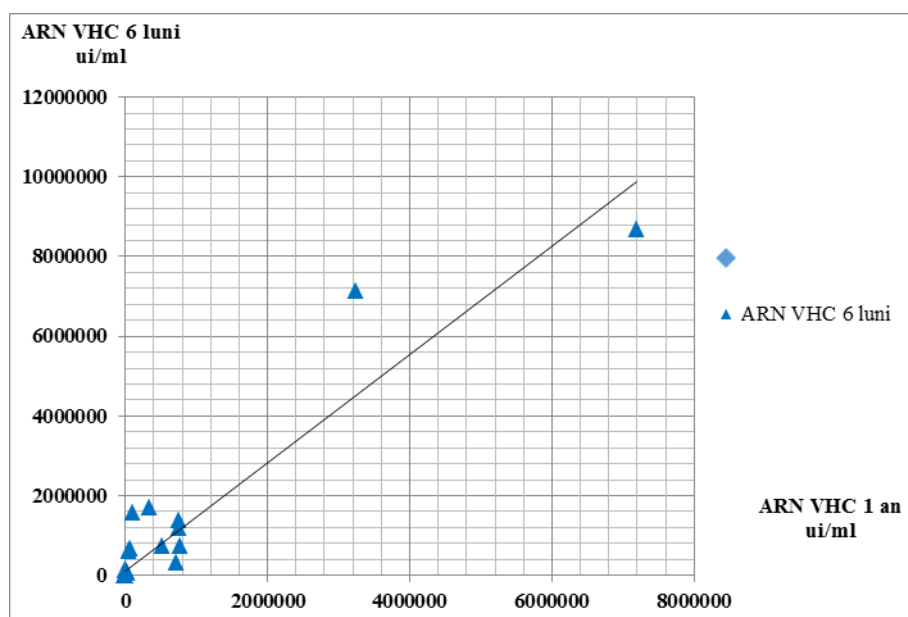


Fig. 5.7. Corelația dintre nivelul viremiei ARN VHC la 6 luni și la 1 an la copiii cu HVCC investigați ($r=0,95$)

Conform Tabelului 5.2 a fost determinată o corelare înalt semnificativ statistic între CD3 și TNF- α ($r=0,86$); celulele CD19 și IL-2 ($r=1,0$) și IL-6 ($r=0,84$); celulele kileri naturali CD 16 și valoare serică a ALT ($r=1,0$). A fost constatată interdependența invers proporțională între indicii imunoreglator CD4+CD8/CD3 și IL-2 și IL-6 ($r=0,84$). Aceste interrelații și interdependențe cu valoare înaltă statistică confirmă rolul importat clinic al imunității celulare și citokinelor proinflamatorii în menținerea persistentă a procesului cronic infecțios indus de VHB sau VHC la copii.

Profilaxia specifică a infecției cu VHC la copii este dificilă din motivul lipsei vaccinului anti-VHC în plan global și al subestimării circulației genotipului VHC la copii, iar schemele terapeutice pediatrice sunt limitate la terapia combinată cu interferon alfa 2a sau 2b pegilat combinat cu ribavirină, care au un cost estimativ înalt și o eficiență redusă în genotipul 1 VHC [140].

Schemele terapeutice antivirale la copiii cu HVBC și HVCC cu administrarea prioritară a interferonului alfa 2b sau 2a pegilat, recomandate până în 2016, au o eficacitate redusă, cu multe reacții adverse și, uneori cu risc de toxicitate pentru pacienții pediatrici. În prezent, studiile clinice și schemele terapeutice antivirale la copiii cu HVBC sunt orientate la utilizarea prioritară a unor analogi nucleozidici (nucleotidici), așa ca entecavirul, tenofovirul disoproxil la copiii mai mari de 12 ani, sau a interferonului alfa 2b sau 2a pegilat în HVBC (monoterapie), iar în HVCC - terapia combinată cu INF alfa 2a sau 2b și ribavirină [87]. Terapia antivirală în HVBC cu agent delta prevede utilizarea dozelor duble de INF alfa 2b (pegilat sau standard), pe o durată de 48 de săptămâni, iar în cazuri individuale – combinat cu lamivudină [3]. La adulți schemele terapeutice

în HVCC din septembrie 2016 au fost orientate la formule fără interferon, cu acțiune directă (sofosbuvir, semiprevir, daclafosvir etc.) administrate pe un termen scurt. La copii acestea nu sunt acceptate, iar ca alternativă – sunt încercate alte remedii cu efect hepatoprotector și antiviral [87, 194].

Supravegherea în dinamică a 110 pacienți cu HVBC și HVCC timp de 3 ani nu a evidențiat agravarea stării generale, a parametrilor clinici, biochimici, imunologici și anatomomorfologici. 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 fazei de viremie înaltă VHC la majoritatea pacienților (Tabelul 5.3).

Tabelul 5.3. Caracteristica comparativă a indicilor biochimici, imunologici, anatomo-biologici în HVBC și HVCC la 110 copii supravegheați în dinamică la 3 și 5 ani de la încadrare în cercetare.

Parametrii evaluați	HVBC (n=67 pacienți)	HVCC (n=43 pacienți)	p
Biochimici:			
Bilirubina totală*, mcmol/l	13,6 ± 0,9	11,6 ± 0,8	>0,05
ALT*, ui/l	69 ± 13,5	29 ± 3,4	<0,05
AST*, ui/l	49 ± 7,6	28 ± 3,4	<0,05
Proteina totală*, g/l	68 ± 0,8	69 ± 0,9	>0,05
Gama-GT*, mmoli/l	33 ± 9	30 ± 4	>0,05
Imunoserologici:			
AgHBe+ (abs)	47	-	<0,001
Anti-HBe negativi (abs)	47	-	-
Viremie*, ui/l (pacienți)	2,4 x 10 ⁸ (53)	1,2 x 10 ⁶ (41)	>0,05
Instrumentali:			
Elasticitatea hepatică*, kpa (pacienți)	6,2 ± 1 (10)	5,8 ± 0,2 (26)	>0,05
USG abdominal fără dinamică negativă (pacienți)	67	43	

Notă: * - valoarea medie și deviația standard, p – semnificația statistică. Teste statistice aplicate: t-Student pentru datele de tip continuu; testul Fisher exact, pentru datele nominale.

Ținând cont de eficacitatea redusă a remediilor antivirale recomandate pentru tratamentul HVBC la copii, precum, și de indicii de corelație variațională a parametrilor de bază, obținute în urma supravegherii dinamice clinico-paraclinice în timp, propunem următorii algoritmi de conduită diagnostică a HVBC și profilaxie specifică, în scopul diminuării riscului de infectare cu VHB a copiilor născuți de mame cu AgHBs+ și AgHBe+ (Figurile 5.8 - Figura 5.10).

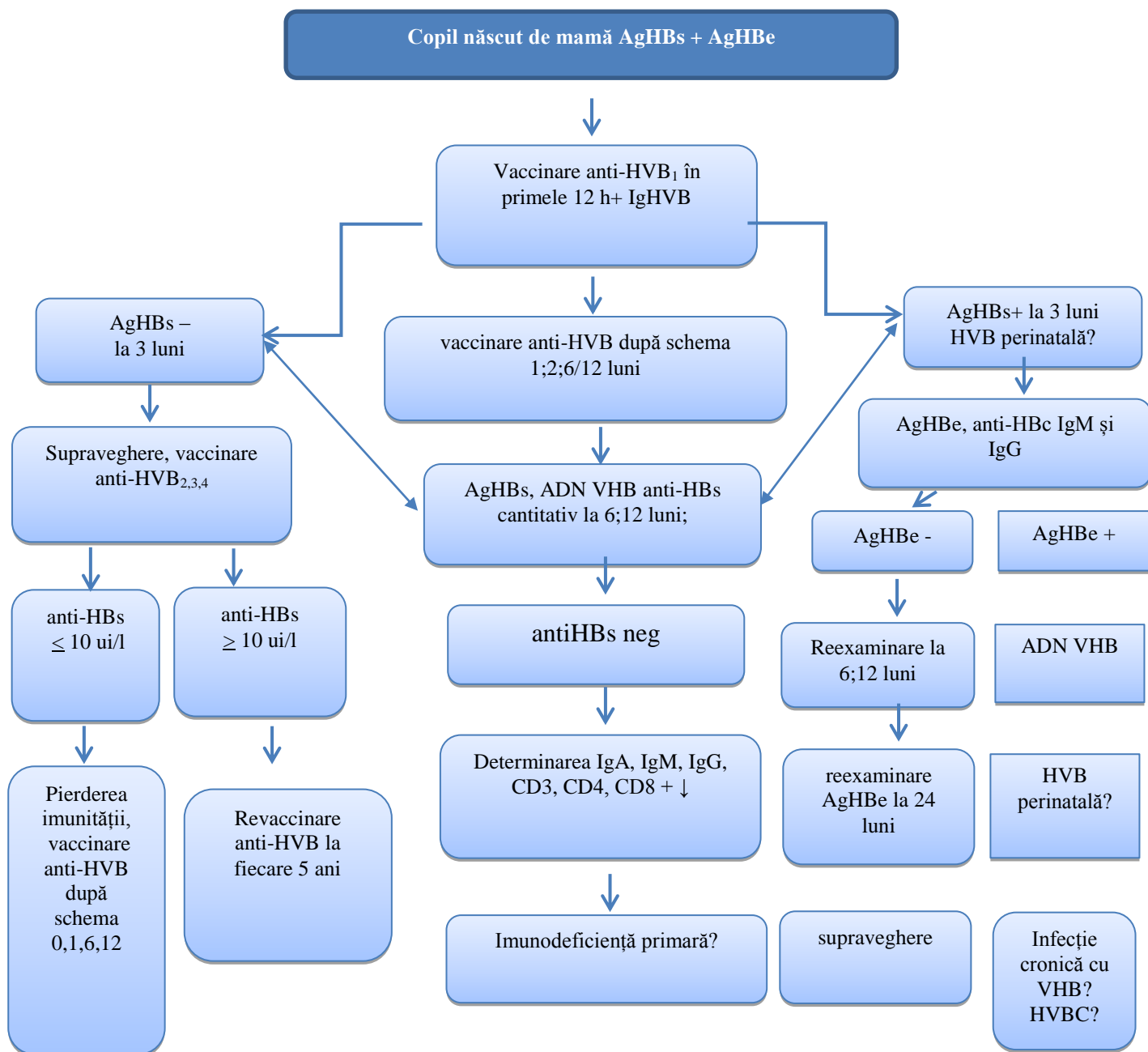


Fig. 5.8. Algoritmul conduitei diagnostice la copilul născut de mamă cu AgHBs + și AgHBe +
(propus de autor)

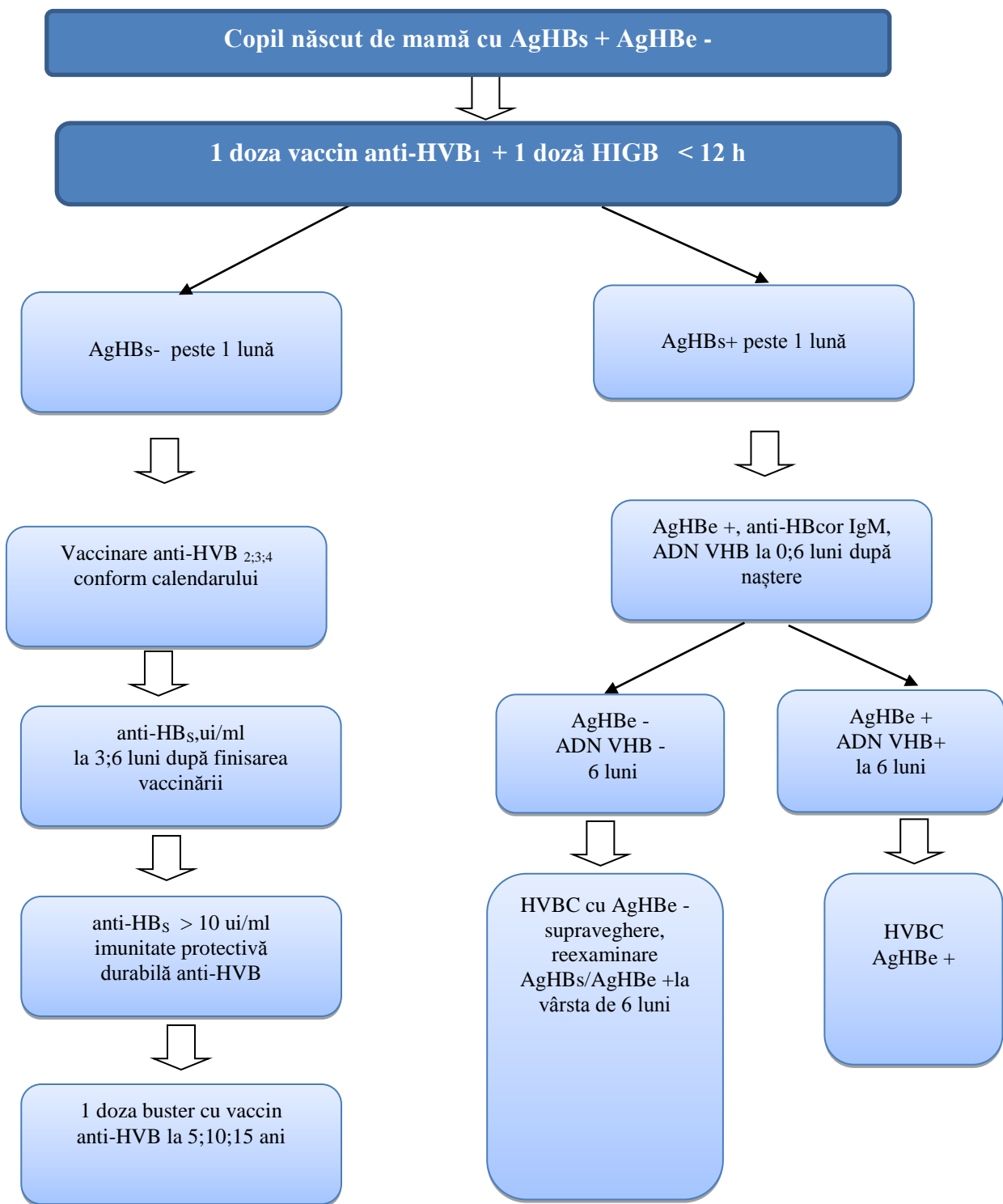


Fig. 5.9. Algoritmul conduitei diagnostic la copilul cu risc perinatal de infectare cu VHB, născut de mamă cu AgHBs+ (propus de autor)

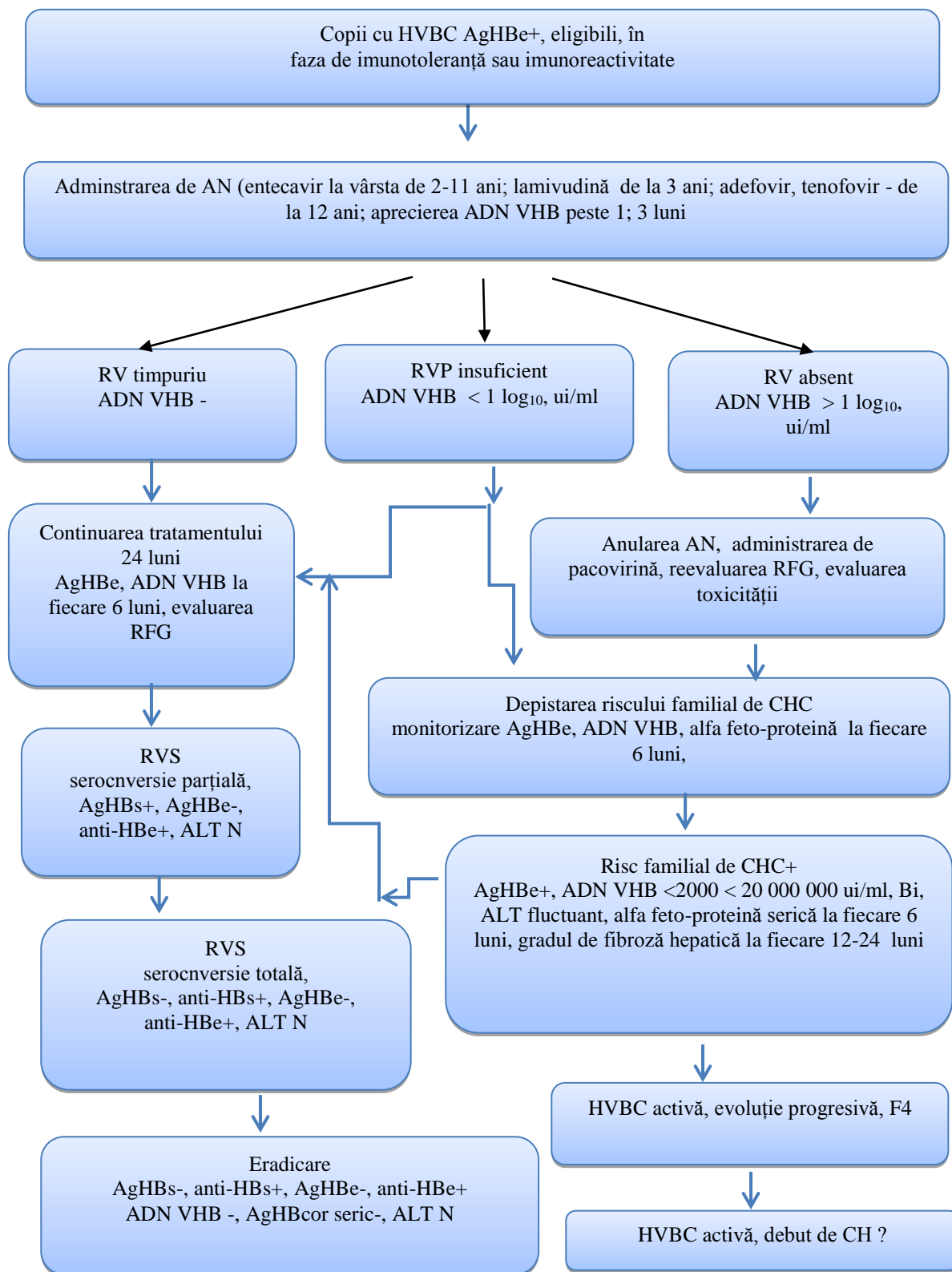


Fig. 5.10. Algoritmul monitorizării copiilor cu HVBC AgHBe tratați cu analogi nucleotidici (-zidici, AN) (propus de autor)

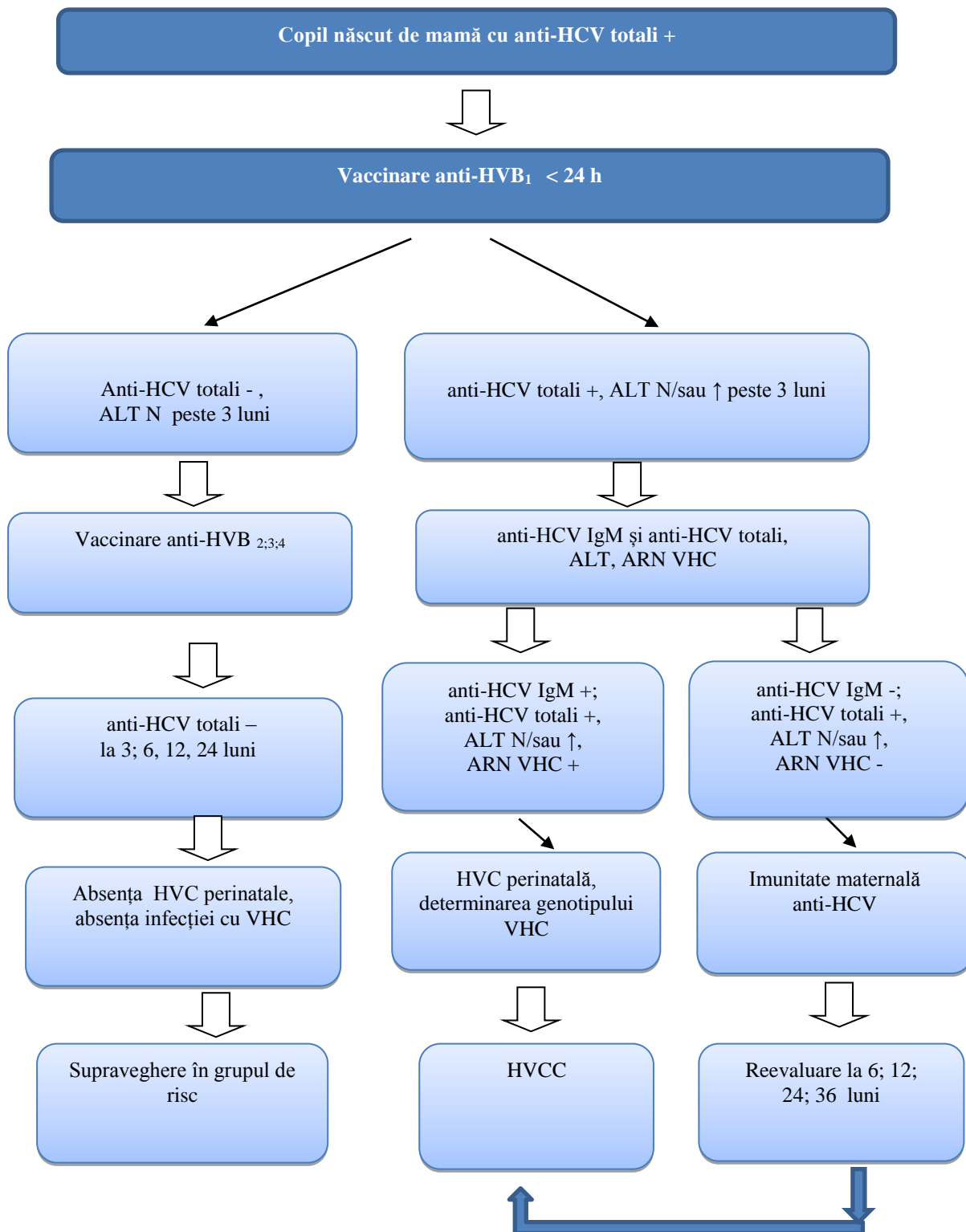


Fig. 5.11. Algoritm diagnostic al HVC perinatale și HVCC la copilul născut de mamă cu antiHCV totali pozitivi (propus de autor)

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

Metodele clasice de tratament antiviral cu interferon alfa 2b (2a) pegilat sau standard (monoterapie) în HVBC și combinat cu ribavirină (biterapie) în HVCC la copii pentru o durată dependentă de genotipul VHC sunt de lungă durată, costisitoare, cu multe dezavantaje din cauza reacțiilor adverse. Cercetările clinice actuale sunt axate spre căutarea noilor opțiuni terapeutice efective de alternativă și a remediilor inofensive cu acțiune antivirală în HVBC și HVCC și ușor aplicabile la copiii de diferită vârstă. Reieșind din această idee, ne-am propus utilizarea remediei fitoterapeutice autohtone pacovirină în tratamentul HVBC și HVCC la copii. Selectarea pacienților cu HVBC și HVCC s-a efectuat prin aplicarea metodei randomizate, dublu-orb. La toți pacienții încadrați în cercetare au fost determinate inițial și în dinamică semnele clinice, s-a efectuat testarea imuno-serologică a markerilor VHB și VHC, s-a evaluat nivelul viremiei VHB și VHC pre- și posttratament.

Pacovirina este un remediu fitoterapeutic autohton elaborat de savanții din Republica Moldova Spînu C., dr.hab.șt.med., prof.universitar și Chintea P., dr.hab.șt.med., prof. universitar, după o tehnologie avansată, cu un procent sporit de substanță biologic activă și aplicat cu succes în practica medicală la adulți. Pacovirina are următoarea formulă: 5α -furostan – 3β .22.26. – triol – 3-[O- β -D-glucopiranozi 1- (1 \rightarrow 2) – β – D – glucopiranozil (1 \rightarrow 4) – β – D – galacto – piranozil] – 26 – O – β – D – glucopiranozid). Prin studii clinice la adulți în Republica Moldova au fost demonstrate proprietățile imunomodulatoare, antioxidante, interferonogene și antivirale ale pacovirinei. Pacovirina a fost aprobată pentru tratamentul hepatitelor virale la adulți și copii în baza ordinului Ministerului Sănătății al Republicii Moldova nr. 301 din 16.12.1997 și a fost utilizat în cadrul Programului de Stat „Hepatitele și cirozele, profilaxie și metode avansate de tratament”.

Studiul nostru a derulat în perioada anilor 2009 - 2012 pe un lot de copii cu HVBC și HVCC, spitalizați în clinica de hepatologie pediatrică a SCRC „Em. Coțaga”. Protocolul de cercetare a fost aprobat de Comitetul de Etică al instituției nominalizate (2009), Ministerul Sănătății și avizul favorabil al Comitetului de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (proces verbal nr.2 din 21.09.2015). Înrolarea pacienților cu HVBC și HVCC în cercetare a fost cu consimțământul scris al părinților copiilor. Criteriile de includere în studiu au fost următoarele: copii cu diagnosticul de HVBC și HVCC confirmat conform clasificării aprobate de EASL (European Association for the Study and Liver, 2016, 2017) și ESPGHAN (European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition), cu vârsta între 3-18 ani, nivel de viremie VHB sau VHC măsurat cantitativ, absența tratamentului antiviral cu alfa 2a sau 2b interferon în ultimii 2 ani, cu toleranță la forma capsulată de pacovirină, acordul informat al familiei

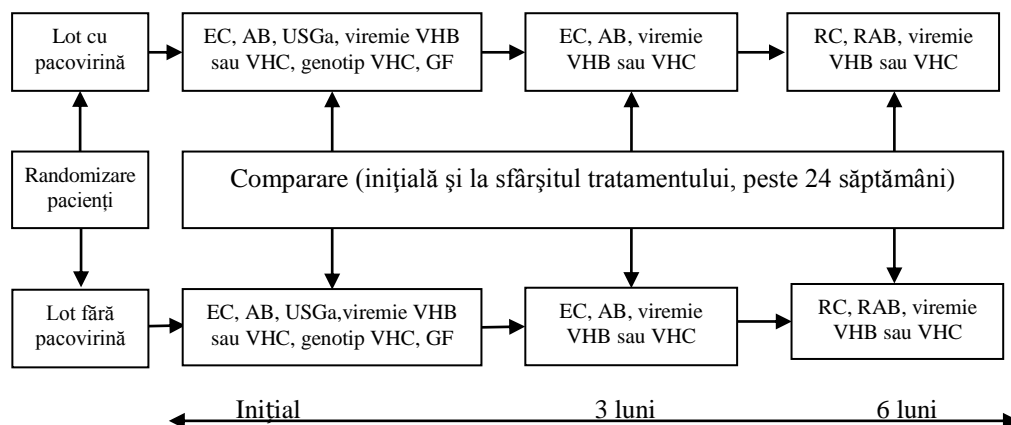


Fig. 5.12. Designul studiului.

Notă: EC-examenul clinic (acuze, semne clinice, hepatomegalie, splenomegalie), AB – activitatea biochimică (Bi,ALT,AST, gamaGT), USG a- ecografia abdominală, GF-grad de fibroză hepatică, RC-reexaminare clinică, RAB - reexaminarea activității biochimice.

pacientului. Criterii de excludere: absența markerilor caracteristici HVBC sau HVCC, viremiei VHB sau VHC măsurate cantitativ, vârsta pacienților sub 3 ani, prezența tratamentului antiviral cu alfa 2a sau 2b interferon în ultimii 2 ani, lipsa acordului informat al familiei și complianței la tratament, persoane cu forme mixte de HVBC și HVCC sau alte comorbidități cu alte virusuri hepatotrope (CMV, herpes simplu, VEB etc.) sau care sufereau de alte maladii cronice ale ficatului ce puteau influența evoluția maladiei și rezultatele cercetării (maladii oncologice, boli sistemice, bolnavi cu insuficiență cardiovasculară și renală).

Designul cercetării este prezentat în Figura 5.12. Fiecărui pacient înrolat în studiu i-a fost efectuat screening-ul clinic și paraclinic (acuzele, anamnestical maladiei, anchetarea epidemiologică, examenul obiectiv, biochimic, imuno-serologic, anatomo-morfologic). Sindromul de citoliză a fost stabilit în baza ALT și AST crescute ≥ 2 ori față de valorile normale. Marcherii VHB testați în HVBC au fost următorii: HBsAg+, antiHBs negativ, antiHBcor totali+, HBeAg+, antiVHD totali, determinarea genotipului VHC, ADN VHB, ARN VHD și ARN VHC cercetați prin metoda PCR Real Time, cu echipament Corbett Rotor-GENE Abbott 2000RT (Centrul Republican de Diagnosticare Medicală, Chișinău). Anti-VHC totali au fost determinați prin metoda imunoenzimatică ELISA.

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 de la includere în tratament din diverse motive familiale din lipsă a complianței [Figura 5.12].

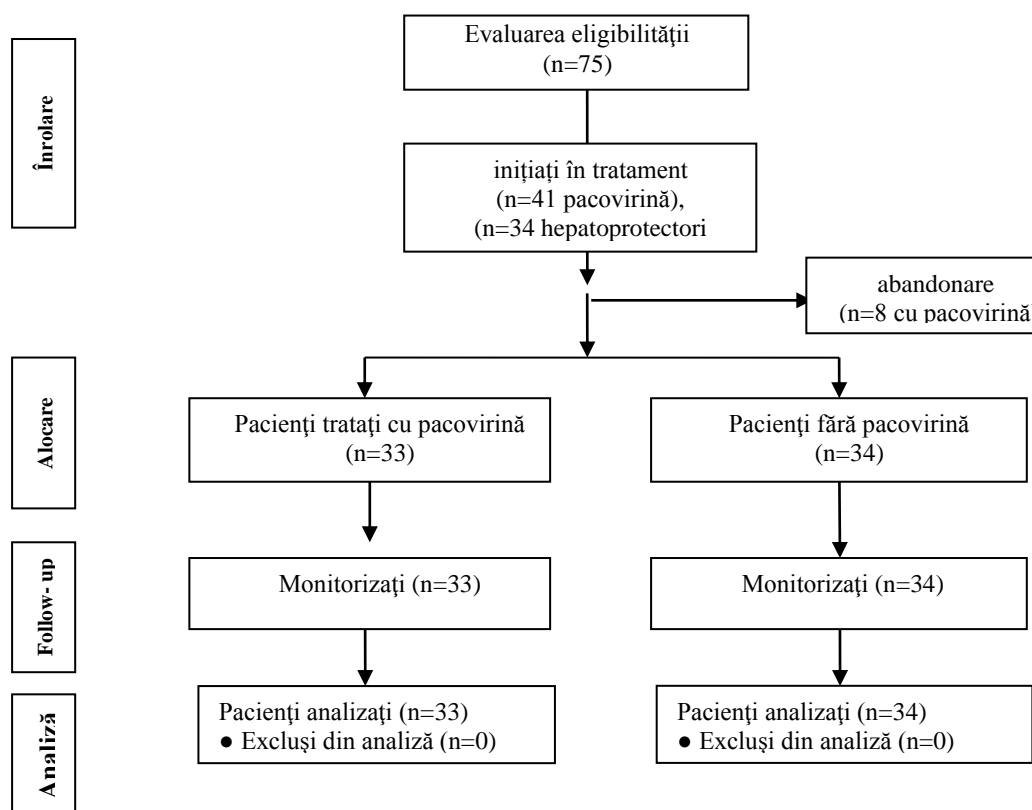


Fig. 5.13. Diagrama CONSORT a fluxului de pacienți

La toți copiii cu HVBC (15) și HVCC (18) incluși în cercetare le-a fost efectuată ecografia abdominală. Gradul de fibroză hepatică a fost apreciat prin metoda elastometriei (FibroScan 502, Franța). Toți pacienții investigați au prezentat viremie VHB sau VHC, iar în 5 cazuri HVBC a evoluat cu agent delta în formă de suprainfecție (antiVHD totali pozitivi și ARN VHD > 200 ui/ml).

Rezultatele clinice, imunologice, dinamica viremiei pretratament și posttratament în lotul copiilor tratați cu pacovirină au fost comparate cu indicii similari ai pacienților din lotul celor tratați fără pacovirină. La 3 și 6 luni (Figura 5.13) după terminarea tratamentului cu pacovirină, toți pacienții din ambele loturi au fost reexaminați clinic (dinamica acuzelor, semnelor clinice,

dimensiunilor ficatului și splinei) și paraclinic cu reevaluarea funcțiilor hepatice (bilirubina totală și fracțiile ei, ALT, AST, gamaGT, ADN VHB, ARN VHC Real Time).

Pacovirina a fost administrată în doze 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. 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.

Parametrii clinici și biologici evaluați (Tabelul 5.4) au avut valori comparabile, iar loturile au fost omogene. Dintre cei 33 de copii din lotul cu pacovirină la 15 a fost confirmată HVBC, iar la 5 dintre ei au fost decelați concomitent anti-VHD totali și ARN VHD în timp real, iar la 18 – HVCC (genotip 1b – 15, genotip 3a – 3).

Tabelul 5.4. Caracteristica generală a pacienților tratați cu și fără pacovirină

Parametrii evaluați	Lot cu pacovirină nr=33 (%)	Lot fără pacovirină nr = 34 (%)	p
Repartizarea după sex:			
● Feminin	10 (30%)	10 (29)	P>0,05
● Masculin	23 (70%)	24 (71%)	P>0,05
Vârsta medie, ani*	12,5±0,5	12,6±0,5	P<0,05
Repartizarea după nosologie:			
1. HVBC, total, inclusiv:	15	10	P>0,05
● fără agent delta	10 (67%)	6 (60%)	P>0,05
● cu agent delta	6 (33%)	4 (40%)	P>0,05
● cu AgHBe+	15 (100%)	10 (100%)	P>0,05
● cu AgHBe –	0	0	P>0,05
● ADN VHB> 10 ⁹ -10 ¹² ui/ml	7 (47%)	2 (20%)	P>0,05
● ADN VHB> 2000< 10 ⁹ ui/ml	8 (53%)	8 (80%)	P>0,05
● ARN VHD > 200 ui/ml	6 (33%)	6 (40%)	P>0,05
● grad de fibroză determinat, inclusiv:	12	10	P>0,05
F0-F1	11 (92%)	9 (90%)	P>0,05
F1-F2	1	1	P>0,05
F2-F3	0	0	P>0,05
2. HVCC, total, inclusiv:	18	24	P>0,05
● genotip 1b	15 (83%)	23 (95%)	P>0,05
● genotip 3a	3 (17%)	1 (5%)	P>0,05
● ARN VHC > 600 000 ui/ml	10 (56%)	10 (42%)	P>0,05
● ARN VHC <600 000 ui/ml	8 (44%)	14 (58%)	P>0,05
● grad de fibroză determinat, inclusiv:	15	20	P>0,05
F0-F1	14 (92%)	18 (90%)	P>0,05
F1-F2	1	2	P>0,05
F2-F3	0	0	P>0,05

Notă: * - media vârstei și devierea standard, p – semnificația statistică. Teste statistice aplicate: t-Student pentru datele de tip continuu; testul Fisher exact, pentru datele nominale

Vârsta medie a pacienților a fost de 12,5 ani, cu predominarea genului masculin în 70%. La toți copiii din lotul celor tratați cu pacovirină pretratament HVBC a evoluat în forma AgHBe pozitivă. Aprecierea cantitativă a nivelului viremiei VHB a constatat la 7 pacienți faza de imunotoleranță cu ADN VHB $>10^9$ - 10^{12} ui/ml și la 8 – faza imunoactivă cu ADN VHB >2000 $<10^9$ ui/ml. Gradul de fibroză hepatică a fost determinat la 12 pacienți, printre care 11 au prezentat fibroză hepatică ușoară F0-F1, iar 1 pacient – moderată F1 - F2. În lotul copiilor cu HVCC tratați cu pacovirină a predominat genotipul 1b în 83% și 3a la 17% pacienți, grad înalt de viremie VHC cu ARN VHC $> 600\ 000$ ui/ml a fost determinat la 56% și fibroză hepatică ușoară, F0-F1 – la 92% din pacienți. În lotul pacienților tratați fără pacovirină (HVBC - 10; HVCC - 24) vârsta medie a fost de 12,6 ani, cu predominarea genului masculin în 71% din cazuri.

Tabelul 5.5. Caracteristica clinică comparativă a semnelor clinice ale HVBC și HVCC în loturile pacienților tratați cu pacovirină și fără pacovirină

Parametrii clinici	Lotul cu pacovirină (n=33)				p ₁	Lotul fără pacovirină (n=34)				p ₂	p ₃
	până la tratament		după tratament			până la tratament		după tratament			
	abs	%	abs	%		abs	%	abs	%		
Slăbiciuni generale	27	82	13	39	<0,001	16	47	14	42	>0,05	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
S-m doloar în hipocondrul drept	26	79	14	42	<0,001	16	47	12	35	>0,05	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
Inapetență	18	55	0	0	<0,001	16	47	14	42	>0,05	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
Icter muco-cutanat	1	3	0	0	>0,05	0	0	0	0		p ₃ >0,05 p ₁ =p ₂
Hepatomegalie cu 2-4 cm	23	70	20	61	>0,05	34	100	34	100	>0,05	p ₃ >0,05 p ₁ =p ₂
Splenomegalie	10	30	2	6	>0,05	6	17	6	17	>0,05	p ₃ >0,05 p ₁ =p ₂

Notă: abs – cifră absolută, p₁- semnificația diferențelor în lotul cu pacovirină până la tratament și după tratament; p₂- semnificația diferențelor în lotul fără pacovirină până la și după tratament; p₃ – semnificația între loturi până la și după tratament. Teste statistice aplicate: t-Student pentru datele de tip continuu; test Fisher exact, pentru date nominale

La 4 copii HVBC a evoluat cu antiVHD totali pozitivi și ARN VHD pozitivi >200 ui/ml. HVBC a fost prezentată de forma cu AgHBe pozitiv (100 %), în fază imunoactivă cu ADN VHB >2000 $<10^9$ ui/ml la 80% din pacienți și cu fibroză ușoară (F0-F1) la majoritatea pacienților.

Printre copiii cu HVCC din acest lot a fost identificat predominant genotipul 1b (95%); viremia VHC a fost moderată – cu ARN VHC <600 000 ui/ml și fibroză ușoară, F0-F1 (90%).

Până la tratament, pacienții cu HVBC din lotul cu pacovirină au prezentat semne clinice mai evocatoare, comparativ cu cei din lotul tratați fără pacovirină: slăbiciuni generale - 82%, sindrom dolo în hipocondrul drept - 79%, inapetență - 55%, hepatomegalie 2-4 cm sub rebordul costal drept - în 85% din cazuri, ficat de consistență dură, cu margine rotundă și suprafață netedă, splenomegalie în 10 cazuri cu proeminenare cu 2 cm sub rebordul costal stâng (Tabelul 5.5).

Tabelul 5.6. Caracteristica comparativă a indicilor biochimici ai HVBC și HVCC la pacienții incluși în studiu pretratament/posttratament cu și fără pacovirină

Indicii biochimici		Pacienți tratați cu pacovirină (n=33)		p ₁	Pacienți tratați fără pacovirină (n=34)		p ₂	p ₃
		>normali			> normali			
		abs	%		abs	%		
ALT (normal 0-41 mmol/l)	până la tratament	18	55	p ₁ <0,001	20	59	p ₂ >0,05	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
	după tratament	0	0		14	41		
AST (normal 0-37 mmol/l)	până la tratament	18	55	p ₁ <0,001	20	59	p ₂ >0,05	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
	după tratament	0	0		14	41		
gamaGT (normal < 35 mmol/l)	până la tratament	12	36	p ₁ <0,01	10	30	p ₂ >0,05	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
	După tratament	0	0		8	24		

Notă: abs – cifra absolută; p₁ – semnificația până la și după tratament în lotul cu pacovirină, p₂ – semnificația până la și după tratament în lotul fără pacovirină, p₃ – semnificația comparativă între loturi. Teste statistice aplicate: t-Student pentru datele de tip continuu; test Fisher exact, pentru date nominale

În lotul copiilor cu HVBC tratați cu pacovirină, în 55% din cazuri maladia s-a manifestat prin citoliză (55%) și sindrom de colestază (36%), cu gamaGT majorată (Tabelul 5.6). Viremie înaltă a VHB cu ADN VHB >10⁹-10¹² ui/ml, pretratament, în lotul cu pacovirină, s-a constatat la 47% (7) copii, iar la 53% (8) ADN VHB a fost între 2 x 10³ – 2 x 10⁹ ui/ml, exprimând faza de imunotoleranță a procesului viral cronic cu VHB. La 5 pacienți evoluția HVBC a fost asociată cu agentul delta și ARN VHD mai mare de 200 ui/ml.

În cazul HVCC, la 10 (56%) copii s-a constatat o viremie înaltă, cu ARN VHC mai mare de 600 000 ui/ml, iar la 8 (44%) copii, viremia a fost joasă (ARN VHC<600 000 ui/ml). Valoarea medie a viremiei, până la și după tratament, precum și proporția reducerii este redată în Tabelul

5.2.4. La finalizarea tratamentului cu pacovirină, la 24% (8) pacienți cu HVBC s-a constatat reducerea ADN VHB cu 30% ($p_1 < 0,05$); la 48% (16) pacienți cu HVCC, reducerea ARN VHC a fost de 32% ($p_2 < 0,05$).

Printre copiii cu HVBC și agent delta tratați cu pacovirină, doar în 2 cazuri s-a observat o diminuare neesențială a ARN VHD. Nivelul viremiei VHB la pacienții din lotul fără pacovirină a diminuat cu doar 2%, iar a VHC – cu 4% (Tabelul 5.7). Analiza rezultatelor obținute în studiul de față a demonstrat eficacitatea clinică a remediei fitoterapeutice autohtone pacovirină, cu proprietăți imunomodulatoare și acțiune lentă indirectă antivirală, preparatul a contribuit la ameliorarea clinică și paraclinică, reducerea nivelului viremiei VHB și VHC la o treime din pacienți.

Tabelul 5.7. Nivelul mediu al viremiei pre și posttratament și diferența reducerii viremiei (Δ) la copiii cu HVBC și HVCC tratați cu sau fără pacovirină (%).

Perioada examinării, diferența reducerii viremiei	Nivelul mediu al viremiei în lotul cu pacovirină și numărul pacienților cu diminuare		Nivelul mediu al viremiei în lotul fără pacovirină și numărul pacienților cu diminuare		p
	ADN VHB (ui/ml) (n=8)	ARN VHC (ui/ml) (n=16)	ADN VHB (ui/ml) (n=2)	ARN VHC (ui/ml) (n=1)	
pretratament	95 668 238	1 943 197	7 863 000	1 347 770	$p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
posttratament	67 297 250	1 323 658	7 711 590	1 297 855	$p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Δ (%)	30	32	2	4	

Notă: Δ – diferența reducerii nivelului mediu al viremiei, exprimată în %; p_1 – compararea viremiei VHB între loturi; p_2 – compararea viremiei VHC între loturi.

Studiul nostru a demonstrat că remediu fitoterapeutic autohton pacovirină, utilizat pentru prima dată la copii în tratamentul HVBC și HVCC în fază de viremie, este unul eficient, cu efecte indirecte și lente antivirale, imunomodulatoare și inductor de interferon. Semnele clinice ale HVBC și HVCC la copiii din lotul ce a urmat tratament cu pacovirină, comparativ cu simptomele depistate la pacienții tratați fără pacovirină, au fost mai evocatoare și cu relevanță statistică ($p < 0,001$).

Concluzii la Capitolul 5

1. Terapia antivirală cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard) în monoterapie la copii a fost eficientă în 31% din cazuri de HVBC și 60% din cazuri de HVCC cu formarea RVS. Rata redusă a RVS în HVBC la copiii tratați cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard) confirmă necesitatea elaborării de noi remedii eficiente și inofensive pentru tratamentul copiilor, în scopul ameliorării calității vieții și creșterii speranței la vindecare.
2. Genotip 2 și 3 ale VHC la copiii cu HVCC sunt predictorii favorabili pentru răspunsul virusologic adecvat la tratamentul cu INF alfa 2b combinat cu ribavirină, cu o rată a RVS de 100%, ameliorarea stării generale, obținerea remisiunii cu o durată de 5 ani. Cu toate că terapia cu interferon alfa 2b este una etiopatogenetică, dar cu multiple reacții adverse, aceasta poate fi efectivă și necesită mare precauție, ce constă în selectarea riguroasă a candidaților la tratament cu efectuarea unui control dinamic al specialistului cu experiență în domeniu, ajustarea și individualizarea schemei de tratament la fiecare pacient în parte.
3. Tratamentul cu pacovirină al HVBC și HVCC la copiii incluși în studiu este unul de alternativă, care a contribuit la ameliorarea semnificativă a manifestărilor clinice, la diminuarea în 39% cazuri ($p < 0,001$) următoarelor simptome: a slăbiciuni generale; dureri în hipocondrul drept în 42% ($p < 0,001$); la normalizarea ALT și AST în 55% ($p < 0,001$) și γ GT 36% ($p < 0,001$). Supravegherea dinamicii viremiei VHB și VHC la pacienții care a urmat tratament cu pacovirină a evidențiat o reducere importantă a ADN VHB cu 30% și a ARN VHC cu 32% ($p < 0,05$), față de pacienții din lotul în care pacovirina nu s-a folosit. Toți pacienții incluși în studiu au tolerat satisfăcător pacovirina, fără a se atesta cazuri de fenomene adverse. Aceste rezultate preliminare privind utilizarea pacovirinei în tratamentul HVBC și HVCC la copii, timp de 24 de săptămâni, pot fi considerate a fi promițătoare, impunându-se studii științifice aprofundate în continuare.
4. Impactul social al efectelor neofensive și proprietățile terapeutice ale pacovirinei, cu diminuarea nivelului viremiei VHB și VHC la copiii incluși în cercetare, incontestabil au contribuit la ameliorarea stării generale, recuperarea sănătății copiilor și reîncadrarea mamelor acestora în câmpul muncii. Fitoremediul autohton pacovirină este un preparat eficient, cu impact socio-economic, inofensiv și ușor aplicabil în tratamentul HVBC și HVCC la copii.

SINTEZA REZULTATELOR OBȚINUTE

Hepatitele virale B și C cronice reprezintă o problemă importantă pentru sistemul de sănătate publică, atât în plan mondial cât și în Republica Moldova, ocupând un loc important în structura hepatitelor cronice la copii. VHB și VHC sunt cei mai frecvenți factori etiologici ce duc la cronicizarea infecției acute virale la copii [64, 162]. Infecțiile cronice cu VHB sau VHC sunt moștenite de către adulți prin pacienții pediatrici, care frecvent sunt infectați la o vârstă fragedă. Contaminarea cu VHB sau VHC începând din copilărie și persistența formelor active și replicative de hepatită virală B sau C cronică are drept consecință morbiditatea înaltă printre adulți, cu un impact social și economic impunător la o vârstă aptă de muncă [161].

În 2015, la nivel mondial cuprinderea cu vaccinare anti-HVB a copiilor a constituit 84%, iar drept urmare, indicii morbidității prin hepatită virală acută B în rândul copiilor a scăzut până la 1,3%. Conform estimărilor, povara globală a infecțiilor induse de VHC în populația generală a crescut în 2015. Notele de raport la nivel global au constatat că în 5% din cazuri actul medical diagnostic și curativ, prin utilizarea frecventă a remediilor medicale injectabile, a rămas nesigur, ceea ce a dus la milioane de noi cazuri de infecții cu VHC [94 - 96]. Drept rezultat, anual 1,75 milioane de persoane noi dobândesc infecția, exprimând alarma globală cu privire la povara hepatitei virale cu virusul C [94].

Contaminarea copiilor cu VHB în perioada nou-născutului în 90% din cazuri duce la dezvoltarea hepatitei virale B, frecvent depistată ca primar cronică, la o vârstă mai mare a copilului [11, 39, 49]. Infectarea cu VHB a copiilor la vârsta între 1–5 ani duce spre apariția formelor cronice de hepatopatie în 20-50% din cazuri [49, 60, 71]. Infecția cu VHC la copii în 80% din cazuri este responsabilă de existența formelor primar cronice de hepatită, aceasta evoluând frecvent subclinic sau asimptomatic, cu riscul dezvoltării în 30 de ani a cirozei hepatice virale C. 20% dintre persoanele adulte la care s-a dezvoltat ciroza hepatică virală C și care au contractat infecția în copilărie, au riscul evoluției spre cele mai severe complicații – cancerul hepatic [161, 168].

Conform datelor raportate de European Association for the Study of the Liver (2017), prevalența morbidității prin hepatită virală B cronică la populația europeană este în scădere, cu predominarea creșterii portajului cronic de AgHBs de la 2% până la 8% în populația generală, cu unele variații regionale de la țară la țară, datorită îmbunătățirii statutului socio-economic, implementării programelor de vaccinare universală anti-HVB și a celor de tratament antiviral eficiente. Cu toate acestea, ratele ridicate ale prevalenței AgHBs la populația migranților și refugiaților din afara Europei, inclusiv la copiii lor, schimbă în prezent rata indicatorilor

prevalenței și incidenței îmbolnăvirilor prin HVBC în mai multe țări din Europa, așa ca Italia, Germania [105, 107].

În țara noastră hepatita virală B ca nosologie separată este înregistrată începând cu a.1966, iar în prezent frecvența decelării AgHBs în populația generală variază în jur de 2-7%, iar la copii – de 0,6% din cazuri, după o perioadă de hiperendemicitate înaltă de circulație a AgHBs la peste 8-11% (în diferite regiuni ale țării) dintre adulți [10, 13, 18]. Aceasta gravă stare de lucruri a impus, începând cu a.1989, inițierea în Republica Moldova a programului de imunoprofilaxie activă prin vaccinare selectivă a nou-născuților mamelor cu AgHBs pozitiv, fapt ce a pus baza reducerii nivelului morbidității prin HVB acută și cronică în perioada următoare. Începând cu 1994 a fost implementată strategia de imunizări anti-HVB a tuturor nou-născuților și a unor categorii de populație cu risc sporit (colaboratorii medicali, copiii din focarele familiale de infecție cu VHB) [14, 33]. Din 1997 și până în prezent, în Republica Moldova au fost realizate și continuă a fi implimentate măsurile complexe profilactice nespecifice, vaccinarea și revaccinarea copiilor și a persoanelor cu risc major de infectare din toate regiunile republicii, iar din 2010 – programele de tratament antiviralal susținute financiar de stat.

Prin realizarea măsurilor profilactice diagnostice și curative prevăzute de programele naționale, indicii morbidității prin hepatită virală B acută printre populația generală în ultimii 18 ani (1997 – 2014) s-au redus esențial de la 25,5 la 100 000 în anul 1997 până la 1,23; prin hepatită virală C – respectiv de la 6,14 până la 1,67 la 100 000; prin hepatită virală D (HVD) – de la 1,89 la 0,19 la 100 000 populație. Datorită vaccinării nou-născuților și modificării schemei de vaccinare cu introducerea a 4 doze de vaccin antiHVB la primul an de viață, acum sunt raportate cazuri unice de HVB acută, iar prevalența și incidența prin hepatite virale B, D, C cronice la copii este în declin, fenomen pozitiv pentru populația pediatrică.

Analizând situația privind gradul de răspândire al HVBC și HVCC printre copii în teritoriile republicii, s-a constatat o pondere mult mai mare a pacienților pediatrici în teritoriile centrale, cu predominarea copiilor din municipiul Chișinău și localitățile sudice ale țării. Acest fenomen poate fi explicat prin accesul mai facil la asistență medicală specializată a copiilor din teritoriile republicii, examinările imunoserologice asigurate de stat și la o depistare mai activă a copiilor infectați cronic cu VHB sau VHC. În ultimii 10 ani (2006 – 2016), prevalența morbidității prin HVBC la copii a diminuat de 6 ori: de la 128,9 până la 19,8 la 10 000 de copii, iar prin HVCC de 2,7 ori: de la 24,6 până la 9,0 la 10 000 copii. Incidența prin HVBC a diminuat de la 12,6 (2006) până la 2,9 (2016) la 10 000, iar prin HVCC – de la 3,4 (2006) până la 2,3 (2016) la 10 000 copii, actualmente având în evidență 249 de copii de vârstă 0 – 17 ani 11 luni și 29 de zile (HVBC – 136; HVCC – 55 de copii). Cu toate că au fost depuse eforturi considerabile în combaterea

infecției cu VHB și VHC în republică cu implementarea în practică a vaccinării anti-HVB a copiilor nou-născuți în prima zi de viață în maternitate, structura etiologică a hepatitelor cronice la copii continuă să fie dominată de HVBC, iar ponderea HVCC în ultimii trei ani are tendință de creștere.

Rezultatele studiului nostru au demonstrat că hepatitele virale B și C cronice la copii ocupă o pondere importantă în structura etiologică a hepatitelor cronice la copii, cu predominarea HVBC în 59,1% cazuri și a HVCC în 40,9%, fiind afectate preponderent sexul masculin – 60,8%, vârsta medie a pacienților a fost de $11 \pm 5,2$ ani, cu prevalența celor din mediul rural – 63% cazuri ($p < 0,05$). Vârsta medie a copiilor, de la presupusa infectare cu VHB sau VHC și până la depistarea formei cronice, a fost de $6,3 \pm 0,4$ ani: HVBC – $5,8 \pm 0,5$; HVCC – $7,7 \pm 0,6$. Durata medie a perioadei de depistare, de la momentul presupus al infectării și până la confirmarea diagnosticului în HVBC a fost de $5,8 \pm 0,5$ ani, iar în HVCC – de $3,8 \pm 0,4$ ani, $p < 0,05$.

Conform datelor de literatură, infectarea cea mai frecventă cu VHB sau VHC a copiilor are loc prenatal (intrauterin, transplacentar), intranatal (în perioada travaliului) sau postnatal, în primele luni după naștere în perioada de îngrijire de către femeile gravide sau mamele lor infectate cronic cu VHB sau VHC [147, 161, 168]. Diagnosticul de hepatită virală B sau C perinatală la acești copii este unul dificil și incert din cauza circulației la ei în sânge a markerilor VHB sau a anti-HCV maternali până la vârsta de 2 ani [162, 171, 175]. Frecvența cronicizării infecției cu VHC la copii, formele de evoluție clinică și impactul socio-economic în plan global sunt raportate preponderent doar în studiile ce provin din regiunile geografice cu endemicitate crescută [42, 49, 52, 64].

Analizând riscul infectării cu VHB a copiilor incluși în studiul nostru am determinat o pondere de 50% pe cale perinatală (vertical), sursa principală fiind mamele lor cu AgHBs pozitiv și persistent (în 20,6% din cazuri) sau bolnave de HVBC în fază de viremie activă în 29% din cazuri ($p < 0,05$).

Infectarea copiilor cu VHC în 30% din cazuri s-a produs perinatal, vertical, sursa principală de infecție fiind mamele acestora, depistate în 24,3% din cazuri cu HVCC și anti-VHC totali în 5,4% din cazuri presarcină ($p < 0,05$). Drept dovadă evocatoare privind infectarea pe cale perinatală cu VHC a copiilor, este adus argumentul de coincidență în toate cazurile a genotipului VHC matern cu genotipul VHC al copilului. Expunerea copiilor la multiple manopere parenterale a servit drept cauză de infectare cu VHB și la cronicizarea infecției în 19,6% din cazuri, iar transfuziile de sânge sau plasmă – în 6,5% cazuri ($p < 0,001$). Infectarea cu VHC a copiilor a avut legătură cu multiple transfuzii de sânge și plasmă – în 27% cazuri, cu multiple manopere

parenterale invazive – în 9,5% și intervenții chirurgicale – în 6,8% (5), s-a produs în urma tratamentelor stomatologice – în 4% (2) cazuri, ($p < 0,001$). Datele constatate în studiul de față corespund celor raportate în literatura de specialitate și impun intensificarea măsurilor de securitate a actului medical și o altă abordare a femeilor de vârstă fertiă, ca sursă principală a infecției cu VHB sau VHC pentru copiii lor, impunând măsuri proficace țintite [162, 171, 175].

Rezultatele cercetării actuale au demonstrat că particularitățile clinice și evolutive ale hepatitelor virale B și C cronice la copii sunt multisindromale, polimorfe și nespecifice, cu semne clinice de hepatomegalie (ușoară sau moderată), evoluție benignă și ondulantă în timp, comparativ cu boala la adulți, cu persistența VHB pe parcursul a zeci de ani, episoade fluctuante de reactivare virală, citoliză remitentă și activitate necroinflamatorie hepatică minimală. Infecția cronică cu VHC la copiii incluși în cercetare în 70% cazuri au evoluat ca primar cronică, subclinic, cu semne clinice și biochimice minimale, exprimate de predominarea sindromului astenovegetativ, genotipului 1 VHC și doar în 10% din cazuri a avut o evoluție manifestă, progresivă, cu activitate înaltă a procesului inflamator hepatic.

Au fost constatate diferențe semnificative ale unor parametri de laborator la pacienții cu HVBC și HVCC, comparativ cu indicii atestați în lotul copiilor „condiționat somatic sănătoși”. Modificările indicilor de laborator în HVBC, comparativ cu indicii similari la pacienții cu HVCC, cercetați s-au manifestat prin prezența sindromului de citoliză ușoară ($p_{1,2} < 0,001$), sindromului hepatopriv ($p_{2,3} < 0,05$), dishormonal cu afectarea funcției pancreatice și tendința spre majorare a nivelului peptide C, modificarea parțială a valorilor T_3 liber și ale creatininei serice ($p_{2,3} < 0,05$). Pentru pacienții cu HVCC a fost mai relevantă prezența sindromului de colestază ($p_{1,3} < 0,05$), citoliză ($p_{1,2,3} < 0,001$), hepatopriv cu hipoproteinemie ($p_{2,3} < 0,05$) și a sindromului dishormonal cu tulburări ale funcției incretorii pancreatice și tendința spre majorare a peptidei C, modificările parțiale ale funcției glandei tiroide cu majorarea T_3 liber și creșterea creatininei serice ($p_{2,3} < 0,05$). Pentru ambele forme de maladie cronică, atât HVBC cât și HVCC, nu au fost caracteristice tulburări, statistic veridice, ale funcției de sinteză a ficatului însoțite de diminuarea albuminei, a factorilor de coagulare, absența tulburărilor metabolismului Fe și al glucidelor (HbA1), cu valori normale și ne semnificative ale hormonilor tirioidieni T_4 și TSH ($p_{2,3} > 0,05$). Prin urmare, pentru aceste două entități nu este caracteristică insuficiența hepatocelulară.

Persistența sindromului de citoliză și colestază la pacienții cu HVCC, și mai puțin la cei cu HVBC, este un criteriu decisiv pentru aplicarea algoritmului diagnostic imunoserologic, molecular virusologic și precizarea adevăratelor cauze ale activității procesului inflamator cronic hepatic. Pentru pacienții cu HVBC în 65% a fost caracteristică faza de imunotoleranță (faza I) cu

AgHBe pozitiv ($<0,001$), cu viremia înaltă în 68% și valori medii ale ADN VHB $1,97 \times 10^9$ ui/ml, iar faza imunoreactivă (faza II) cu ADN VHB $> 2\ 000 - 20\ 000\ 000$ ui/ml la 22% din pacienți ($<0,001$). La doar 10% din copiii incluși în studiu procesul viral VHB a fost neactiv (faza III, neactivă), cu ADN VHB < 2000 ui/ml, iar la 5% din copii maladia a evoluat în formă de hepatită “ocultă” cu ADN VHB < 200 ui/ml sau nedetectabil. Datele obținute în cercetarea actuală la copiii cu HVBC și HVCC corespund celor raportate în literatura de specialitate [162, 171, 175].

În 15% din cazuri HVBC la copiii incluși în cercetare a evoluat concomitent cu infecția cronică în formă de suprainfecție cu VHD, confirmată prin anti-HVD totali pozitivi și în doar 12% din cazuri cu viremie înaltă VHD și valori medii ale ARN VHD de $3,9 \times 10^7 \pm 6,5 \times 10^5$ ui/ml ($p>0,05$).

Particularitățile evolutive ale hepatitei virale C cronice la copiii incluși în studiu au fost manifestate prin prezența în 91% din cazuri a fazei de replicare virală VHC, dintre care la în 61% din copii viremia a fost mai mare de $600\ 000$ ui/ml și valoare medie ARN VHC de $2,9 \times 10^6 \pm 1,1 \times 10^6$ ($p>0,05$).

Examenul ecografic al ficatului, sistemului bilio-digestiv și al circulației splanhnice la pacienții cu hepatită virală B sau C cronică este unul de primă importanță în realizarea etapelor de precizare a diagnosticului maladiei hepatice la copii, dar și în scopul diferențierii cu alte comorbidități. Ecografia abdominală în HVBC și HVCC la copii furnizează informație despre poziționarea și modificările structural-anatomice ale ficatului, implicarea organelor din vecinătate în procesul patologic, precum și oferă posibilitatea supravegherii parametrilor anatomo-biologici în dinamică pe parcursul anilor la pacientul cronic [9, 11, 13]. Studiile recente efectuate în populația pediatrică estimează că 3-5% dintre copiii și 0,01-0,03% dintre adolescenții cu HVBC dezvoltă ciroza hepatică (CH) sau hepatocarcinomul (HCC) înainte de a atinge vârsta de maturitate [100, 130, 134]. Rezultatele examenului anatomomorfologic al pacienților cu HVBC și HVCC cu efectuarea sonografiei ficatului a constatat că, pentru HVBC, au fost caracteristice modificări ale parenchimului ficatului cu hiperecogenitate difuză moderată în 33% cazuri, ușoară – în 29%, pronunțată – 26%, iar în 12% din cazuri modificările au fost absente ($<0,05$). La pacienții cu HVCC modificările sonografice au semnalat hiperecogenitate pronunțată în 46% din cazuri, ușoară – în 30% și moderată – în 16% din cazuri ($<0,05$).

HVBC și HVCC la copiii incluși în cercetare s-au remarcat prin prezența cea mai frecventă a semnelor sonografice specifice pentru colecistita cronică: îngroșarea pereților veziculei biliare (HVBC - 40%, HVCC - 45%), prezența sludj-ului biliar și a hipotoniei veziculare, sedimentarea și

stratificarea bilei, iar pentru HVBC și prin prezența calculilor și polipilor biliari în 7,5% cazuri; în HVCC acest simptom s-a atestat în doar 4% din cazuri ($p>0,05$).

Dopplerografia tractului portal, efectuată la 102 copii cu HVBC și HVCC, nu a stabilit prezența tulburărilor severe de circulație splanhnică în sistemul vascular portal al ficatului, specifice formelor avansate de afectare hepatică. Viteza medie de circulație a sângelui în venele portală și lienală, atât la pacienții cu HVBC cât și la cei cu HVCC a fost mai diminuată, față de valorile medii de referință la subiecții sănătoși, cu toate că nu a fost constatată o veridicitate statistică ($p>0,05$). Această particularitate observată la copiii cu HVBC și HVCC și splenomegalie este un argument important la etapa de precizare a diagnosticului, metoda fiind neinvazivă și ușor aplicabilă la pacientul mic și mare, care permite depistarea precoce a tulburărilor circulației sangvine în sistemul circulator splanhnic, necesitând o competență înaltă din partea funcționarului. Implicarea tratamentelor etiopatogenetice și absența efectelor așteptate antivirale sau ponderea scăzută a acestora, cu persistența sau progresarea hepatosplenomegaliei și a semnelor biologice ale HVBC și HVCC la copii sunt imperative în folosul acestei proceduri importante cu semnificație pentru medicul practician.

Pentru determinarea activității hepatitei cronice virale B sau C la copii, în cazul când markerii biochimici și imunoserologic VHB sau VHC prezintă rezultate neconcludente, este necesară biopsia hepatică sau un test neinvaziv de determinare a severității necroinflamatorii și a gradului de fibroză hepatică [106 - 108]. Una dintre metodele ne invazive, care include aprecierea rigidității ficatului și detectarea gradului de fibroză hepatică, este elastografia (la aparatul FibroScan) sau FibroTest-ul care prevede aprecierea markerilor biologici sangvini și calcularea prin formule speciale a gradului de activitate inflamatorie și elasticitate hepatică după Sistemul Internațional Metavir. Specificitatea acestor metode este înaltă, fiind de 80% în F1 și de 100% în F2-F4 [107, 108].

Cu toate că până în prezent biopsia hepatică rămâne a fi “standardul de aur” în diagnosticul bolilor cronice ale ficatului la copii, fragmentele mici de țesut hepatic prelevat prin biopsie oarbă, efectuată cu acul Menghini la cei incluși în cercetare, a demonstrat că această metodă are unele dificultăți la interpretare și că necesită a fi completată cu alte explorări instrumentale neinvazive, ce permit o apreciere mai obiectivă a stadiilor maladii.

Rezultatele cercetării morfohistologice a țesutului hepatic prelevat prin biopsie hepatică (27), efectuată la 19 pacienți cu HVBC, 4 copii cu HVCC (dintre care la 2 – post-mortem) nu a determinat leziuni severe structurale și avansate la majoritatea celor investigați, fără o relevanță statistică a procesului inflamator ($p>0,05$). Leziunile necroinflamatorii în ficat la copiii cu HVBC și HVCC au avut o expresie minimală sau moderată, cu fibroză minimală ($p>0,05$). Valoarea medie a indicelui de activitate histologică (IAH) în HVBC a fost de $8,3\pm 1,9$ puncte, iar în HVCC

– de $4,3 \pm 2,1$ puncte (după scorul Knodell). Modificările necroinflamatorii minimale sau moderate în țesutul hepatic au fost localizate predominant în spațiile portale, fibroza hepatică minimală în HVBC (4) și în HVCC (6), era limitată în spațiile portale, având scorul Knodell < 10 puncte fiind caracteristice pentru majoritatea pacienților cu HVBC (11) și HVCC (6).

Cuantificarea gradului de fibroză hepatică și calcularea stadiului hepatitei virale cronice B sau C la copiii incluși în studiu prin metoda elastometriei (la aparatul FibroScan 502, Franța) s-a efectuat la pacienții cu vârstă mai mare de 7 ani și greutate ponderală mai mare de 20 kg, ținând cont de capacitățile tehnice ale aparatului. Rezultatele obținute ne-au permis a conchide că HVBC în 63% și HVCC în 82% din cazuri au evoluat cu fibroză hepatică minimală F0 - F1, cu o veridicitate statistică relevantă la compararea între loturi ($p < 0,05$). Fibroza hepatică F2 și F3 a fost determinată la doar 15% din copii cu HVBC și la 15% cu HVCC, iar gradul avansat de fibroză hepatică F4 – doar la 7% din pacienți ($p < 0,05$). Pentru HVCC a fost caracteristic gradul minimal de fibroză hepatică F0-F1 și F2, iar cel avansat F3 și F4 nu a fost constatată la nici unul din pacienții cu HVCC, argument important și cu semnificație relevantă statistic ($p < 0,05$) pentru constatarea unei evoluții benigne a procesului viral cronic indus de VHC.

Reexaminarea clinică, biologică și anatomomorfologică în dinamică, peste un an de la includerea în cercetare, a 111 de pacienți cu HVBC (68) și HVCC (43) a determinat o ameliorare a stării generale a pacienților, cu persistența acuzelor, dar ameliorarea parametrilor clinici, biologici, imunoserologici la majoritatea dintre ei ($p = 0,001$). La 69% din copiii cu HVBC și 91% cu HVCC, peste un an de supraveghere, a fost apreciată starea generală satisfăcătoare ($p < 0,05$). Cu toate acestea, în 31% (21) cazuri de HVBC și 9% (4) din cazurile cu HVCC s-a atestat persistența semnelor clinice generale cu sindrom astenic, cefalee, tulburare a ritmului de somn, dureri surde în hipocondrul drept sau epigastru, grețuri și inapetență ($p < 0,05$). Examenul fizic a constatat în 54% (37) cazuri cu HVBC și 49% (21) cazuri cu HVCC persistența hepatomegaliei cu proeminarea ficatului cu 3 cm sub rebordul costal drept, el fiind de consistență mediu dură, iar la 2 pacienți cu HVBC – persistența hepatomegaliei importante cu 4 - 5 cm. ($p > 0,005$). Splenomegalie cu 1 cm sub rebordul costal stâng a fost constatată la doar 2 pacienți cu HVBC și 1 cu HVCC ($p > 0,005$), ceea ce confirmă absența progresării semnelor clinice ale maladii.

Rezultatele obținute în cercetarea dată sunt concludente și similare celor prezentate în studiile recente efectuate la copii, consemnând importanța lor diagnostică la pacienții pediatrici cu HVBC și HVCC dar și acuratețea lor la evaluare [11, 13, 161].

Determinarea AgHBe, anti-HBe și ADN VHB sau a ARN VHC în timp real la etapa inițială este esențială pentru aprecierea fazei procesului cronic viral în HVBC sau VHC și luarea deciziei de monitorizare a pacientului [11, 13, 106, 107]. Măsurarea cantitativă și uzuală a AgHBs în sânge este rațională la pacienții cu forme de HVBC cu AgHBe negativ și la cei selectați pentru

tratament antiviral cu INF alfa 2b. Genotipul VHB are o importanță prognostică, aprecierea lui la etapele inițiale de evaluare a HVBC are o semnificație importantă ca predictor în cazul tratamentului antiviral [110, 124].

Studiul nostru a constatat prezența AgHBe în 65% din cazurile de HVBC, dintre care la 67% (47) din ei au fost persistenți pentru AgHBe ($p < 0,001$) în lipsa anti-HBe. AgHBe-antigenemia a evoluat pe fundalul citolizei moderate, exprimată prin majorarea ALT cu 3 valori față de cele de referință și viremie înaltă VHB.

Particularitățile semnelor clinico-biologice și imunoserologice ale HVCC la copiii incluși în studiu au fost marcate de persistența viremiei VHC la valori minimale și medii, în absența sindromului de citoliză.

Pentru ambele forme de HVBC și HVCC s-a constatat o creștere ușoară în dinamică a valorii medii a elasticității ficatului, comparativ cu indicii inițiali. Semne de agravare a maladei cronice hepatice induse de VHB sau VHC nu au fost depistate la pacienții investigați.

Mecanismele imunopatogenetice și factorii ce favorizează cronicizarea infecției cu VHB sau VHC la copii reprezintă o problemă actuală de cercetare științifică [2, 3, 38]. Rezolvarea infecțiilor acute cu VHB la copii este dependentă, pe de o parte, de funcționalitatea sistemului imun înăscut și a celui adaptiv și, pe de altă parte, de reacțiile imune ale organismului copilului infectat [111, 112, 162]. Clearance-ul viral VHB presupune inducerea reacțiilor din partea celulelor T limfocitare, care pot avea un efect citolitic fie independent, fie dependent prin expresia citokinelor proinflamatorii, dar și prin activarea celulelor limfocitare B care, la rândul lor, sunt implicate în sinteza de anticorpi specifici pentru neutralizarea virusului și stoparea multiplicării lui [154, 161].

Leziunile hepatice în HVCC au un caracter direct citopatic și indirect pe hepatocitul infectat, care sunt mediate imun. Mecanismul de penetrare a VHC în celulele hepatice este realizat în câteva etape fiind puțin studiat. Reproducerea VHC este posibilă nu numai în ficat, dar și în celule mononucleare de origine limfatică, în măduva hematogenă, cu o intensitate înaltă de multiplicare de 1×10^{12} virioni/zi, iar nivelul înalt al turnoverului viral duce la instalarea mutațiilor virale ale VHC [13, 91, 93]. Imunopatogeneza hepatitei virale C cronice poate fi explicată astăzi prin proprietatea VHC de a-și modifica variabilitatea genomică și eschivare de la controlul imunologic, de acțiunile directe și indirecte ale VHC și inducerea răspunsului imun al celulelor T limfocitare insuficient, cu sinteza tardivă și în titre mici ale anti-HCV, cu capacitatea de replicare joasă și evoluție primar cronică [13, 147, 180].

Cercetările imunității celulare și ale citokinelor proinflamatorii la copii cu HVBC și HVCC cronică ne-au permis să constatăm existența anumitor particularități clinice ale sistemului imun congenital și adaptiv în procesul de realizare a inflamației cronice virale atât de VHB cât și de

VHC. Particularitățile statusului imun celular cu diminuarea limfocitelor T totale CD3 ($p_{1,2}<0,001$, $p_{1,3}<0,01$, $p_{2,3}<0,01$) și a limfocitelor B CD19, cu o veridicitate statistică înaltă la compararea între loturi ($p_{1,2}<0,05$; $p_{1,3}<0,001$; $p_{2,3}>0,05$) confirmă prezența imunodeficienței secundare la copiii cu HVBC sau HVCC.

La pacienții cu HVBC a fost remarcată prezența dezechilibrului celular imun al limfocitelor T cu stare de imunodepresie și diminuare a CD3, CD19, CD4+, CD8+, CD5, cu relevanță înaltă statistică. Imunitatea celulară la copiii cu HVBC a evidențiat creșterea indicelui imunoreglator CD4+/CD8+ din contul diminuării celulelor T supresori CD8+, majorarea cantitativă a CD16 (kileri naturali) și valori crescute mai mult de 5% ale fenotipului „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+)>CD3 în 36% din cazuri ca exprimare a insuficienței imune T celulare și a mecanismelor de autoapărare în situația de “stres cronic infecțios” la stimulările antigenice permanente, cu persistența AgHBe+ și a viremiei VHB, activitate inflamatorie minimală sau moderată cu valori fluctuante.

Dezechilibrul imunității celulare în HVCC la copiii incluși în studiu s-a manifestat cu sindromul de imunodepresie celulară a limfocitelor T, determinat de micșorarea cantitativă a celulelor CD3, CD19, CD4+, CD8+, CD5, CD HLA DR, cu creșterea moderată a indicelui imunoreglator CD4+/CD8+ și a numărului celulelor T limfocitare kileri naturali (CD16). Predominarea fenotipului „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+)>CD3 în 41% din cazuri a favorizat persistența mecanismelor autoimune de apărare – fenomen ce explică evoluția îndelungată și mai silențioasă a maladiei cronice virale indusă de VHB sau VHC la acești copii, cu persistența fazei de viremie înaltă un timp mai îndelungat.

Semnificația clinică a celulelor T limfocitare CD4+ s-a dovedit a fi neînsemnată și s-a manifestat printr-o scădere ușoară la copiii din ambele loturi de bază, dar fără o diferență statistică comparativ cu cei “somatic sănătoși”. Diminuarea numărului celulelor CD8+ preponderent la copiii cu HVBC și mai puțin la cei cu HVCC, comparativ cu cei din lotul “caz-control”, a fost relevantă statistic, față de numărul absolut al acestora. Raportul CD4+/CD8+ a fost de 2 ori mai mare în HVCC și de 3 ori în HVBC pe contul diminuării CD8+ ($p_{1,2}<0,05$), astfel fiind demonstrată prezența fenomenelor autoimune. Micșorarea numerică a CD8+ în sângele periferic poate fi explicată cu migrarea intensă a celulelor T limfocitare citotoxice în focarul patologic, unde se desfășoară reacțiile imuno-patologice, ca răspuns la procesul cronic infecțios indus de VHB sau VHC.

Celulele T limfocitare mature CD5 reprezintă o subpopulație în proporție mică de limfocite B, cu un rol important în declanșarea reacțiilor de apărare în cazul prezenței infecțiilor cronice la copil [38, 50]. Ponderea limfocitelor T mature (CD5) a fost diminuată în ambele loturi ale

pacienților cu HVBC și HVCC, comparativ cu indicii obținuți în lotul martor, cu o relevanță statistică importantă ($p_{1,2}<0,001$; $p_{2,3}<0,001$), semnificând imaturitatea răspunsului imun.

Rolul principal în mecanismele imunopatologice în infecția cronică cu VHB îi revine celulelor CD16 (NK). Majorarea cantitativă a celulelor T limfocitare CD16 este specifică proceselor cronice virale, corelând clinic cu procesul intens de stimulare cronică antigenică, cu implicarea mecanismelor nespecifice și specifice de eliminare a VHB și VHC.

Studiile experimentale recente au demonstrat că activarea celulelor CD16 are loc în rezultatul semnalărilor de pe membrana hepatocitului infectat, prin impulsuri de stres, cu inducerea indirectă a sintezei de INF- γ și TNF- α , cu diminuarea procesului de replicare virală prin mecanismele imunității congenitale de apărare și adaptive [13, 104]. Valori crescute ale CD16 sunt caracteristice fazei de incubație a procesului viral VHB în hepatita acută, care coincid cu apogeul replicării virale. În infecția cronică cu VHB, spre deosebire de cea acută, a fost confirmată sinteza insuficientă a celulelor CD16, a INF- γ , TNF- α și capacitatea mică de formare a imunității specifice [14, 27, 104].

Rezultatele obținute de noi la copiii cu HVBC și HVCC, comparativ cu cei din lotul caz-control, au constatat creșterea CD16, fenomen caracteristic reacțiilor masive de eliminare a virusurilor hepatice prin mecanisme antigen-specifice și nespecifice cu o veridicitate statistică înaltă ($p_{1,3}<0,001$; $p_{2,3}<0,05$).

Raportul (CD4+CD8)/CD3 la pacienții cu HVBC, comparativ cu cel din lotul copiilor „somatic sănătoși” și cei cu HVCC, a fost neesențial majorat, fără o relevanță statistică ($p>0,05$). Indicele obținut prin raportul (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+). La etapa de maturizare a limfocitelor T, acestea transportă pe suprafața lor celulele marker CD3+ și nu duc celulele CD4- CD8-. În sângele periferic la subiecții sănătoși fenomenul limfocite T „dublu negativ” (CD4-, CD8-) constituie valori de 3-5%, iar cele „dublu pozitive” nu depășește 5%. Majorarea numărului markerilor limfocitelor T cu fenotipul CD3+ „dublu negativ” (CD4- CD8-) în sângele periferic este un indicator al tulburărilor procesului de maturizare a limfocitelor T, fenomen frecvent întâlnit în procesele autoimune.

Rezultatele obținute în studiul nostru relevă prezența în sângele periferic într-o pondere înaltă de 21,4% a fenotipului „dublu negativ” (CD4-, CD8-)<CD3 la 32% din pacienți cu HVCC și 4% cu HVBC. Fenotipul „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+)>CD3 a fost constatat la 9 (41%) pacienți cu HVCC și 8 (36%) cu HVBC într-o pondere majorată de 7-21,6%. Aceste date ne permit a concluziona că la o treime din pacienții cu HVBC și peste 41% dintre cei cu HVCC sunt prezente fenomenele autoimune, dezvoltate prin mecanismul tulburărilor de maturizare a limfocitelor T și exprimate prin ponderea înaltă a limfocitelor T (CD4-, CD8-)<CD3 „dublu

negativ” și (CD4+, CD8+)>CD3 „dublu pozitiv” preponderent particulare HVCC. Pentru pacienții cu HVBC este caracteristică predominarea fenotipului „dublu pozitiv” (CD4+, CD8+)>CD3 ca exprimare a stimulării antigenice permanente a celulelor sistemului imun celular și a persistenței continue a mecanismelor de apărare în stare de alertă.

Limfocitele T activate cu fenotipul CD HLA DR reprezintă un marker de activare tardivă și reflectă hiperreactivitatea imună a organismului, indicând forma și tipul răspunsului imun [45, 51]. Indicele CD HLA DR la pacienții cu HVBC și HVCC incluși în cercetare s-a dovedit a fi mai scăzut, cu o veridicitate statistică importantă în lotul copiilor cu HVBC, comparativ cu cei din lotul martor și cu HVCC ($p_{1,2}<0,001$; $p_{2,3}<0,01$). Diminuarea limfocitelor T activate cu fenotipul CD HLA DR la copiii cu infecția cronică cu VHB sau VHC semnifică tipul reacției imune la infectare cu un răspuns insuficient celular T limocitar la antigenul viral și exprimă caracterul autoimun al procesului cronic inflamator viral.

S-a stabilit, că diferențierea limfocitelor T în 2 tipuri de populații are loc exclusiv în timus: limfocite T helper (Th), care sunt purtătoare a markerului CD4+, și limfocite T citotoxice, purtătoare de marker CD8+ într-un raport de 2 : 1 [39, 64]. Eliberarea în sânge a celulelor Th neactive de către timus are drept urmare activarea lor cu transformarea în Th 1 și Th 2, care mediază reacțiile imune celulare în procesele inflamatorii cronice cu implicarea Th1 sau a celor umorale, cu sinteza anticorpilor specifici de către Th2 [51]. Celulele T citotoxice CD8+ asigură formarea răspunsului antiviral și asigură sinteza citokinelor proinflamatorii IL-2, INF γ -, TNF α . Se presupune că în HVBC rolul important în eliminarea VHB din organism îl au reacțiile imune între celulele T helper 1 (CD4+) antigen-specifice și celulele T citotoxice purtătoare de CD8+ [2, 3].

În infecția cronică cu VHC reacțiile imune produse în organism au un rol secundar în asigurarea mecanismului de lizare a hepatocitelor infectate și sunt mediate de limfocitele T citotoxice cu inducerea reacțiilor autoimune [2, 4]. Persistența îndelungată a circulației VHC la bolnavii cu HVCC poate fi explicată prin variabilitatea mare genomică și imunogenitatea slabă a VHC [2, 3]. Variabilitatea și modificarea persistentă a structurii sale antigenice, pe de o parte, și reacțiile imune realizate de organismul infectat, pe de altă parte, îi permit VHC de a evita controlul imunologic, fiind posibilă reproducerea continuă a virusului și menținerea procesului de viremie [2, 3].

Citokinele proinflamatorii au un rol important în procesele de mediere și asigurare a răspunsului imun specific și nespecific al organismului infectat cu VHB sau VHC [1, 4, 8]. Recunoașterea și supresia procesului de replicare virală VHB sau VHC se realizează prin intermediul citokinelor proinflamatorii – interleukina 2 (IL-2), interleukina 6 (IL-6), factorul tumoral de necroză alfa (TNF- α), care asigură reglarea echilibrului subpopulațiilor limfocitelor T, activarea lor, diferențierea celulelor efectoare și sinteza citokinelor antiinflamatorii IL-4, IL-10 și

alte [4, 7, 8]. Activarea citokinelor proinflamatorii are loc odată cu reproducerea activă virală și creșterea titrului de viremie VHB sau VHC [2, 3]. Prin intermediul citokinelor limfocitele T helper recunosc agentul patologic și stimulează activarea limfocitelor T NK pentru distrugerea hepatocitelor infectate, iar limfocitele T supresor diminuează aceste procese, asigurând echilibrul imunologic [9].

La baza patogenezei proceselor inflamatorii și a fibrogenezei în hepatitele virale B și C la copii se află reacțiile imune ce se produc ca rezultat al interacțiunii complicate între VHB sau VHC și organismul infectat. Toate mecanismele de lezare a țesutului hepatic în HVBC și HVCC sunt mediate imun.

Interleukina proinflamatorie IL-2 are un rol important în mecanismele imunopatogenetice ale HVBC și HVCC și contribuie la activarea receptorilor față de IL-2 de pe suprafața T limfocitelor T, stimulează maturizarea limfocitelor B și secreția de către hepatocit a proteinelor de fază acută, amplifică funcția neutrofilelor și a celulelor CD16 (NK), astfel menținând echilibrul celulelor imunocompetente. Valorile majorate ale IL-2 corelează semnificativ cu gradul de activitate al procesului inflamator hepatic și nu corelează cu nivelul viremiei VHB sau VHC. Expresia ușor majorată a IL-6 și a TNF- α la copiii cu HVBC și HVCC confirmă răspunsul imun întârziat și insuficient, ca rezultat al modificărilor mecanismelor de menținere a echilibrului imunologic și sinteză a mediatorilor inflamației, cu persistența procesului activ cronic infecțios viral [22, 50, 51].

La copiii cu HVBC și HVCC incluși în studiul nostru au fost determinate valori majorate ale IL-2 de 20 de ori față de cele de referință, cu veridicitate statistică relevantă, la compararea lor cu cele ale copiilor din lotul caz-control ($p_{1,2}<0,05$; $p_{1,3}<0,05$; $p_{2,3}>0,05$). Concomitent a fost constatată o dependență invers proporțională a nivelului seric al citokinelor proinflamatorii IL-6 și TNF- α la copiii cu HVBC și HVCC: majorarea valorilor IL-2 aveau alternanță cu valorile scăzute ale IL-6, TNF- α . Medierea imună a citochinelor are un rol important în mecanismele patogenetice imune de cronicizare a infecțiilor la copii, acestea fiind insuficient reflectate în HVBC și HVCC la copii, neselitând continuarea studiilor științifice.

Managementul terapeutic al hepatitelor virale B, C cronice la copii reprezintă o problemă dificilă și nerezolvată în practica pediatrică [11, 14, 22, 161]. Replicarea virală în HVBC la copii poate fi suprimată prin administrarea interferonului pegilat sau a analogilor nucleozidici (nucleotidici), rezultate mult mai bune fiind atribuite ultimilor [11, 14, 22, 161]. La o mare parte din pacienți cu vârsta cuprinsă între 3-12 ani tratați timp de o perioadă scurtă cu lamivudină eficacitatea a fost redusă până la 15-34%, existând necesitatea prelungirii duratei tratamentului pentru câțiva ani. În aceste cazuri sunt necesare o mare prudență și acuratețe în timpul monitoringului terapeutic, deoarece a fost demonstrat riscul dezvoltării unor reacții adverse

nedorite [22, 140]. Menționăm că, până în prezent, tratamentul HVBC la copii este limitat doar la interferon alfa 2b sau 2a pegilat (monoterapie) sau lamivudină, fiind unul accesibil la moment.

Utilizarea analogilor nucleozidici, așa ca adefovir, entecavir, tenofovir, aprobați în tratamentul HVBC la copii este limitată, remediile fiind puțin accesibile copiilor. Criteriile de eligibilitate pentru tratamentul antiviral al copiilor cu HVBC și HVCC și ALT în limita normei rămân controversate [161].

Schemele terapeutice antivirale la copiii cu HVBC și HVCC cu administrarea prioritară a interferonului alfa 2b sau 2a pegilat, recomandate până în 2016 nu au corespuns așteptărilor, având un randament redus, cu multe reacții adverse și, uneori toxice. La adulți schemele terapeutice au fost modificate, dându-se prioritate remediilor antivirale fără interferon, cu acțiune directă (sofosbuvir, semiprevir, daclafosvir etc.), administrate pe un termen scurt și având o eficiență înaltă [87, 194]. Managementul terapeutic actual în hepatita virală B cronică la copii prevede monoterapia cu interferon alfa 2b sau 2a pegilat (sau standard) pentru un termen de 24-48 de săptămâni [140]. La copiii mai mari de 3 ani pot fi administrați analogi nucleotidici, așa ca lamivudina în doze adecvate vârstei pentru o durată de 2-5 ani, entecavirul, iar la cei mai mari de 12 ani – adefovirul dipivoxil sau tenofovirul.

Tratamentul antiviral în hepatita virală C cronică la copii include administrarea interferonului pegilat alfa 2b sau 2a parenteral o dată în săptămână combinată cu ribavirină oral zilnic în 2 prize timp de 24-48 de săptămâni, în dependență de genotipul VHC. Eficacitatea tratamentului este estimată la 100% în genotipurile 2, 3 și la 60-70% – pentru genotipul 1 VHC [87]. Formulele noi antivirale recomandate recent în tratamentul HVBC și HVCC la adulți la copii nu sunt acceptate, iar drept alternativă sunt cercetate alte remedii cu efect hepatoprotector și antiviral [184, 188, 194]. Terapia antivirală în HVBC cu agent delta prevede administrarea dozelor mai mari de alfa-interferon pe o durată de 48 de săptămâni și suplimentar tratament cu lamivudină [3, 81, 93]. Actualmente, prin studii clinice, se încearcă elaborarea de noi remedii antivirale și opțiuni terapeutice de alternativă, eficiente pentru eradicarea infecției cu VHB și VHC la copii [25].

Rezultatele obținute în studiul nostru demonstrează eficiența terapiei antivirale cu interferon alfa 2b (standard sau peglat, lamivudină) la o treime (31%) din pacienții cu HVBC și la 60% din cazurile cu HVCC, cu o veridicitate statistică relevantă ($p < 0,001$). Ponderea pacienților cu un răspuns virusologic parțial și diminuarea nivelului viremiei (51%) și a celor cu absența răspunsului virusologic (18%) în HVBC și 10% și 31%, respectiv, în HVCC corelează cu datele obținute în plan global în populația pediatrică, demonstrând eficiența foarte redusă a acestor scheme de tratament ($p < 0,001$). La pacienții cu genotip 2 VHC și 3a sa atestat efectul maximal al

terapiei combinate cu dobândirea aviremiei în primele 1-3 luni de la debutul terapiei în 100% de cazuri și menținerea efectului prin RVS timp de 5 ani, comparativ cu cei cu genotipul 1 VHC.

Terapia antivirală cu interferon alfa 2b pegilat (sau standard) în monoterapie la copiii cu HVBC a fost eficientă în 31% din cazuri, cu formarea răspunsului virusologic susținut.

Cu toate că terapia cu interferon alfa 2b este una etiopatogenetică, dar cu multiple controverse și dificultăți în procesul de efectuare, aceasta necesită a fi efectuată în centre medicale specializate bine dotate, iar candidații la tratament necesită selectare comisională minuțioasă la tratament, cu individualizarea schemei de tratament.

Metodele clasice de tratament antiviral cu interferon alfa 2b (sau 2a) pegilat sau standard (monoterapie) în HVBC și combinată cu ribavirină în HVCC la copii pentru o durată dependentă de genotipul VHC sunt de lungă durată, costisitoare, cu multe dezavantaje din cauza reacțiilor adverse. Cercetările clinice actuale sunt axate pe căutarea noilor opțiuni terapeutice efective de alternativă și a remediilor inofensive cu acțiune antivirală în HVBC și HVCC și ușor aplicabile la copiii de diferită vârstă.

Prin studii clinice la adulți și copii cu HVBC și HVCC, în cadrul Programului de Stat „Hepatitele și cirozele, profilaxie și metode avansate de tratament”, pentru prima dată în Republica Moldova, dar și în plan mondial, au fost demonstrate proprietățile imunomodulatoare, antioxidante, antivirale, ca inductor indirect de interferon ale preparatului pacovirină, fiind aprobat în protocoalele clinice naționale pentru tratamentul hepatitelor virale la copii și adulți (ordinul Ministerului Sănătății al Republicii Moldova nr. 301 din 16.12.1997).

Utilizarea pacovirinei în tratamentul HVBC și HVCC la copii a contribuit la ameliorarea semnificativă a manifestărilor clinice. Noi am stabilit diminuarea în 39% cazuri a slăbiciunilor generale ($p < 0,001$); durerilor în hipocondrul drept în 42% cazuri ($p < 0,001$); s-a normalizat ALT și AST în 55% ($p < 0,001$) și gamaGT în 36% din cazuri ($p < 0,001$). Monitorizarea dinamicii viremiei VHB și VHC la copiii din lotul celor tratați cu pacovirină a constatat o reducere importantă a ADN VHB cu 30% și a ARN VHC cu 32%, față de cei din lotul fără pacovirină ($p < 0,05$). Remediul autohton pacovirină este inofensiv, suportat de pacienți satisfăcător, fără reacții adverse. Aceste rezultate preliminare ale utilizării pacovirinei în tratamentul HVBC și HVCC la copii, timp de 24 de săptămâni, impun necesitatea continuării schemelor alternative de tratament și grad științific de dovadă a eficacității.

Studiul nostru a demonstrat că remediul fitoterapeutic autohton pacovirină, utilizat pentru prima dată la copii în tratamentul HVBC și HVCC în fază de viremie, este unul eficient, cu efecte indirecte antivirale, lente, imunomodulatoare și de inducere a sintezei interferonului endogen. Efectele clinice ale HVBC și HVCC la copiii din lotul cu pacovirină, comparativ cu cele din lotul celor tratați fără pacovirină, au fost mai bune și relevante statistic la compararea între loturi

($p < 0,001$). Modificările paraclinice la pacienții cu HVBC și HVCC tratați cu pacovirină au fost determinate de citoliză (55%) și colestază (36%), comparativ cu cei tratați fără pacovirină – 59% și 30% respectiv. La finalizarea tratamentului cu pacovirină la 24% din pacienți cu HVBC a fost constatată reducerea ADN VHB cu 30% ($p_1 < 0,05$), iar în 48% din cazuri de HVCC reducerea ARN VHC cu 32% ($p_2 < 0,05$).

Impactul social al absenței efectelor ofensive ale pacovirinei pe toată perioada tratamentului și cele terapeutice, cu diminuarea viremiei VHB și VHC în hepatitele virale B, C cronice la copii, au contribuit la ameliorarea stării generale, recuperarea sănătății copiilor și reîncadrarea mamelor acestora în câmpul muncii. Astfel, fitoremediul autohton pacovirină s-a dovedit a fi un preparat cu impact socio-economic, inofensiv și ușor aplicabil în tratamentul HVBC și HVCC la copii. Optimizarea schemei de tratament neviral, cu utilizarea pacovirinei în formă capsulată orală, în doze de 100 mg/zi pe o durată de 24 de săptămâni în tratamentul HVBC și HVCC la copii a contribuit la elaborarea metodelor noi de tratament de alternativă și la ameliorarea semnificativă a manifestărilor clinice și paraclinice ale maladiei, cu reducerea cu 30% a ADN VHB și 32% a ARN VHC.

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 limfocitare 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 și VHC. Rezultatele cercetării de față ne-au permis elaborarea algoritmilor de diagnostic precoce și a algoritmului 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:

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 alaptarea 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 mamei.

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 tiroidieni 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 remediu 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. Chișinău, 2007. 640 p.
2. Iancu L-S. Infection with hepatitis C virus a real health problem. În: Jurnal de Medicină Preventivă, 2001, Iași, vol.9, nr.1, p. 35 - 42.
3. Dijmărescu I., Păcurar D., Orășeanu D. Hepatită cronică virală la copil – considerații terapeutice. În: Revista Română de Pediatrie, 2016, vol. XV, nr. 1, p.74-78.
4. Dumbrava V.T., Lupașco I., Țurcanu A. 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.
5. Dumbrava V-T. Bazele hepatologiei. v. II. Chișinău, 2010, p.148-170.
6. Holban T. Hepatitele virale B, C acute, cronice și mixte (particularități clinice, evolutive, imunologice și de tratament). Teză de dr.hab.în șt.medicale. Chisinau, 2009, 213 p.
7. Lupașco I. Hepatitele cronice și alte forme de maladii difuze cronice hepatice. Chișinău: Ericon, 2014. 328 p.
8. Lupașco I. Hepatitele virale B și C la adulți (factori de risc, particularități clinico-evolutive, hormonal metabolice, imunologice și optimizarea metodelor de tratament). Teză de doctor habilitat în științe medicale. Chișinău, 2017. 302 p.
9. Mișu I., Tighineanu O. Maladiile digestive la copii. Chișinău: Europress, 2013. 501 p.
10. Ministerul Sănătății al Republicii Moldova, Centrul Național de Management în Sănătate. Incidența și prevalența generală a populației. În: Anuarul statistic al sistemului de sănătate din Moldova, anul 2015. Chișinău, 2016. 60 p. www.cnms.md (vizitat 12.06.2017)
11. Moraru E. Hepatita cronică la copil. Iași: Polirom, 1999. 511 p.
12. Popescu V. Etiologia și epidemiologia infecțiilor neonatale. În: Revista Română de pediatrie, 2008, București, vol. LVII, nr.4, p. 263-268.
13. Pântea V. Hepatitele virale C, B și D acute și cronice. Particularitățile clinice, epidemiologice, imunologice, evolutive și de tratament. Referat pentru obținerea gradului științific de doctor habilitat în medicină în baza lucrărilor publicate. Chișinău, 2010, p. 108.
14. Pântea V. Hepatitele virale acute și cronice (etiologie, epidemiologie, patogenie, tablou clinic, diagnostic și profilaxie). Chișinău, 2014. 259 p.
15. Raba T. Tratatamentul antiviral cu interferon alfa 2b pegilat și ribavirină în hepatita cronică virală C la copii în Republica Moldova. În: Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină. Chișinău, 2014; nr. 5, p. 73 - 76.

16. Raba T. Hepatita virală B și D cronică la copii (particularități clinice, diagnostic, sechele). Teza de dr.șt.med., Chișinău, 2001, 152 p.
17. Raba T. Hepatitele virale B, C, D cronice la copii. Monografie. Chișinău, 2016. 180 p.
18. Raportul anual al Centrului Național de Management în Sănătate pentru anii 2006 - 2016. www.ms.md. (vizitat 14 aprilie, 2017).
19. Sajen O. Particularitățile epidemiologice ale hepatitei virale C în grupurile cu risc sporit de infectare. Teză de dr.șt. med., 2015. 132 p.
20. Spînu C., Sajen O., Holban T. ș.a. Hepatita virală C în grupurile cu risc sporit de infectare. Tipografia centrală. Chișinău, 2016. 206 p.
21. 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.
22. 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.
23. Raba T. Probleme actuale în hepatologia pediatrică. În: Buletin de perinatologie. Materialele Conferinței Stiințifico-Practice consacrată jubileului de 50 de ani de la fondarea SCRC „Em. Coțaga”. Chișinău, 2005, nr. IV, p. 34 - 36.
24. 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.
25. 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, vol.11, 1/2017, p. 8-20.
26. 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, 2018, v.6(1), p.1-7. ISSN: 2331-6683 (Online). DOI: 10.13189/ujmsj. 2018.060101. Indexing Google Schoular. <http://www.hrpub.org/journals>

27. Rusu G. Consecințele hepatitelor virale la copii. Hepatita cronică virală (CIM:B19). În: Boli infecțioase la copii. Chișinău, 2012, p. 208 - 220.
28. Spînu I., Spînu C. Actualități în tratamentul și profilaxia infecțiilor virale. Chișinău, 2012. 128 p.
29. Spînu C., Rîmiș C., Prisacari V. et al. Etiologia, epidemiologia, tabloul clinic, diagnosticul, tratamentul și profilaxia hepatitei virale B, C, și D. Indicații metodice, Chișinău, 1998. 42 p.
30. Spînu C., Raba T. Metodă de tratament a hepatitei virale C cronice la copii. Brevet de invenție de scurtă durată nr. 596 (MD 596 Z 2013.09.30), BOPI, nr. 2, 2013. Chișinău.
31. Spînu C., Raba T., Spînu I. et al. Metoda de tratament a hepatitei virale B cronice cu sindrom de colestază la copii. Brevet de invenție de scurtă durată. Agenția de Stat pentru Proprietatea Intelectuală a Republicii Moldova. AGEPI. Nr.10926 din 09.08.2015.
32. Spînu C., Raba T., Guriev V. et al. Realizări inovative în tratamentul hepatitei virale C la copii. În: Revistă de Proprietate Intelectuală "Intelectus", 2/2014, p. 96-101.
33. Spînu C. Programul Național de combatere a hepatitelor virale B, C, și D pentru anii 2012-2016. În: Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 17.02.2012, nr. 34-37, art. 115.
34. Spînu Ig. Studierea și evaluarea activității antivirale, imunomodulatoare și interferonogene a racovirinei. Teză de dr. șt.med. Chișinău, 2011, 151 p.
35. Țibuleac S. Afecțiuni hepato-biliare la gravide. Chișinău, 2011, 271 p.
36. Андриуца К. А., Вязов С. Д., Блохина Н. П. Вирусный гепатит дельта. Кишинев, 1998. Типография Штиинца. 138 с.
37. Абдурахманов Д.Т., Коган Е.А., Демуря С.М. и др. Роль апоптоза гепатоцитов и клеточных факторов его регулирования в прогрессировании хронического гепатита В: Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии, 2005. Т. XV, № 2, с. 42 - 46.
38. Воеводин Д.А., Розанова Г.Н. Цитогормональные взаимодействия: положение об иммунноэндокринной регуляторной системе. В: Педиатрия, 2006, №1 (10), <http://www.pediatriajournal.ru>. (vizitat 01.06.2017).
39. Волынец 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.
40. Дупляков Д.В., Горбачева О.В, Головина Г.А. Синдром постуральной ортостатической тахикардии. В: Вестник аритмологии, 2012, № 66, с. 50 - 54.

41. Зинович Я.И., Оскирко А.Н., Горегляд Н.С., Ключарева А.А. Характеристика хронического гепатита В генотипа Д у детей. В: Актуальные вопросы инфекционной патологии: 6-й съезд инфекционистов Республики Беларусь, Витебск, 2014, ВГМУ, с. 81 - 82.
42. Илунина Л. М., Кокорева С. П., Макарова А. В. и др. Перинатальные вирусные гепатиты В и С у детей. В: Электронный научно-образовательный вестник “Наука и образование”, 2015, т. 17(2). www.scientificjournal.ru. (accessat martie 2017).
43. Герасун Б.А., Грицко Р.Ю., Герасун А.Б. Вирусные гепатиты в схемах и таблицах. Львов, 2012. 121 с.
44. Горячева Л. Г., Шилова И. В. Диагностика и лечение вирусных гепатитов В и С у детей раннего возраста. В: Terra Medica, 2007, № 2, с. 16 - 20.
45. Гриневич В. В. Нейроэндокринные взаимодействия в гипоталамусе и их роль в адаптивных реакциях организма: Автореф. дисс. док. мед. наук, М., 2000. 25 с.
46. Калинина Н. М., Сосюкин А. Е., Вологжанин Д. А. и др. Травма: воспаление и иммунитет. В: Журнал “Цитокины и воспаление”, 2005, Т.46 № 1. с. 28 - 35. Available from: www.cytokines.ru. (accessat 02.02.2017).
47. Кетлинский С. А. Цитокины. СПб. ООО «Издательство Фолиант», 2008. 552 с.
48. Ключарева А.А. Диагностика и дифференциальная диагностика заболеваний печени у детей. Пособие для практических врачей. Минск, 2001. 67 с.
49. Крамарев С.А. Вирусные гепатиты у детей. В: Журнал “Здоровье Украины”, 2013. <http://www.health-ua.org>. (accessat februarie, 2017).
50. Лобзин Ю. В. Иммунопатогенез вирусного гепатита С. Иммунологические маркеры прогрессирования заболевания. В: Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии, Москва, 2007, № 6, с. 75-84.
51. Логинов А. С. Интерлейкины при хроническом вирусном гепатите . В: Терапевтический архив, 2001, № 2, с. 17 - 20.
52. Магомедова З.М. Особенности течения перинатальных вирусных гепатитов. В: Современные проблемы науки и образования, 2007, №2, с. 55 - 57.
53. Малова Е. Хронические гепатиты В и С: иммунопатогенез и иммунодиагностика фиброзных изменений в печени. Автореферат дисс. к.м.н., Москва, 2011. 31 с.
54. Мицура В. М. Значение показателей иммунного статуса в оценке эффективности комбинированной терапии хронического гепатита С. Автореф. дис. канд. мед. Наук. Минск, 2004. 16 с.

55. Никитин В. Ю. Иммунопатогенез и иммунологические критерии прогрессирования хронического вирусного гепатита С. Автореф. дисс. доктора мед. наук. СПб., 2007, 42 с.
56. Никитин В. Ю., Сухина И.А., Цыган В.Н. и др. Иммунологическая характеристика стадии хронического гепатита С и оценка факторов иммунной системы как прогностических критериев течения заболевания. В: Журнал инфектологии. 2009, Санкт-Петербург, nr.1, т.1, с. 30.
57. Потапов А.С., Пахомовская Н.Л., Волынец Г.В., Четкина Т.С. Интерферонотерапия хронического вирусного гепатита С у детей. В: Фарматека, 2009, т. 13, с. 67–71.
58. Раба Т. Особенности клинических проявлений и диагностики хронического вирусного гепатита G у ребенка 12 лет. В: Вопросы практической педиатрии. Москва, 2017, с. 63-69. IF 0,222. Scopus. <http://www.phdynasty.ru>
59. Раба Т. Провоспалительные интерлейкины и их роль в патогенезе хронических вирусных гепатитов В и С у детей. В: Вестник науки и образования. Москва, 2017, №3 (27), т.1, с. 108 - 113. IF 3,38. (Online). <http://scientificjournal.ru>
60. 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>.
61. Симбирцев А.С. Иммунология. 2004, т. 25, №4, с. 247 - 251.
62. Шабалов Н.П. Хронические болезни печени. Гл. 11. В: Детские болезни. Т.1, 6-е издание, СПб Питер, 2011, стр. 874 - 928.
63. Шахгильдян И. В., Михайлов М. И., Онищенко Г. Г. Парентеральные вирусные гепатиты (эпидемиология, диагностика, профилактика). ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, М., 2003. 384 с.
64. Учайкин В. Ф. Вирусные гепатиты от А до TTV у детей. В: Учайкин В. Ф., Нисевич Н. И., Чередниченко Т. В. М.: Новая волна, 2003, 431 с.
65. Учайкин В.Ф., Чередниченко Т.В., Смирнов А.В. Инфекционная гепатология. Руководство для врачей. Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2012. 640 с.
66. Учайкин В.Ф. Решенные и не решенные проблемы инфекционной патологии у детей. В: Педиатрия, 2004, №4, с.7 - 11.
67. Чередниченко Т. В. Вирусный гепатит у детей первого года жизни. В: Детские инфекции, 2003, № 3, с. 11 - 14.
68. Andoulo F. A., Noah D. N., Djara R. et al. Epidemiology of hepatitis C: related hepatocellular carcinoma in Cameroon. IN: Pan Afr Med J, 2014, v. 19, p. 379.

69. Baumert T., Thimme R., Weizacker F. Pathogenesis of hepatitis B virus infection. In: *World J Gastroenterol*, 2007. China, v.13(1), p. 82 - 90.
70. Benova L., Mohamoud YA., Calvert C. et al. Vertical transmission of hepatitis C virus: systematic review and meta-analysis. IN: *Clin Infect Dis*, 2014. V. 59 (6), p. 765 – 773.
71. Beasley RP, Trepo C, Stevens CE, Szmuness W. The e antigen and vertical transmission of hepatitis B surface antigen. IN: *Am J Epidemiol*, 1977, v.105 (2), p. 94 – 98.
72. Blachier M., Leleu H., Peck-Radosavljevic M. et al. The burden of liver disease in Europe: a review of available epidemiological data. IN: *J Hepatol*, 2013, v.58, p. 593–608.
73. Brown Jr RS, McMahon BJ, Lok AS, et al. Antiviral therapy in chronic hepatitis B viral infection during pregnancy: A systematic review and meta-analysis. In: *Hepatology*, 2016, v. 63, p. 319 – 333.
74. Bortolotti F., Iorio R., Nebbis G. et al. Interferon treatment in children with chronic C: long-lasting remission in responders, and risk for disease progression in non-responders. In: *Digest. Liver Dis.*, 2005, v.37, p. 336 - 341.
75. Bortolotti F., Vegnente A., Iorio R. et al. Epidemiological Survey of Hepatitis C Virus Infection in Italian Children. In: *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, vol. 31, Suppl. 2, 2000. Abstract 775 from the World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition.
76. Bortolotti F., Iorio R., Nebbis G. et al. Interferon treatment in children with chronic C: long-lasting remission in responders, and risk for disease progression in non-responders. In: *Digest. Liver Dis.*, 2005, vol. 37, p. 336 - 341.
77. Bortolotti F., Iorio R., Nebbis G. et al. Interferon treatment in children with chronic C: long-lasting remission in responders, and risk for disease progression in non-responders. In: *Digest. Liver Dis.*, 2005; v. 37, p. 336 - 341.
78. Basnayake S.K., Easterbrook P.J. Wide variation in estimates of global prevalence and burden of chronic hepatitis B and C infection cited in published literature. In: *J Viral Hepat.* 2016. V. 23(7), p. 545–559.
79. Boyd A, Bottero J, Lacombe K. The gamma-glutamyl transpeptidase-to-platelet ratio as a predictor of liver fibrosis in patients co-infected with HBV and HIV. In: *Gut*, 2015. <http://dx.doi.org> (vizitat 04.2017).
80. Carreno V. Occult hepatitis C virus infection: a new form of hepatitis C. In: *World J. Gastroenterol.* 2006, vol. 21, nr. 12 (43), p. 6922 - 6925.
81. CDC. World Health Organization. Media Centre: Hepatitis B. July, 2013. Available www.who.int/mediacentre; www.cdc.gov/hepatitis/statistics.htm. (vizitat 04.2017).

82. CDC. Medical examinations Atlanta GA – US Department of Health and Human Services, CDC; 2005. www.cdc.gov. (vizitat 04.2017).
83. Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. European Association for the Study of the liver. În: J. Hepatology, 2014, vol. 60, p. 814 - 829.
84. Combating hepatitis B and C to reach elimination by 2030. Advocacy brief. Geneva: World Health Organization, 2016. In: <http://www.apps.who.int> (vizitat mai, 2017).
85. Trautwein C., Friedman S., Schuppan D et al. Hepatic fibrosis: concept of treatment. In: J of Hepatology, 2015, v. 62, S15-S24.
86. EASL recommendations on treatment of hepatitis C 2016. In: J Hepatol, 2017. V. 66, p. 153-194.
87. European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C, 2015. In: J Hepatol, 2015, 63 (1), p. 199 - 236. Medline. (Accesat noiembrie, 2016).
88. EASL. Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. Клинические рекомендации Европейской ассоциации по изучению болезней печени: Тактика ведения пациентов с инфекцией, вызванной вирусом гепатита С. În: J. Hepatol, 2013. www.dx.doi.org/jhep, 2013.
89. European Association for Study of Liver. EASL. Recommendations on treatment of hepatitis C. 2015. In: J. Hepatol., 2015, vol. 63 (1), p. 199 - 236.
90. England K., Pembrey L., Tovo P.A. et al. European Paediatric HCV Network. Excluding hepatitis C virus (HCV) infection by serology in young infants of HCV-infected mothers. In: Acta Paediatr, 2005, v. 94, p. 444-450.
91. ESPGHAN. Clinical Practice Guidelines. Consensus of an expert panel on behalf of the European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. În: Journal of Hepatology, 2013, vol. 59, p. 463-467.
92. European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (EASL). În: Journal of Hepatology, 2013, vol. 59, p. 814-829.
93. European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu. EASL Recommendations on Treatment of Hepatitis C, 2015. In: J Hepatol, 2015, v. 63 (1), p. 199-236. Medline. (Accesat noiembrie, 2016).
94. Global Hepatitis Report 2017. Geneva: World Health Organization, 2017. <http://www.who.int/about/licensing>. (Vizitat 20.04.2017).
95. Global Health Sector Strategy On Viral Hepatitis, 2016-2021. Switzerland. WHO/HIV/2016.06. 56 p. E-mail: hepatitis@who.int. <http://www.who.int/hepatitis>. (Vizitat 15 mai, 2017).

96. Global forecasts of ARV demand for 2015–2020 and projection modelling for new ARV formulations for 2015–2025. WHO/UNAIDS Meeting documents and presentations. Geneva, Switzerland, 2016. www.who.int/hiv. (Vizitat 10 septembrie, 2016).
97. 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.
98. GAVI. Hepatitis B vaccine at birth GAVI responds to MSF, 2014. <http://www.gavi.org>. (Vizitat 01.06.2017).
99. Ge D., Fellay J., Tompson A-J. et al. Genetic variation in IL28B predicts hepatitis C treatment-induced viral clearance. În: Nature, 2009, vol. 461, p. 399-401.
100. Gower E., Estes C., Blach S. et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection. In: J Hepatol, 2014. V. 61(1 suppl), S45–S57.
101. Gonzalez-Perlta P-P., Kelly D-A., Haber B. et al. Interferon alfa-2b in combination with ribavirin for the treatment of chronic hepatitis C in children : efficacy, safety, and pharmacokinetics. În: Hepatology, 2005, vol. 42, p. 1010-1018.
102. Grebely J, Page K, Sacks-Davis R, van der Loeff MS, Rice TM, Bruneau J, et al. The effects of female sex, viral genotype, and IL28B genotype on spontaneous clearance of acute hepatitis C virus infection. In: Hepatology, 2014. V. 59 (1), p.109-120.
103. Greenup A-J., Tan P.K., Nguyen V. et al. Efficacy and safety of tenofovir disoproxil fumarate in pregnancy to prevent perinatal transmission of hepatitis B virus. In: J Hepatol, 2014. V. 61, p. 502-507.
104. Goodman ZD., Makhlof HR., Liu L. et al. Pathology of chronic hepatitis C in children: liver biopsy findings in the Peds-C Trial. In: Hepatology, 2008. V.47(3), p. 836-843.
105. 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).
106. Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. Geneva: World Health Organization, 2015. <http://apps.who.int/iris>. (Vizitat 10 februarie, 2017).
107. Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection. Updated version. Geneva: World Health Organization, 2016. <http://www.apps.who>. (vizitat, mai, 2017).

108. Head-to-head comparison of two years efficacy of entecavir and tenofovir in patients with treatment naive chronic hepatitis B – the real life data. In: *Hepatogastroenterology*, 2015. V. 62 (140), p. 982-986.
109. Floreani A. Hepatitis C and pregnancy. In: *World J Gastroenterol.*, 2013. V. 19(40), p. 6714–6720.
110. Jara P., Hierro L., De la Vega A. et al. Efficacy and safety of PEG-IFN-a-2b and children and ribavirin combination therapy in children with chronic hepatitis C. In: *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 2008, vol. 27, p. 142-148.
111. Jeng WJ, Sheen IS, Chen YC, Hsu CW, Chien RN, Chu CM, et al. Off-therapy durability of response to entecavir therapy in hepatitis B e antigen-negative chronic hepatitis B patients. In: *Hepatology*, 2013. V.58, p. 1888-1896.
112. Jonas M.M., Lok A.S., McMahon B.J. et al. Antiviral therapy in management of chronic hepatitis B viral infection in children: A systematic review and meta-analysis. In: *Hepatology*, 2016. V. 63, p. 307-318.
113. Jonas M.M., Chang M-H., Sokal E. et al. Randomized controlled trial of entecavir vs placebo in children with Hepatitis B envelope Ag-positive chronic Hepatitis B. In: *Hepatology*, 2016. V. 63, p. 377-389.
114. Camarero C, Martos I, Delgado R, Suarez L, Escobar H, Mateos M. Horizontal transmission of hepatitis C virus in households of infected children. In: *J Pediatr.* , 1993. V.123 (1), p. 98-99.
115. Chen H-L., Lee C-N., Chang C-H. et al. Efficacy of maternal tenofovir disoproxil fumarate in interrupting mother-to-infant transmission of hepatitis B virus. In: *Hepatology*, 2015. V. 62, p. 375-386.
116. Cuypers L., Li G., Libin P. et al. Genetic diversity and selective pressure in hepatitis C virus genotip 1-7: significance for direct-acting antiviral treatment and drug resistance. In: *Viruses*, 2015, vol. 7(9), p. 5018-5039.
117. Kross M. EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatitis C virus infection. European Association for the Study of the liver. In: *J Hepatology*, 2014; v. 60, p. 392 - 420.
118. Keane E., Funk A.L., Shimakawa Y. Systematic review with meta-analysis: the risk of mother-to-child transmission of hepatitis B virus infection in sub-Saharan Africa. In: *Aliment Pharmacol Ther*, 2016, v. 44(10), p. 1005-1017.
119. Kelly D., Haber B., Gonzalez-Peralta R.P. et al. Sustained virologic response to interferon alfa-2b plus ribavirin predicts long-term clearance of HCV in pediatric patients

- at 5-year follow-up 2008. In: Proceedings of the European Association for the Study of the Liver, 2008. Milan, Italy. In: *J Hepatology*, 2008; v. 48, supl. 2. 298 p.
120. Lampertico P, Maini M, Papatheodoridis G. Optimal management of hepatitis B virus infection – EASL Special Conference. *J Hepatol*, 2015. V. 63, p. 1238-1253.
 121. Li H. C., Ma H. C., Yang C. H et al. Production and pathogenicity of hepatitis C virus core gene products. In: *World J. Gastroenterol.* 2014, Vol. 20 (23), p. 104-7122.
 122. Lee C.H., Kim J.H., Lee S.W. Prospects for nucleic acid-based therapeutics against hepatitis C virus. In: *World J Gastroenterol*, 2013, V. 19 (47), p. 8949-8962
 123. Lemoine M., Thursz M. Battlefield against hepatitis B infection and HCC in Africa. In: *Journal of Hepatology*, 2017 vol. 66, p. 645-654.
 124. Lok A. Chronic Hepatitis B. In: *J Hepatol*, 2007, V. 45, p. 1225-1241.
 125. Lok A., Trinh H., Carosi G. et al. Efficacy of entecavir with or without tenofovir disoproxil fumarate for nucleos(t) ide-naïve patients with chronic hepatitis B. In: *Gastroenterology*, 2012. V. 143, p. 619-628.
 126. Machaira M., Papaevangelou V., Vouloumanou E.K. et al. Hepatitis B vaccine alone or with hepatitis B immunoglobulin in neonates of HBsAg+/HBeAg- mothers: a systematic review and meta-analysis. In: *J Antimicrob Chemother.*, 2015, v. 70, p. 396-404.
 127. Mast E.E., Hwang L.Y., Seto D.S. et al. Risk factors for perinatal transmission of hepatitis C virus (HCV) and the natural history of HCV infection acquired in infancy. In: *J Infect Dis*, 2005. V.192(11), p.1880-1889.
 128. Manual for the development and assessment of national viral hepatitis plans: a provisional document. Geneva: World Health Organization; 2015 <http://www.who.int/hepatitis> (Vizitat September, 2016).
 129. Mast E.E., Hwang L.Y., Seto D.S. et al. Risk factors for perinatal transmission of hepatitis C virus (HCV) and the natural history of HCV infection acquired in infancy. In: *J Infect Dis* 2005, V.192, p. 1880-1889.
 130. Massard J., Ratziu V., Thabut D. et al. Natural history and predictors of disease severity in chronic hepatitis C. In: *J Hepatol*, 2006, v.44, S19-S24.
 131. Mauss S., Berg T., Rocktroh J. et al. *Hepatology. A clinical textbook*, 7th edition, 2016. 709 p.
 132. Messina J.P., Humphreys I., Flaxman A. et al. Global distribution and prevalence of hepatitis C virus genotypes. In: *Hepatology*, 2015, vol. 61 (1), p. 77-78.
 133. Mohan P, Colvin C, Glymph C et coll. Clinical spectrum and histopathologic features of chronic hepatitis C infection in children. In: *J Pediatr*, 2007. V.150, p.168-174.

134. Mohan P., Barton B.A., Narkewicz M.R. 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.
135. Monitoring and evaluation for viral hepatitis B and C: recommended indicators and framework. Technical report. Geneva: World Health Organization, 2016. <http://apps.who>. (Vizitat 10 martie 2017).
136. Murray K.F., Szenborn L., Wysocki J. et al. Randomized, placebo-controlled trial of tenofovir disoproxil fumarate in adolescents with chronic hepatitis B. In: *Hepatology*, 2012. V.56, p. 2018-2026.
137. New treatments for hepatitis C virus: strategies for achieving universal access. Paris: Medecins du Monde; 2014 (<http://hepcoalition.org/IMG/pdf>) (Vizitat 28.05.2017).
138. Ni YH., Chang MH., Wang KJ. Et al. Clinical relevance of hepatitis B virus genotype in children with chronic infection and hepatocellular carcinoma. In: *Gastroenterology*, 2004. V. 127, p. 1733-1738.
139. Ott J.J., Stevens G.A., Groeger J. et al. Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity. In: *Vaccine*, 2012, v. 30 (12), p. 2212-2219.
140. Paganelli M., Stephenne X., Sokal E.M.. Chronic hepatitis B in children and adolescents. In: *J Hepatology*, 2012, nr. 57, p. 885-896.
141. Paloma J., Hierro L. Treatment of hepatitis C in children. In: *Expert Gastroenterol, Hepatol.*, 2010, vol. 4 (1), p. 51-61.
142. Panigrahi R., Biswas A., Datta S., Banerjee A. et al. Anti-hepatitis B core antigen testing with deflection and characterisation of occult hepatitis B virus by an in-house nucleic acid testing among blood donors in Behrampur, Ganjam, Orissa in Southeastern India: implications for transfusion. In: *Virology*, 2010, V. 7, p. 204. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles> (Accesat 02.02.2017).
143. Plancoulaine S., Mohamed MK., Arafa N. et al. Dissection of familial correlations in hepatitis C virus (HCV) seroprevalence suggests intrafamilial viral transmission and genetic predisposition to infection. In: *Gut*, 2008, V. 57 (9), p.1268-1274.
144. Pollicino T. Impact of hepatitis B virus (HBV) preS/S genomic variability on HBV surface antigen and HBV DNA serum levels. In: *Hepatology*, 2012, V. 56, p. 434-443.
145. Rey-Cuille M.A., Njouom R., Bekondi C., et al. Hepatitis B virus exposure during childhood in Cameroon, Central African Republic and Senegal after the integration of HBV vaccine in the expanded program on immunization. In: *Pediatr Infect Dis J*, 2013, v. 32, p. 1110-1115.

146. Resolution WHA63.18. Viral hepatitis. In: Sixty-third World Health Assembly, Geneva, 17–21 May 2010. Resolutions and decisions, annexes. Geneva: World Health Organization, 2010. <http://apps.who.int> (Vizitat 02.05.2017).
147. Robinson J. L. La transmission verticale du virus de l'hépatite C: Les connaissances et les enjeux courants. *Paediatr. Child Health*, 2008, v. 13 (6), p. 536-541.
148. Roman S. HBV endemicity in Mexico is associated with HBV genotypes H and G . În: *World J. Gastroenterol*, 2013, V. 19 (33), p. 5446-5453.
149. Ruggeri M., Cicchetti A., Gasbarrini A. The cost-effectiveness of alternative strategies against HBV in Italy. In: *Health Policy*, 2011, V.102 (1), p. 72–80.
150. Sanders-Buell E. Hepatitis C genotype distribution and homology among geographically disparate injecting drug users in Afghanistan. În: *J Med Virol*, 2013, V. 85 (7), p. 1170-1179.
151. Shi W., Zhang Z., Ling C. et al. Hepatitis B virus subgenotyping: history, effects of recombination, misclassifications, and corrections. In: *Infect Genet Evol*, 2013, 6, p. 355-361.
152. Schweitzer A., Horn J., Mikolajczyk R. et al. Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet*, 2015, V. 386, p. 1546-1555. <http://www.dx.doi.org> (vizitat 03.06.2017).
153. Schaefer S. Under construction: classification of hepatitis B virus genotypes and subgenotypes. În: *Intervirology*, 2009, V. 52, p. 323-325.
154. Slowik M.K., et al. Hepatitis B and c viruses in infants and young children. În: *Semin. Pediatr. Infect. Dis.*, 2005, V. 16. p. 296-305.
155. Shimakawa Y., Bottomley C., Njie R. et al. The association between maternal hepatitis B e antigen status, as a proxy for perinatal transmission, and the risk of hepatitis B e antigenaemia in Gambian children. In: *BMC Public Health*, 2014, V. 14. 532 p.
156. Shimakawa Y, Bonnard P, El Kassas M, Abdel-Hamid M, Esmat G, Fontanet A. Diagnostic accuracy of the c-glutamyl transpeptidase to platelet ratio to predict liver fibrosis in Egyptian patients with HCV genotype 4. In: *Gut*, 2016, V. 65, p. 1577-1578. <http://dx.doi.org> (vizitat 20. 03.2017).
157. Simonetti J., Bulkow L., McMahon B.J. et al. Clearance of hepatitis B surface antigen and risk of hepatocellular carcinoma in a cohort chronically infected with hepatitis B virus. În: *Hepatology*, 2010, V. 51, p. 1531-1537.
158. Singer W., Sletten D.M., Opfer-Gehrking T.L., et al. Postural tachycardia in children and adolescents: what is abnormal? În: *J Pediatr.*, 2012, nr. 160 (2), p. 222-226.

159. Smith, D. B. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment WEB resource. În: *Hepatology*. 2014, V. 59 (1), p. 318-327.
160. Sokal E., Paganelli M., Wirth S. et al. Management of chronic hepatitis B in childhood: ESPGHAN Clinical Practice Guidelines. In: *Journal of Hepatology*, 2013, V. 59, p. 814-829.
161. Sokal E.M., Kelly D.A., Mizerski J. et al. Long-term lamivudine therapy for children with HBeAg-positive chronic hepatitis B. In: *Hepatology*, 2006, V. 43, p. 225-232.
162. Sokal E.M., Paganelli M., Wirth S., Socha P., Vajro P., Lacaille F., Kelly D., Mieli-Vergani G. Management of chronic hepatitis B in childhood: ESPGHAN Clinical Practice Guidelines. In: *Journal of Hepatology*, 2013, V. 59, p. 814-829.
163. Stanaway J.D., Flaxman A.D., Naghavi M. et al. The global burden of viral hepatitis from 1990 to 2013: findings from the Global Burden of Disease Study 2013. In: *Lancet*, 2016, V. 388 (10049), p. 1081-1088.
164. Stewart J.M. Chronic orthostatic intolerance and the postural tachycardia syndrome (POTS). În: *J Pediatr.*, 2004, nr.145, p. 725-730.
165. Stewart J.M. Autonomic nervous system dysfunction in adolescents with postural orthostatic tachycardia syndrome and chronic fatigue syndrome is characterized by attenuated vagal baroreflex and potentiated sympathetic vasomotion. În: *Pediatr. Res.*, 2000, nr. 48; p. 218-226.
166. Strategy for hepatitis C: 2015–2020. Geneva (FIND <http://www.finddx.org/wp-content/uploads/2016/02/>). (Vizitat 14 iulie, 2016).
167. Stockdale A.J., Phillips R.O., Geretti AMHEPIK Study Group. The gamma-glutamyltranspeptidase to platelet ratio (GPR) shows poor correlation with transient elastography measurements of liver fibrosis in HIV-positive patients with chronic hepatitis B in West Africa. Response to: The gamma-glutamyltranspeptidase to platelet ratio (GPR) predicts significant liver fibrosis and cirrhosis in patients with chronic HBV infection in West Africa' by Lemoine et al.. In: *Gut*, 2016. <http://dx.doi.org>.
168. 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)
169. Spanu C., Holban T., Spânu I., Bârcă L. et al. Use of Sofosbuvir in Treatment of hepatitis C. In: Eleventh International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease, april 6-10, Sydney, Australia, 2003; p. 4-11.

170. Spanu C., Stovbun S., Holban T., Chintea P. The employment of the phytoproduct "Pacovirin" in treatment acute viral hepatitis B. In: 10-e International Symposium on viral hepatitis and disease, Atlanta, USA, 2000, p. 68.
171. Thio CL, Guo N, Xie C, Nelson KE, Ehrhardt S. Global elimination of mother-to-child transmission of hepatitis B: revisiting the current strategy. In: *Lancet Infect Dis.*, 2015, V.15 (8), p. 981-985.
172. Thong, V. D. Hepatitis C virus genotype 6: Virology, epidemiology, genetic variation and clinical implication. In: *World J. Gastroenterol*, 2014, V. 20 (11), p. 2927-2940.
173. Tillmann H.L., Thompson A.J., Patel K. et al. A polymorphism near IL28B is associated with spontaneous clearance of acute hepatitis C virus and jaundice. In: *Gastroenterology*, 2010, V. 139, p. 1586-1592.
174. Torresi J., Johnson D., Wedemeyer H. Progress in the development of preventive and therapeutic vaccines for hepatitis C virus. In: *J. Hepatol.*, 2011, V. 54 (6), p. 1273-1285.
175. Tovo PA., Calitri C., Scolfaro C., et al. Vertically acquired hepatitis C virus infection: correlates of transmission and disease progression. In: *World J Gastroenterol*, 2016, V. 22 (4), p. 1382-1392.
176. Treatment of hepatitis C. In: Eleventh International Symposium on Viral Hepatitis and Liver Disease Sydney, Australia, 2003, p. 4-11.
177. Wranke A., Serrano B., Heidrich B. et al. Antiviral treatment and liver-related complications in hepatitis delta. In: *Hepatology*, 2017, V. 65, p. 414-425.
178. Wirth S., Ribes-Koninckx, M. Calzado, F. Bortolotti et al. High sustained virologic response rates in children with chronic hepatitis C receiving peginterferon alfa-2b plus ribavirin. EASL. In: *Journal of Hepatology*, 2010, V. 52, p. 501-507.
179. HBV vaccines: WHO position paper. In: *Wkly Epidemiol Rec*, 2009, V. 84, p. 405-420.
180. WHO. Hepatitis C. In: Fact sheet, 2012, nr. 164. <http://www.who.int/mediacentre>. (Vizitat 20 septembrie, 2016).
181. Wirth S., Ribes-Koninckx C., Calzado M-A. et al. High sustained virologic response rates in children with chronic hepatitis C receiving peginterferon alfa-2b plus ribavirin. In: *Journal of Hepatology*, EASL, 2010, V. 52, p. 501-507.
182. World Health Organization. Hepatitis B. Fact sheet, 2012. Available at: <http://www.who.int/mediacentre> (Vizitat februarie, 2017).
183. WHO guideline on the use of safety-engineered syringes for intramuscular, intradermal and subcutaneous injections in health care settings. Geneva: World Health Organization; 2016. <http://www.who.int>. (Vizitat martie, 2017).

184. Wirth S., Ribes-Koninckx C., Calzado M., et al. High sustained virologic response rates in children with chronic hepatitis C receiving peginterferon alfa-2b plus ribavirin. *In: EASL, Journal of Hepatology*, 2010, V. 52, p. 501-507.
185. Wu T.C., Chang W.L., Dai C.Y. et al. Hepatitis C virus infection among children in aboriginal areas in Taiwan. *In: Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 2008, V. 102, p. 359-360.
186. Wiegand J. , Neumann K., Bohm S. et al. Prediction of relapse after peginterferon alfa 2b and ribavirin therapy in chronic HCV genotype 1 patients is dependent on minimal residual viremie but not on IL28B genotype. *In: Journal of Hepatology*, 2011, V. 54, p. 533.
187. Wirth S., C. Ribes-Koninckx, M. Calzado, F.Bortolotti et al. High sustained virologic response rates in children with chronic hepatitis C receiving peginterferon alfa-2b plus ribavirin. *In: Journal of Hepatology*, 2010, V. 52, p. 501-507.
188. WHO. Hepatitis C. *In: Fact sheet nr. 164*, 2012. <http://www.who.int/mediacentre> (Vizitat septembrie, 2016).
189. Wedemeyer H., Manns M. Epidemiology, pathogenesis and management of hepatitis D: update and challenges ahead. *In: Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 2010,V. 7 (1), p. 31-40.
190. Zahariadis G, Plitt SS, O'Brien S, Yi QL, Fan W, Preiksaitis JK. Prevalence and estimated incidence of blood-borne viral pathogen infection in organ and tissue donors from northern Alberta. *In: Am J Transplant*, 2007, V.7, p. 226-234.
191. Zou H., Chen Y., Duan Z. et al. Virologic factors associated with failure to passive-active immunoprophylaxis in infants born to HBsAg positive mothers. *In: J Viral Hepat*, 2012. V. 19, p. e18-e25.
192. Zoulim F, Locarnini S. Optimal management of chronic hepatitis B patients with treatment failure and antiviral drug resistance. *In: Liver Int*, 2013. V. 33, p. 116-124.
193. Zoulim F, Carosi G, Greenbloom S, Mazur W, Nguyen T, Jeffers L, et al. Quantification of HBsAg in nucleos(t)ide-naïve patients treated for chronic hepatitis B with entecavir with or without tenofovir in the BE-LOW study. *In: J Hepatol*, 2015, V. 62, p. 56-63.
194. Yau A. H., Yoshida E.M. Hepatitis C drugs: the end of the pegylated interferon era and the emergence of all-oral interferon – free antiviral regimens: a concise review. *In: Can J Gastroenterol. Hepatol.*, 2014, V. 28 (8), p. 445-451.
195. Yano Y. Variations and mutations in the hepatitis B virus genome and their associations with clinical characteristics. Y. Yano, T. Azuma, Y. Hayashi. *In: World J Hepatol*, 2015, V. 7 (3), p. 583-592.

196. Yeung L.T., To T., King S.M. et al. Spontaneous clearance of childhood hepatitis C virus infection. In: *J. Viral Hepat*, 2007, V.14, p.797-805.
197. Yeung C.Y., Lee H.C., Chan W.T. et al. Vertical transmission of hepatitis C virus: current knowledge and perspectives. In: *World J Hepatol*, 2014, V. 6 (9), p. 643-651.
198. Yi P., Chen R., Huang Y. et al. Management of mother-to-child transmission of hepatitis B virus: propositions and challenges. In: *J Clin Virol*, 2016, V. 77, p. 32-39.

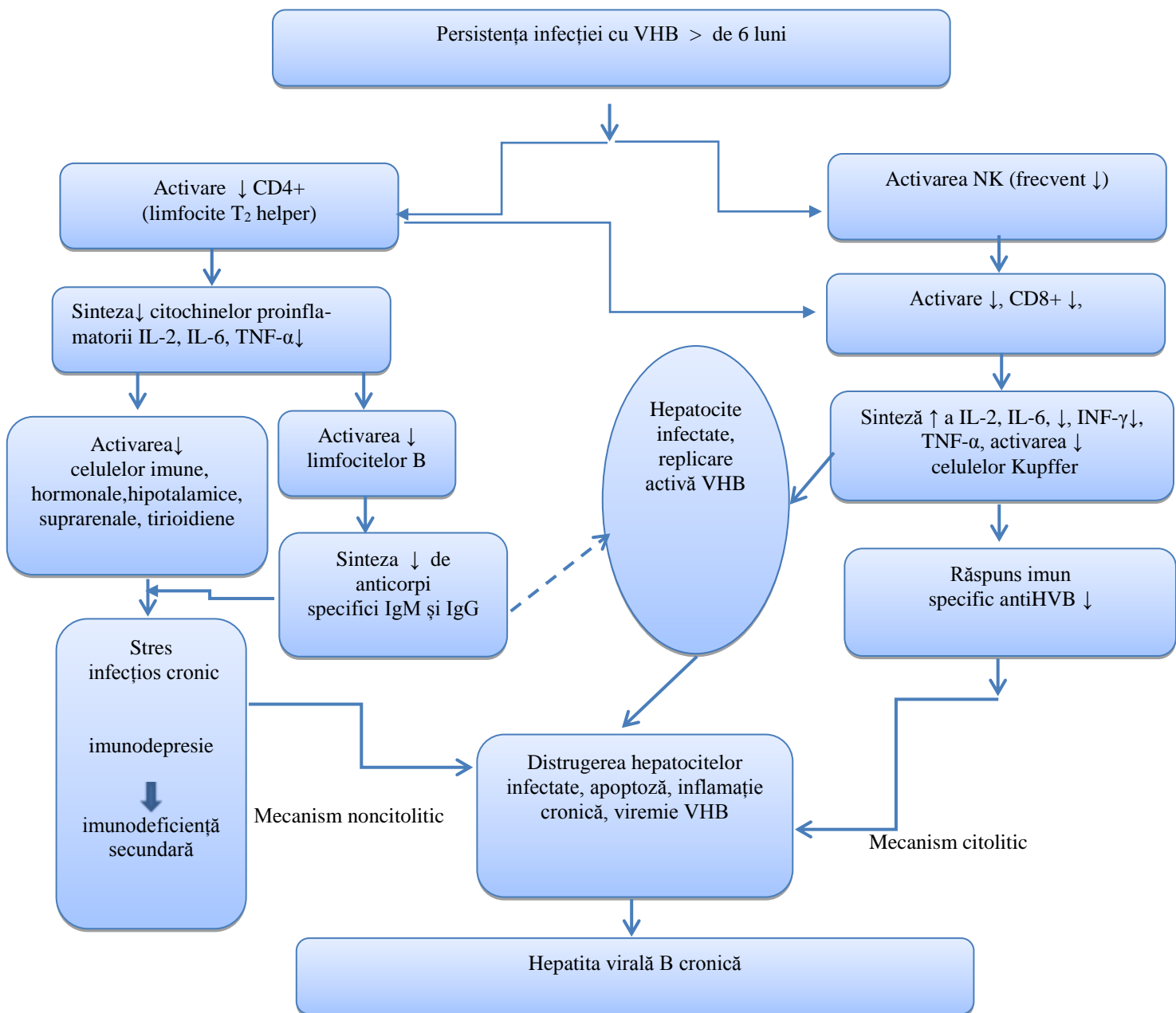


Fig. 4.10. la p. 134. Mecanismul imunopatogenetic în HVBC la copii, mediat de CD4+, CD8+ și citochinele proinflamatorii IL-2, IL-6, TNF-α (schemă propusă de autor, 2017)

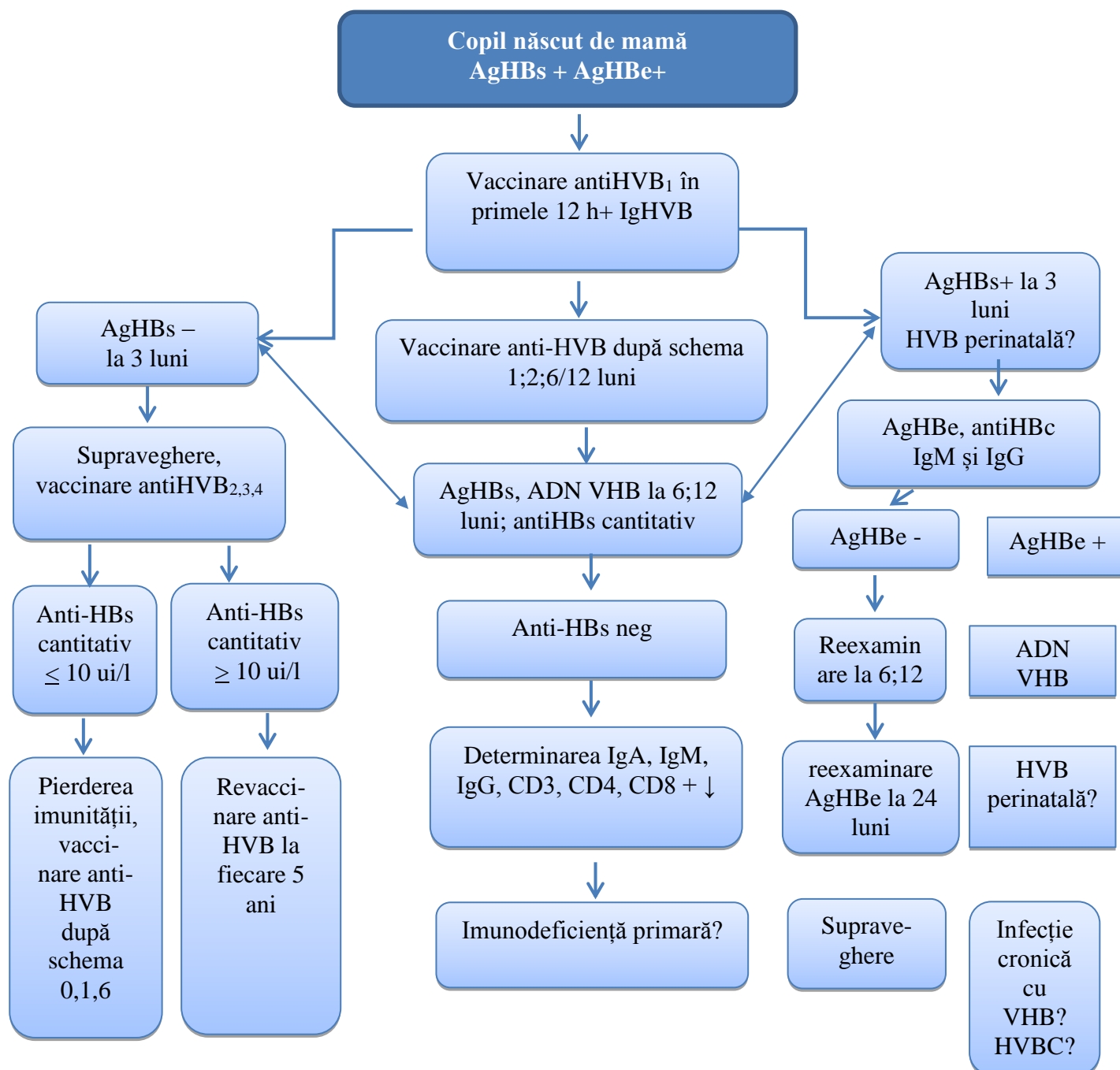


Fig. 5.8 la p. 148. Algoritmul conduitei copilului născut de mamă cu AgHBs + și AgHBe + (schema propusă de autor, 2017)

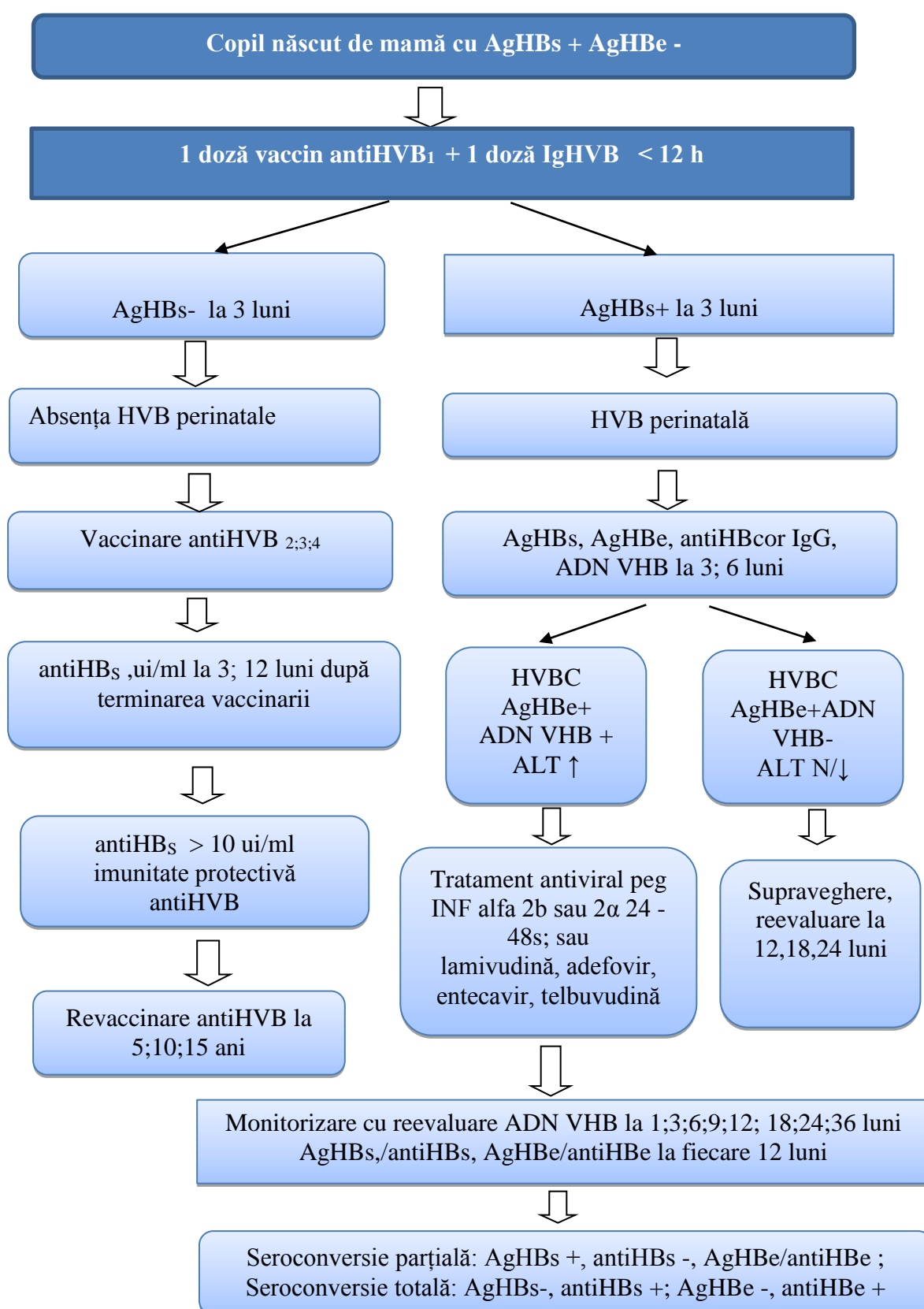


Figura 5.9. la p.149. Algoritmul conduitei copilului cu risc perinatal de infectare cu VHB, născut de mama cu AgHBs+ (schema propusă de autor)

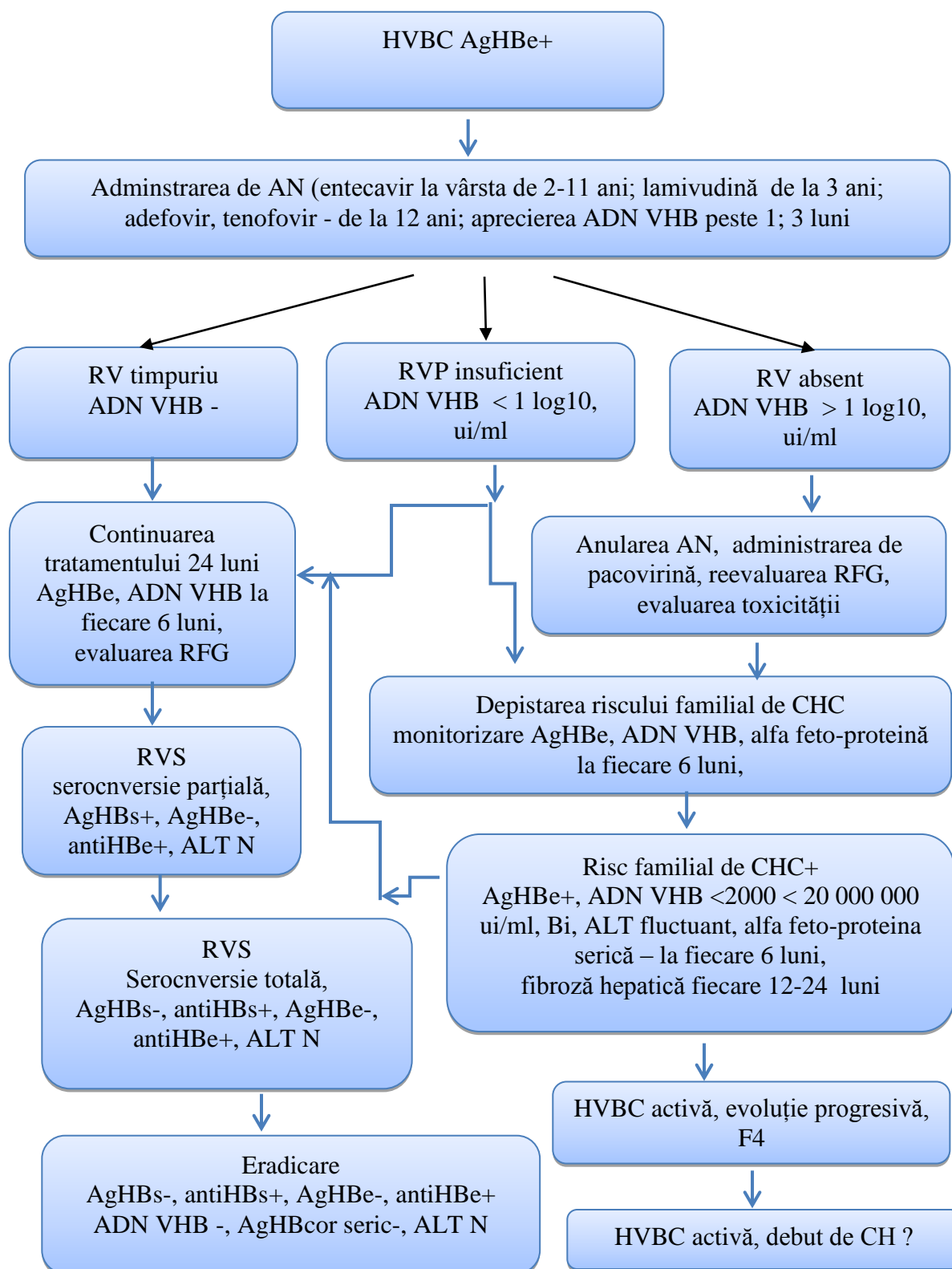


Figura 5.10. la p.150. Algoritmul conduitei în HVBC AgHBe +, la pacienții tratați cu analogi nucleotidici (-zidici, AN), (propus de autor, 2017)

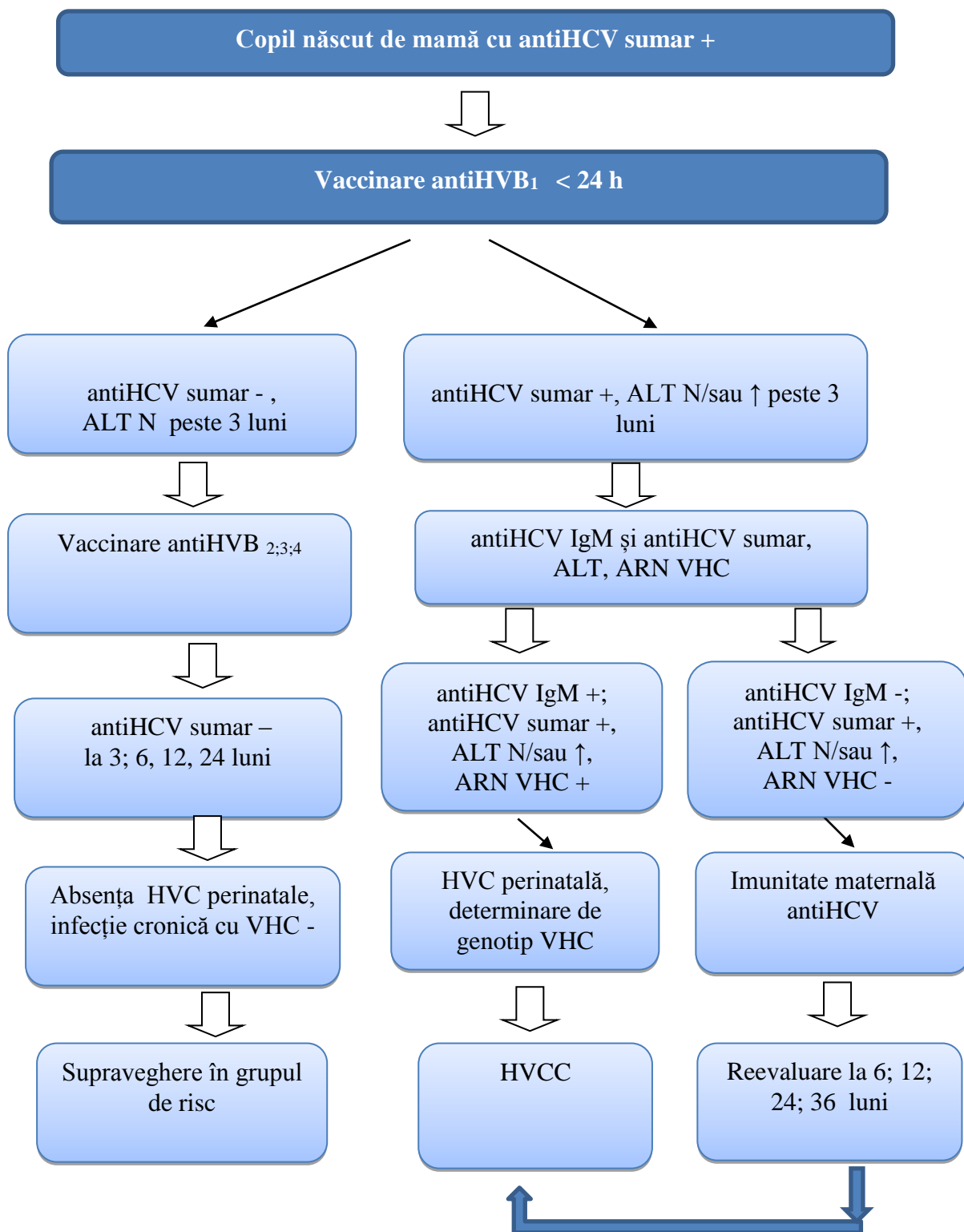
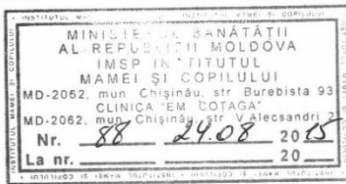


Figura 5.11. la p.151. Algoritm diagnostic al HVC perinatale și HVCC la copilul născut de mamă cu antiHCV sumar pozitiv (schemă propusă de autor)



Act de confirmare

Prin prezenta se confirmă acordul de desfășurare a cercetărilor științifice, implementarea materialelor, elaborate de d-na Tatiana Raba șef secție hepatologie, de comun cu alți autori, pe parcursul realizării tezei de doctor habilitat în științe medicale „Hepatitele virale cronice B și C la copii: particularitățile clinice, imunologice, evolutive și optimizarea tratamentului antiviral”, (2005-2015) în activitatea științifico-practică a IMSP Spitalul Clinic Republican pentru copii „Em. Coțaga”, după cum urmează:

1. Selectarea copiilor cu hepatite virale cronice B și C, a grupului de control cu vârsta între 1-18 ani incluși în teză, efectuarea biopsiei hepatice, altor investigații instrumentale conform indicațiilor clinice, a tratamentului antiviral cu Interferon alfa 2 beta pegilat (monoterapie) sau combinat (INF peg și Ribavirină), sau cu Pacovirină în cazul contraindicațiilor la terapia cu interfeoroane pegilate.
2. Cercetarea nivelului seric al IL1, IL2, IL6, IL28, TNF-alfa, T3,T4,TSH, Hb glicolizată, imunitatea umorală și celulară, a altor investigații conform indicațiilor clinice în Laboratorul clinico-imunologic al instituției (șef laborator dna E.Saveiuc, executor medic-imunolog dna T.Kalinschi) la copiii cu hepatite virale cronice B, C spitalizați în secția de „Hepatologie” a Clinicii „Em.Coțaga”, IMSP Institutul Mamei și Copilului.
3. Monitorizarea pacienților pe parcursul tratamentului cât și după finisarea acestuia în cadrul subdiviziunii „Hepatologie” a Clinicii „Em.Coțaga”, Institutul Mamei și Copilului în perioada aa.2005-2015.

Director Clinica „Em.Coțaga”,
IMSP Institutul Mamei și Copilului



Janeta Buliga



REPUBLICA MOLDOVA

Agenția de Stat pentru
Proprietatea Intelectuală

CERTIFICAT
DE ÎNREGISTRARE A OBIECTELOR
DREPTULUI DE AUTOR ȘI DREPTURILOR CONEXE

SERIA OȘ NR. 5625
DIN 12.05.2017

Eliberat în temeiul Legii nr.139/2010 privind dreptul de autor
și drepturile conexe, obiectul de pe verso a fost înregistrat în Registrul
de Stat al obiectelor protejate de dreptul de autor și drepturile conexe



Director General

CHIȘINĂU

Seria: OȘ (operă științifică)

Numărul de înregistrare: 5625

Data înregistrării: 05.05.2017

Numărul cererii: 369

Denumirea obiectului: „Hepatita virală C în grupurile cu risc sporit de infectare”

Autori:

Spînu Constantin **IDNP:** 0962910480131

Sajen Octavian **IDNP:** 2004012002263

Holban Tiberiu **IDNP:** 0981305014463

Spînu Igor **IDNP:** 0972803487389

Isac Maria **IDNP:** 2002042147529

Cebotari Svetlana **IDNP:** 0982304017534

Raba Tatiana **IDNP:** 0961210427114

Suveică Luminița **IDNP:** 0991103486412

Pînzaru Iurie **IDNP:** 0970703815523

Roșca Angela **IDNP:** 2001088518708

Josanu Cristina **IDNP:** 2003012057912

Bologa Sergiu **IDNP:** 2002030074567

Titularii drepturilor patrimoniale:

Spînu Constantin **IDNP:** 0962910480131

Sajen Octavian **IDNP:** 2004012002263

Holban Tiberiu **IDNP:** 0981305014463

Spînu Igor **IDNP:** 0972803487389

Isac Maria **IDNP:** 2002042147529

Cebotari Svetlana **IDNP:** 0982304017534

Raba Tatiana **IDNP:** 0961210427114

Suveică Luminița **IDNP:** 0991103486412

Pînzaru Iurie **IDNP:** 0970703815523

Roșca Angela **IDNP:** 2001088518708

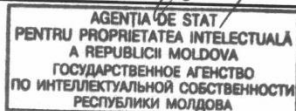
Josanu Cristina **IDNP:** 2003012057912

Bologa Sergiu **IDNP:** 2002030074567

L.S.



Șef Direcție Drept de Autor



EHREN-URKUNDE/DIPLOMA



Internationale Fachmesse

»Ideen - Erfindungen - Neuheiten« Nürnberg

International Trade Fair

»Ideas-Inventions-New Products« Nuremberg

Spinu Constantin, Raba Tatiana, Guriev Vladimir, Spinu Igor, Sajen Octavian,
National Center for Public Health
AGEPI
State Agency on Intellectual
Property of the Republic of Moldova
MOLDAU

wird für die Teilnahme an der iENA 2015 – Internationale Fachmesse
„Ideen - Erfindungen - Neuheiten“ – ausgezeichnet.
*will be distinguished by a diploma for the participation at the
International Trade Fair iENA 2015 „Ideas – Inventions – New products“*

Die Erfindung / Neuheit

The invention / new product

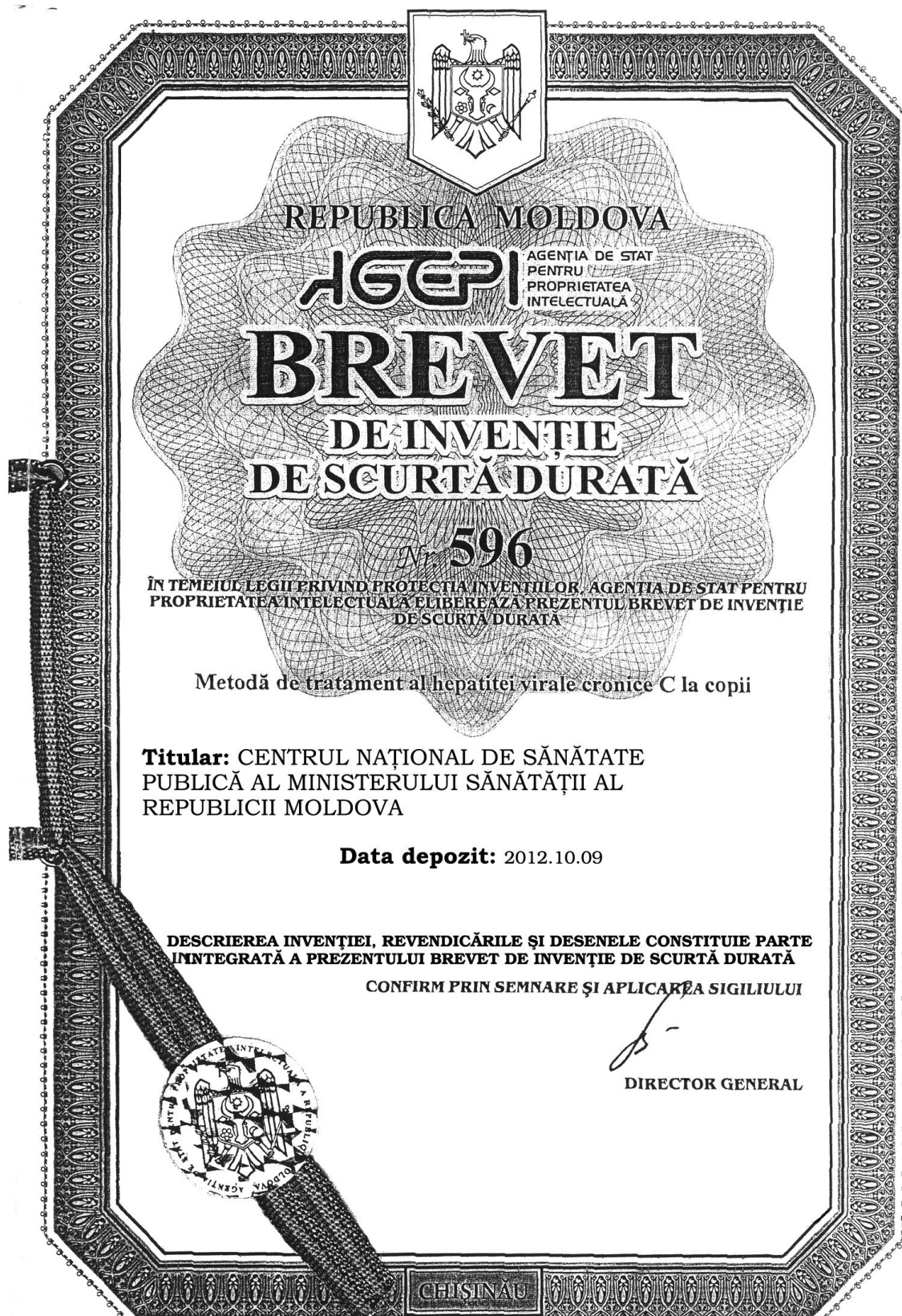
Methode der Behandlung der chronischen, viralen Hepatitis C
Method of treatment of chronic viral Hepatitis C in children

hat maßgeblich zum Erfolg der iENA 2015 beigetragen.
make significant contributions to the success of the iENA 2015.

AFAG Project Management iENA

Henning Könicke

31. Oktober 2015





REPUBLICA MOLDOVA

AGPI

AGENTIA DE STAT
PENTRU
PROPRIETATEA
INTELECTUALA

**BREVET
DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

Nr. **596**

**ÎN TEMEIUL LEGII PRIVIND PROTECȚIA INVENȚIILOR, AGENTIA DE STAT PENTRU
PROPRIETATEA INTELECTUALĂ ELIBEREAZĂ PREZENTUL BREVET DE INVENȚIE
DE SCURTĂ DURATĂ**

Metodă de tratament al hepatitei virale cronice C la copii

- (71) Solicitant: CENTRUL NAȚIONAL DE SĂNĂTATE PUBLICĂ AL MINISTERULUI SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD
- (72) Inventatori: SPĂNU Constantin, MD; RABA Tatiana, MD; SPĂNU Igor, MD; GURIEV Vladimir, MD; SAJEN Octavian, MD
- (73) Titular: CENTRUL NAȚIONAL DE SĂNĂTATE PUBLICĂ AL MINISTERULUI SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA, MD

Data depozit: 2012.10.09

**DESCRIEREA INVENȚIEI, REVENDICĂRILE ȘI DESENELE CONSTITUIE PARTE
INTEGRANTĂ A PREZENTULUI BREVET DE INVENȚIE DE SCURTĂ DURATĂ**

CONFIRM PRIN SEMNARE ȘI APLICAREA SIGILIULUI

DIRECTOR GENERAL



COPIE

CHIȘINĂU

Agencia de Stat pentru Proprietate Intelectuala a Republicii Moldova



Ediția a XIII-a

Expoziția Internațională Specializată

INFOINVENT

DIPLOMĂ

se acordă

Spânu Constantin, Raba Tatiana, Spânu Igor, Guriev Vladimir, Sajen Octavian, Pîntea Victor

pentru

METODE DE TRATAMENT AL HEPATITELOR VIRALE

MEDALIE DE AUR

PREȘEDINTELE JURIULUI INTERNAȚIONAL



NATIONAL INSTITUTE OF
INVENTICS, JASSY, ROMANIA

Diploma

GOLD MEDAL

The Hamangia Thinker

Offered Mr / Ms

Prof, D.H.M., C. Spînu, Dr. O. Sajen, Dr.Ş.M. T. Raba,
Dr.Ş.M. Vl. Guriev, Dr.Ş.M. Ig. Spînu,
Dr.Ş.M. M.Isac, Dr. S. Bologa

METHOD OF TREATMENT OF CHRONIC
HEPATITIS C VIRAL IN CHILDREN

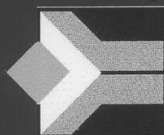
THE XVII-TH INTERNATIONAL EXHIBITION
OF RESEARCH, INNOVATION AND
TECHNOLOGICAL TRANSFER

“INVENTICA 2013”

IASI, ROMANIA
19- 21 JUNE 2013

General Manager
Prof. Boris Plahteanu Ph.D





UNIVERSITATEA TEHNICA DIN CLUJ-NAPOCA
EXPO TRANSILVANIA CLUJ-NAPOCA
sub egida MINISTERULUI EDUCATIEI NATIONALE si
ACADEMIEI DE STIINTE TEHNICE DIN ROMANIA, FILIALA CLUJ

SALONUL INTERNATIONAL DE INVENTICĂ PRO INVENT editia a XI-a, 2013, Cluj-Napoca

DIPLOMA

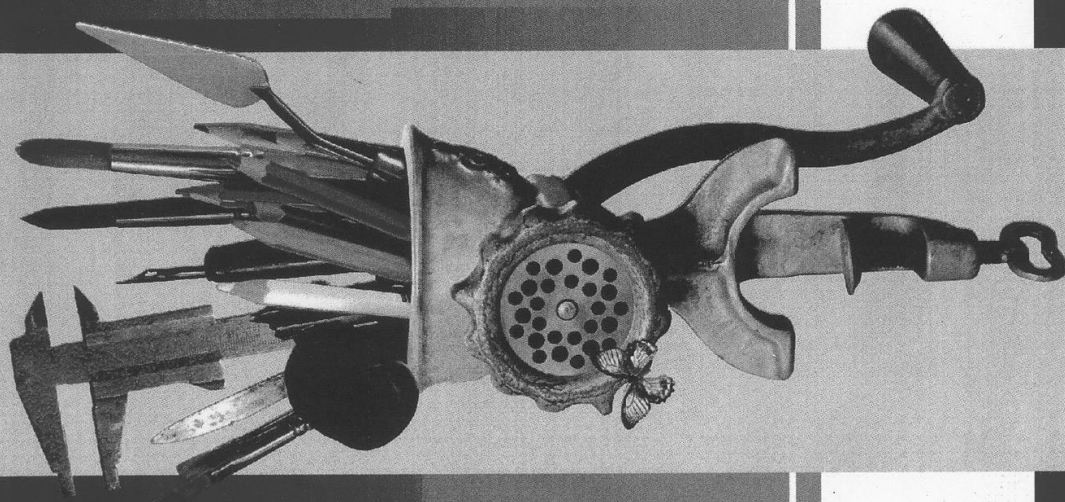
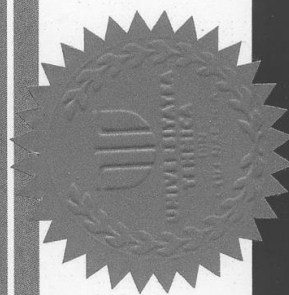
DE EXCELENȚĂ si Medalia de Aur

Se acordă, C. SPINU, T. RABA, VL. GURIEV, IG. SPINU,
OCT. SAJEN, MARIA ISAC, SERGIU BOLOGA
pentru... METONĂ TRATAMENT HEPATITA VIRACA C
CRONICA LA COPII

PRESEDINTELE SALONULUI,
Prof. dr. ing. AUREL VLAICU
Rector al

Universitatii Tehnice din Cluj-Napoca

PRESEDINTELE JURULUI,
Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU





IAȘI - ROMÂNIA



DIPLOMA



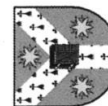
METHOD OF TREATMENT OF CHRONIC
HEPATITIS C VIRAL IN CHILDREN
C. SPÎNU, O. SAJEN, T. RABA, VL. GURIEV, IG.
SPÎNU, M.ISAC, S. BOLOGA

GOLD MEDAL



President of International Jury
Prof. Adrian GRAUR

President of Exhibition
Prof. Ion SANDU



EUROINVENT
2013

11 May 2013



UNIVERSITATEA TEHNICA DIN CLUJ-NAPOCA
 sub egida: MINISTERULUI EDUCATIEI NATIONALE și
 ACADEMIEI DE ȘTIINTE TEHNICE DIN ROMÂNIA. FILIALA CLUJ

**SALONUL INTERNAȚIONAL DE INVENTICA
 PRO INVENT** ediția a XII-a, 2014, Cluj-Napoca,
 România

DIPLOMA

**DE EXCELENȚĂ
 ȘI MEDALIA DE AUR CU MENȚIUNE SPECIALĂ**

Se acordă: Prof. D.H.M. C. Spînu, DR. O. Sajei, DR.Șt.M. T. Raba, DR.Șt.M. VL. Guriev,
 DR.Șt.M. IG. Spînu, DR.Șt.M. M.Isac, PROF. V. Pântea

Pentru: **METODĂ DE TRATAMENT A HEPATITEI VIRALE C CRONICE LA COPII**

**PREȘEDINTELE SALONULUI,
 Prof. dr. ing. AUREL VLAICU**
 Rector al
 Universității Tehnice din Cluj-Napoca

**PREȘEDINTELE JURIULUI,
 Prof. dr. ing. RADU MUNTEANU**
Radu Munteanu

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA
CENTRUL NAȚIONAL DE SĂNĂTATE PUBLICĂ



MD 2028, mun. Chișinău, str. Gh. Asachi 67A, Tel. +373 22 574 501; Fax. +373 22 729 725, e-mail: anticamera@cnspl.md.

Nr. 01-3/1018
La nr. _____ din 18.04.2014

Certificat

Prin prezenta confirmăm participarea d-nei Tatiana Raba – doctor în medicină, conferențiar universitar pe parcursul perioadei 2009-2012 în realizarea Proiectului „Contribuții în tratamentul hepatitelor virale și profilaxia cirozelor hepatice la copii prin utilizarea preparatului autohton Pacovirină” din cadrul Programului de stat „Hepatitele și cirozele, profilaxia și metode avansate de tratament” - cifrul 11.834.09.05A aprobat prin Hotărârea Consiliului Suprem pentru știință și Dezvoltare Tehnologică a ASM 2010 și prin Hotărârea de Guvern nr. 27 din 22.01.2009.

Director de proiect
Prof. Universitar, d.h.m, Laureat al
Premiului Național, Om Emerit



C. Spînu

CNSP

DECLARAȚIA PRIVIND ASUMAREA RĂSPUNDERII

Subsemnata, declar pe răspundere personală că materialele prezentate în teza de doctorat sunt rezultatul cercetării și realizării științifice. Conștientizez că, în caz contrar, urmează să suport consecințele în conformitate cu legislația în vigoare.

Raba Tatiana

Semnătura _____

Data _____

CV-ul autorului

Nume, prenume: Tatiana Raba

Cetățenie: Republica Moldova

Studii: superioare, absolvite în 1984, Facultatea de Pediatrie a Institutului de Stat de Medicină din Chișinău, în prezent USMF “Nicolae Testemițanu”; 1985-1997 – studii prin internatură la specialitatea Pediatrie. 1997-1999 – studii de doctorat, cu frecvență redusă, la specialitatea Boli infecțioase; 2001 – susținerea tezei de doctor în științe medicale la tema “Hepatitele virale B și D cronice la copii (particularități clinice, diagnostic, sechele)” (14.00.01 Boli infecțioase, conducător profesor universitar S. Țîbuleac, consultant științific profesor universitar P. Mogoreanu).

Stagii: mai-iulie 1985 – formare primară în gastroenterologie și hepatologie pediatrică – Curs de gastroenterologie și hepatologie pediatrică pentru gastroenterologi pediatri. Catedra de Gastroenterologie și hepatologie pediatrică, Institutul Ucrainean de Perfecționare a Medicilor, or. Harkov; aprilie-mai 1996 – curs de formare în „Gastroenterologie și dietoterapie” pentru medicii șefi adjuncți pe probleme curative a spitalelor de copii. Leningrad, Rusia; mai, 1997 – curs de „Hepatologie pediatrică”, USMF „Nicolae Testemițanu”, Catedra Boli infecțioase a FPM, Chișinău, Republica Moldova; aprilie-mai, 1997, Spitalul Clinic Universitar pentru Copii, Serviciul de gastroenterologie, hepatologie, boli nutriționale și genetică la copii. Nancy, Franța; iunie, 1998 - Spitalul Universitar pentru Copii “Kremlin Bicetre”, subdiviziunea “Hepatologie pediatrică”. Bursă de stagiere oferită de Guvernul Franței; aprilie, 1998 – Școala Superioară de Management pentru vice directori medicali, Bratislava, Slovenia; octombrie-noiembrie, 2006 – curs de formare în hepatologia pediatrică – metoda de efectuare a biopsiei ficatului la copii. Spitalul Universitar pentru Copii “Kremlin Bicetre”, subdiviziunea “Hepatologie pediatrică”, Bursă oferită de Ambasada Franței în Republica Moldova; 2006 – curs de instruire a cadrelor de conducere din sistemul de sănătate, în cadrul Proiectului guvernamental “Reforma în Sănătatea Publică”, finanțat de Uniunea Europeană, Consorțiul “EPOS Health Consultants/GVG/HMTC”; 2006 – membru al grupului de lucru pentru elaborarea Programului Național de Combatere a hepatitelor virale B, C, D în Republica Moldova; ianuarie-februarie, 2008 instruire în “Management spitalicesc privind calitatea asistenței medicale în spitale pentru copii și al Sistemului de Sănătate, SUA. Bursă oferită de Guvernul SUA în cadrul Programului “Special American business internship training” cu participare internațională.

Domenii de interes științific: pediatrie, gastroenterologie și hepatologie pediatrică, boli infecțioase, management în sistemul sănătății.

Participare în proiecte științifice: - executor, Proiectul “Contribuții în tratamentul hepatitelor virale și profilaxia cirozelor hepatice la copii prin utilizarea preparatului Pacovirină”, în cadrul Programului de Stat “Hepatitele și cirozele, profilaxie și metode avansate de tratament” (cifru 11.834.09.05, HG nr.27 din 22.01.2009); coordonator și executor al Programului MS al RM privind tratamentul antiviral cu interferon alfa 2b pegilat în hepatitele virale B și C la copii în perioada anilor 2010-2015, realizat în cadrul Programelor Naționale de combatere a hepatitelor virale B,C,D în perioada anilor 2008-2016.

Participare la foruri științifice: 32 de participări la foruri științifice naționale și internaționale.

Lucrări științifice și științifico-metodice publicate: 78 publicații, dintre care 39 la tema tezei de dr.hab.șt.med., inclusiv: 4 monografii; 18 articole (3 cu FI); 13 teze și comunicări la foruri naționale și internaționale; 2 brevete de invenție; 1 lucrare științifică metodico-didactică în manual pentru învățământul superior; 1 indicație metodică.

Mențiuni: 2005 – Diploma Guvernului Republicii Moldova; 2009 – Diploma Ministerului Sănătății; 2010 – Diploma de gr. II și în 2011 – Diploma de gr. I a Guvernului Republicii Moldova pentru activitate prodigioasă și contribuție personală la dezvoltarea și perfecționarea calității asistenței medicale acordate copiilor, profesionalism și capacități manageriale.

Apartenența la societăți/asociații științifice naționale, internaționale: 2011–2013 coordonator în cadrul Proiectului “REPEMOL”, SCRC “Em.Coțaga; 2011-2013 – expert-pediatru al Agenției Medicamentului, Republica Moldova; 2011-2017 – expert al Consiliului Național de Evaluare și Acreditare în Sănătate; din 1985 - prezent – membru al Societății Pediatrilor din Republica Moldova; 2001- 2008 – membru al Societății Pediatrilor din România; din 2004 - prezent – membru al Asociației medicilor gastroenterologi “Hepateg”, Republica Moldova; din 2009 - prezent – membru al Societății Europene de Studii pe Ficat (EASL).

Activități în cadrul colegiilor de redacție ale revistelor științifice: membru al echipei de redacție a materialelor științifice în cadrul Conferinței Naționale Interdisciplinare cu Participare Internațională ”CUM DIAGNOSTICĂM ȘI CUM TRATĂM BOLILE RENO-URINARE LA COPIL”, 2016, București, România.

Cunoașterea limbilor: română, rusă, franceză (B2), engleză (A1, A2).

Date de contact: Departamentul Pediatrie USMF „Nicolae Testemițanu”, baza clinică universitară IMSP SCMC „V. Ignatenco” (str. Grenoble, 147), tel +373 208 889; email: tatiana.raba@usmf.md