

ARTICOL DE CERCETARE

Pacovirina în tratamentul hepatitelor virale B, C cronice la copii: studiu clinic prospectiv, comparativ

Tatiana Raba^{1*}, Constantin Spînu²

¹Departamentul Pediatrie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova.

²Centrul Național de Sănătate Publică, Chișinău, Republica Moldova.

Data primirii manuscrisului: 21.11.2015

Data acceptării spre publicare: 24.02.2017

Autor corespondent:

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

Departamentul Pediatrie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: tatiana.raba@usmf.md

Ce nu este cunoscut, deocamdată, la subiectul abordat

Nu a fost studiată, deocamdată, eficiența clinică a remedii fitoterapeutice autohton pacovirina în tratamentul hepatitelor virale cronice B și C la copii.

Ipoteza de cercetare

Tratamentul cu pacovirină a copiilor bolnavi de hepatita virală cronică B și C ameliorează simptomatologia clinică și reduce viremia.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

A fost demonstrată activitatea antivirală moderată, indirectă, precum și cea imunomodulatorie a pacovirinei în tratamentul hepatitelor virale cronice B și C la copii.

Rezumat

Introducere. Tratamentele cu interferoni ale hepatitelor virale B și C cronice la copii au o eficiență redusă și sunt soldate cu numeroase efecte adverse. Analogii nucleotidici sunt remedii, în majoritate, inaccesibile, în special, din cauza costurilor înalte, dar și a limitei de vârstă de la care se pot utiliza la copii (>12 ani). De asemenea, noile medicamente antivirale, care sunt utilizate la adulți, nu sunt aplicabile, deocamdată, la copii. În aceste condiții, utilizarea remediilor de alternativă este, practic, inevitabilă. Testarea eficienței clinice a pacovirinei – un remediu de origine vegetală autohton – în tratamentul hepatitelor virale B și C cronice la copii deschide noi perspective terapeutice, precum și relevă un potențial de impact farmaco și socioeconomic enorm.

RESEARCH ARTICLE

Treatment of chronic hepatitis type B and C in children with pacovirine: a clinical prospective comparative study

Tatiana Raba^{1*}, Constantin Spînu²

¹Chair of pediatrics, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova.

²National Center of Public Health, Chisinau, Republic of Moldova.

Manuscript received on: 21.11.2015

Accepted for publication on: 24.02.2017

Corresponding author:

Tatiana Raba, MD, PhD, assoc. prof.

Chair of pediatrics

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Stefan cel Mare si Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: tatiana.raba@usmf.md

What is not known yet, about the topic

Clinical efficiency of the autochthon phyto-therapeutic remedy pacovirine in treating hepatitis B and C in children has not been studied.

Research hypothesis

Treatment with pacovirine in children with hepatitis B and C ameliorates clinical symptoms and reduces viral load.

Article's added novelty on this scientific topic

Moderate indirect anti-viral as well as immune-modulatory activity of pacovirine has been demonstrated in the treatment of chronic viral hepatitis B and C in children.

Abstract

Introduction. Interferon treatment of type B and C hepatitis in children have a reduced efficiency and result in many side effects. Nucleoside analogues are remedies that are, in most of the cases, not accessible due to high costs, and also because of age limitations from which treatment can be started (>12 years). Also, newer anti-viral drugs that are used in adults are not yet applied in treatment in children. Under these circumstances, it is unavoidable to use alternative medications. The efficiency testing of pacovirine (an autochthonous vegetal remedy) in the treatment of chronic hepatitis B and C in children opens new therapeutic perspectives and reveals a potential pharmacological and socio-economical impact as well.

Material și metode. În perioada 2009-2012, au fost înrolați 67 de copii (3-18 ani) cu HVBC și HVCC. Diagnosticul a fost stabilit conform criteriilor EASL și ESPGHAN. Pacienții au fost repartizați în 2 loturi: cei tratați cu pacovirină ($n=33$, dintre care, cu HVBC – 15 și HVCC – 18) și cei care nu au avut în schema de tratament pacovirină ($n=34$, dintre care, cu HVBC – 10 și HVCC – 24). Pacovirina a fost administrată timp de 6 luni de zile, câte 100 mg pe zi, în 2 prize. Pentru ambele loturi, a fost înregistrată dinamica semnelor clinice, viremiei și unor parametri biochimici, înainte și după tratament.

Rezultate. Manifestările clinice ale HVBC și HVCC au fost mai exprimate la pacienții din lotul celor tratați cu pacovirină. Simptomatologic, au predominat slăbiciunile generale (82%), durerea în hipocondrul drept (79%), hepatomegalia (70%), inapetența (55%), splenomegalia (30%). Icterul muco-cutanat a fost constatat doar în 3% din cazuri. Dintre copiii lotului tratați cu pacovirină, 55% au prezentat citoliză, 36% – colestază. Printre cei cu HVBC, o viremie înaltă (ADN VHB $>10^9$ - 10^{12} ul/ml) a fost constatată la 7 persoane. În lotul cu pacovirină, în 5 cazuri, HVBC a evoluat concomitent cu agentul delta (ARN VHD >200 ul/ml). Printre copiii cu HVCC din lotul cu pacovirină, în 56% dintre cazuri, procesul cronic infecțios a evoluat cu viremie înaltă (ARN VHC >600.000 ul/ml). Tratamentul cu pacovirină a favorizat ameliorarea clinică și paraclinică, a redus nivelul viremiei VHB cu 30% și a VHC cu 32%. În lotul copiilor tratați fără pacovirină, ameliorarea indicatorilor clinici și paraclinici a fost atinsă într-o proporție mai mică, iar nivelul de ADN VHB a diminuat doar cu 2%, iar cel de ARN VHC – cu 4%. Efecte adverse pe parcursul tratamentului cu pacovirină nu au fost constatate la niciun pacient.

Concluzii. Tratamentul cu pacovirină al hepatitelor virale B și C cronice la copii este o metodă de alternativă, eficientă, inofensivă, care ameliorează semnele clinice, paraclinice și reduce semnificativ nivelul viremiei VHB și VHC, comparativ cu tratamentele hepatoprotectoare tradiționale. Pacovirina are un potențial de impact farmacoeconomic și socioeconomic important.

Cuvinte cheie: hepatite virale cronice, copii, tratament, pacovirină.

Introducere

Conform estimărilor OMS, 360-400 mln (6%) din populația lumii este infectată cronic cu virusul hepatitei B (VHB), circa 170-200 mln – cu virusul hepatitei C (VHC), iar mai mult de 10 mln dintre cei cu infecție VHB cronică sunt infectați, concomitent, cu virusul hepatitei D (VHD) [1, 2]. Contractarea infecției cu VHB sau VHC la vârsta copilăriei are riscul major de cronicizare timpurie și a unei evoluții nefavorabile, cu invalidizare la o vârstă tânără, aptă de muncă [1, 3]. Riscul transmiterii VHB de la mama infectată la copilul nou-născut, în regiunile hiperendemice, poate ajunge peste 50% [4]. Infectarea cu VHB a nou-născuților pe cale materno-fetală sau perinatală, în 90% din cazuri, are riscul cronicizării la o vârstă fragedă [5].

Contaminarea copiilor cu VHC poate fi realizată atât prin transmitere materno-fetală sau perinatal, de la mama infectată cu viremie înaltă, cât și pe căi habituale (orizontal), sau prin

Material and methods. During 2009-2012, 67 pediatric patients (aged 3-18 years) with CVHB (chronic viral hepatitis type B) and CVHC (chronic viral hepatitis C) were enrolled. The diagnosis was established according to the EASL and ESPGHAN criteria. Patients were divided in 2 groups: the group treated with pacovirine ($n=33$, out of them 15 with CVHB and 18 with CVHC) and the group which did not have pacovirine in their treatment scheme ($n=34$, out of them 10 children had CVHB and 24 – CVHC). Pacovirine was administered 100 mg twice per day. Both groups had clinical signs, viral load, biochemical parameters recorded in dynamics, before and after the treatment.

Results. Clinical manifestations of CVHB and CVHC were more evident in patients from the group treated with pacovirine. Out of all symptoms, the following prevailed: fatigue (82%), pain in the upper right quadrant (79%), hepatomegaly (70%), loss of appetite (55%), splenomegaly (30%). Mucous and cutaneous jaundice was found in only 3% of cases. Children from the group treated with pacovirine had cytolysis in 55% of cases and cholestasis in 35% of cases. Out of the patients with CVHB, high values of viral load (HBV DNA $>10^9$ - 10^{12} ul/ml) were found in 7 cases. In 5 cases from the group of patients treated with pacovirine, CVHB evolved concomitantly with delta agent (HDV DNA >200 ul/ml). From the group of children with CVHC treated with pacovirine, 56% had high values of viral load (HCV DNA $>600,000$ ul/ml). Pacovirine treatment favoured clinical and paraclinical improvement, and reduced viral load of HBV with 30% and of HCV with 32%. Children from the group that weren't treated with pacovirine, achieved improvement of clinical and paraclinical parameters in smaller proportions, levels of HBV DNA diminished only with 2%, and HCV DNA with 4%. Pacovirine treatment's side effects were not registered in any single case.

Conclusions. Chronic hepatitis B and C treatment with pacovirine in children is an alternative, efficient, inoffensive method, which improves clinical and paraclinical signs and significantly reduces viral load of HBV and HCV, when compared with traditional treatment with hepato-protectors. Pacovirine has an important potential pharmaco-economical and socio-economical impact.

Key words: chronic viral hepatitis, children, treatment, pacovirine.

Introduction

According to WHO estimations, 360-400 mln (6%) of global population is chronically infected with hepatitis B virus (HBV), around 170-200 mln – with hepatitis C virus (HCV), and more than 10 mln of patients infected with HBV, are infected with hepatitis D virus at the same time [1, 2]. Contracting HBV or HCV in young age has major risk of chronicization, unfavourable evolution, causing disability to young patients able to work [1, 3]. The risk of passing the virus from the infected mother to the new-born child, in hyper-endemic regions, can reach 50% and higher [4]. Infection in new-borns via maternal or perinatal ways, has the risk of chronicization in young age in 90% of cases [5].

raporturi sexuale timpurii, neprotejate, la adolescenți [4, 6]. După Sokal E. (2011), HVC cronică (HVCC) la adulți provine din timpurile copilăriei, boala frecvent fiind diagnosticată la copiii mai mari de 12 ani [4, 7]. Mecanismele imunopatogenetice ale infecției cu VHB și VHC la copii sunt dependente de vârsta la care a fost produsă infectarea, precum și de starea imunității celulare și umorale [8]. Deseori, la copii, hepatita virală C cronică se dezvoltă primar, iar semnele clinice evidente, caracteristice hepatitei acute, sunt absente [9, 10].

Managementul terapeutic al hepatitelor virale B, C cronice la copii reprezintă o problemă dificilă și, deocamdată, nerezolvată în practica pediatrică [5, 11]. Replicarea virală în HVB cronică (HVBC) la copii poate fi suprimată prin administrarea interferonului pegilat sau a analogilor nucleozidici. La o mare parte dintre pacienții cu vârsta de 3-12 ani, tratați cu lamivudină, eficiența tratamentului este redusă, de doar 15-34%, existând riscul major de acidoză lactică, hiperamilazemie, pancreatită acută, sau a formării mutațiilor farmacorezistente, în timp. Cu toate acestea, tratamentul HVBC la copii rămâne limitat doar la interferon alfa 2 beta sau 2a (la cei mai mari de 5 ani), formă pegilată (monoterapie), sau combinată cu lamivudina, în cazul prezenței agentului delta. Utilizarea analogilor nucleozidici (adefovir, entecavir, tenofovir), aprobați în tratamentul HVBC la copii, în condițiile Republicii Moldova este puțin accesibilă. Există multiple controverse privind selectarea și eligibilitatea copiilor cu viremie înaltă VHB și ALAT, ASAT normale [5, 12]. Profilaxia infecției cu VHC la copii este dificilă, din motivul lipsei vaccinului anti-HVC în plan global, subestimării circulației genotipului VHC la copii, iar schemele terapeutice pediatrice sunt limitate la biterapia cu interferon pegilat, în combinație cu ribavirină, care au un cost înalt și o eficiență redusă în cazul genotipului 1 al VHC [13, 14].

Terapia antivirală în HVBC cu agent delta prevede administrarea unor doze mai înalte de alfa-interferoni, cu o durată de tratament de 48 de săptămâni, în combinație cu lamivudină [3].

Actualmente, prin studii clinice, se caută noi remedii antivirale și opțiuni terapeutice de alternativă, care ar avea o eficiență acceptabilă în eradicarea infecției cu VHB și VHC la copii [14].

În această ordine de idei, scopul studiului dat a fost evaluarea eficienței terapeutice (reducerea viremiei, ameliorarea semnelor clinice și datelor paraclinice) a pacovirinei – un remediu fitoterapeutic autohton – în tratamentul HVBC și HVCC cronice la copii.

Material și metode

Studiul a fost realizat în perioada anilor 2009-2012 la Clinica de hepatologie pediatrică a Spitalului Clinic Republican pentru Copii „Emilian Coțaga”. Protocolul de cercetare a obținut avizul favorabil al Comitetului de Etică a Cercetării al USMF „Nicolae Testemițanu” (proces-verbal nr. 2 din 21.09.2015). Toți participanții incluși în studiu și-au exprimat consimțământul informat înainte de înrolare.

Criteriile de includere în studiu au fost:

- copii cu diagnostic de HVBC și HVCC, conform clasificării aprobate de EASL (Asociația Europeană pentru Studiul Ficatului, l. engl. *European Association for the Study of the*

Contamination of children with HCV is possible via maternal of perinatal means, from an infected mother with high viral load, as well as via habitual means (horizontal), or through unprotected sexual contacts in teenagers [4, 6]. According to Sokal E. *et al* (2011), CVHC in adults has its roots from childhood, being diagnosed frequently after the age of 12 [4, 7]. Immuno-pathological mechanisms of hepatitis B and C in children are dependent on the age they got infected, as well as on humoral and cell-mediated immunity [8]. Frequently, chronic viral hepatitis C primary develops as chronic, and obvious clinical signs of acute hepatitis are absent [9, 10].

Therapeutic management of chronic hepatitis B and C in children is a difficult problem, and yet not solved in pediatric practice [5, 11]. Viral replication in CVHB in children can be suppressed by administering pegylated interferon or nucleoside analogues. In a big percentage of patients aged 3-12, treated with lamivudine, treatment efficiency is reduced (only 15-34%), and had major risks of lactic acidosis, hyperamylasemia, acute pancreatitis or forming of pharmacologically resistant mutations with time. Nevertheless, CVHB treatment in children is limited only to interferon alfa 2b or 2a (in children older than 5 years), pegylated (monotherapy), or combined with lamivudine if delta agent is present. In the republic of Moldova, use of nucleoside analogues (adefovir, entecavir, tenofovir), approved for CVHB treatment in children, is not quite accessible. Multiple controversies exist regarding selection and eligibility of children with high HBV load and normal values of ALAT, ASAT [5, 12]. Prophylaxis of HCV infection is difficult due to the absence of a vaccine anti-HCV on a global level, underestimation of genotype HCV infection among children and pediatric therapeutic schemes are limited dual therapy with pegylated interferon combined with ribavirine, which have high costs and reduced efficiency in cases of genotype 1 of HCV [13, 14].

Antiviral therapy in CVHB plus delta agent implies administration of high doses of alfa-interferon, for a 48 weeks period of time, combined with lamivudine [3].

Today, clinical research seeks new antiviral remedies and alternative therapeutic options that would have an acceptable efficiency in eradicating infection with HBV and HCV in children [14].

All this being said, the aim of the study was to evaluate the therapeutic efficiency (reducing viral load, improvement of clinical signs and paraclinical findings) of pacovirine – an autochthonous phyto-therapeutic remedy in treating CVHB and CVHC in children.

Material and methods

The study was made during 2009-2012, in the Department of pediatric hepatology from the Republican Clinical Hospital “Emilian Coțaga”. The research protocol was obtained from the Research Ethics Committee of *Nicolae Testemitanu* SUMPH (minutes no. 2 dated 21.09.2015). All participants enrolled in the study have signed the informed consent before enrollment.

Inclusion criteria were:

- children with CVHB and CVHC, according to the EASL adopted classification (*European Association for the Stu-*

Liver) și ESPGHAN (Societatea Europeană de Gastroenterologie, Hepatologie și Nutriție Pediatrică, l. engl. *European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*);

- vârsta 3-18 ani;
- viremie VHB sau VHC apreciată cantitativ;
- absența tratamentului antiviral cu alfa 2a sau 2b interferon în ultimii 2 ani;
- toleranța formei capsulate de pacovirină;
- acordul informat al familiei pacientului.

Criterii de excludere din studiu au fost:

- lipsa acordului informat al familiei sau solicitarea de a ieși din studiu;
- absența markerilor caracteristici ai HVBC sau HVCC;
- viremie VHB sau VHC absentă;
- vârsta pacienților sub 3 ani;
- prezența tratamentului antiviral cu alfa 2a sau 2b-interferon în ultimii 2 ani;
- lipsa complianței la tratament;
- persoane cu forme mixte de HVBC și HVCC, sau infectate cu alte virusuri hepatotrope;
- maladii cronice ale ficatului sau alte comorbidități, ce puteau influența evoluția maladiei și rezultatele cercetării (maladii oncologice, boli sistemice, bolnavi cu insuficiență cardiovasculară și renală).

Design-ul cercetării este prezentat în Figura 1.

of the Liver) and ESPGHAN (*European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition*);

- age between 3 and 18 y.o.;
- HBV and HCV viral load (quantity test);
- no previous treatment with 2a or 2b interferon in the last 2 years;
- patient being able to tolerate tablet form of pacovirine;
- signed informed consent of the family.

Exclusion criteria were:

- absence of the informed signed consent of the family or the request to drop off the study;
- absence of characteristic markers of CVHB or CVHC;
- absent HBV or HCV viral load;
- age under 3 years;
- previous treatment with 2a or 2b interferon in the last 2 years;
- non-compliance to treatment;
- patients with mixed forms of CVHB and CVHC, or infected with other hepatotropic viruses;
- chronic liver diseases or other comorbidities, that could influence the course of the disease and the results of the study (oncological diseases, systemic diseases, cardiac or renal insufficiency / failure).

The design of the study is presented in Figure 1.

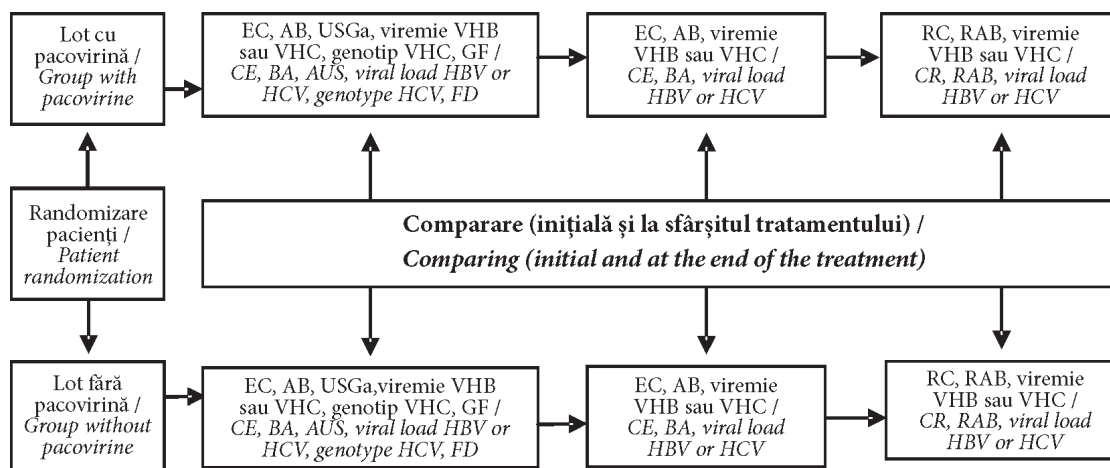


Fig. 1 Design-ul cercetării.

Notă: EC – examenul clinic (acuze, semne clinice, hepatomegalie, splenomegalie); AB – activitatea biochimică (Bilirubina, ALAT, ASAT, γ GTP); USGa – ecografia abdominală; GF – gradul de fibroză hepatică; RC – reexaminare clinică; RAB – reexaminarea activității biochimice.

Fig. 1 Design of the research.

Note: CE – clinical exam (complaints, clinical signs, hepatomegaly, splenomegaly); BA – biochemical activity (bilirubin, ALAT, ASAT, γ GTP); aUS – abdominal ultrasound; FD – liver fibrosis degree; CR – clinical re-examination; RBA – re-examination of biochemical activity.

Fiecărui pacient înrolat i-a fost efectuat screening-ul clinic și paraclinic (acuzele, anamnestical maladiei, anchetarea epidemiologică, examenul obiectiv, un set de teste biochimice, imuno-serologice, examinări instrumentale). Diagnosticul a fost stabilit conform criteriilor descrise în Ghidurile de Practică Clinică ale EASL și ESPGHAN.

Sindromul de citoliză a fost pus în baza ALAT și ASAT crescute ≥ 2 ori față de valorile normale. Marcherii VHB în HVBC

Every enrolled patient passed through clinical and paraclinical screening (complaints, medical history, epidemiological data, physical exam, a set of biochemical tests, instrumental and serological examinations). The diagnosis was established according to criteria described in the EASL and ESPGHAN Practice Guidelines.

Cytolysis syndrome was established based on ALAT and ASAT 2 fold increased levels from normal values. Tested mar-

testați au fost: HBsAg+, antiHBs negativ, antiHBcor sumar+, HBeAg+, antiVHD sumar. ADN-ul VHB, ARN-ul VHD, ARN-ul VHC au fost determinate prin metoda PCR Real Time, cu echipament *Corbett Rotor-GENE abbott 2000RT*. În cazul HVCC, markerul viral testat a fost antiVHC sumar, prin metoda imunoenzimatică ELISA. Testele de laborator s-au efectuat la Centrul Republican de Diagnosticare Medicală din Chișinău.

La toți pacienții incluși în studiu le-a fost efectuată ecografia abdominală. Gradul de fibroză hepatică a fost apreciat prin metoda elastometriei (FibroScan).

Mărimea eșantionului a fost calculat conform formulei:

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

unde:

P_0 – reușita tratamentului cu pacovirină la copiii cu HVBC și HVCC (nu se cunoaște, deoarece, deocamdată, nu a fost estimată). În consecință, $P_0=0,0$;

P_1 – proporția pacienților cu HVBC și HVCC în lotul de cercetare. Presupunem, că reușita tratamentului prin administrarea pacovirinei va fi de 25,0% ($P_1=0,25$);

$P=(P_0+P_1)/2=0,125$;

Z_{α} – valoare tabelară. Când „ α ” (pragul de semnificație) este de 5%, atunci coeficientul $Z_{\alpha}=1,96$;

Z_{β} – valoare tabelară. Când „ β ” (puterea statistică a comparației bilaterale) este de 10,0%, atunci coeficientul $Z_{\beta}=1,28$

f – proporția subiecților care se așteaptă să abandoneze studiul din motive diferite; $f=10,0\%$ (0,1).

Așadar, pentru fiecare subplot, numărul necesar de pacienți pentru demonstrarea ipotezei a fost de:

$$n = \frac{1}{(1-0,1)} \times \frac{2(1,96+1,28)^2 \times 0,125 \times 0,875}{(0,0-0,25)^2} = 41$$

de persoane.

După finalizarea tratamentului cu pacovirină, toți pacienții din ambele loturi au fost reexaminați clinic (dinamica acuzelor, a semnelor clinice, dimensiunilor ficatului și splinei) și paraclinic, cu reevaluarea funcțiilor hepatice (bilirubina totală și fracțiile ei, ALAT, ASAT, γ GT, ADN VHB, ARN VHC).

Pacovirina este un fitopreparat medicamentos autohton, cu acțiune antivirală, imunomodulatoare, interferonogenă și antioxidantă, elaborat de echipa savanților Spînu C. și Chintea P. Structura moleculei de pacovirină include: *5 α -furostan-3 β .22.26-triol-3-[O- β -D-glucopiranozil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranozil (1 \rightarrow 4)- β -D-galacto-piranozil]-26-O- β -D- glucopiranozilid)*. Remediul dat a fost aprobat pentru tratamentul hepatitelor virale la adulți și copii în baza ordinului Ministerului Sănătății al Republicii Moldova nr. 301 din 16.12.1997 și este utilizat în cadrul Programului de Stat „*Hepatitele și cirozele, profilaxie și metode avansate de tratament*”.

Pacovirina a fost administrată în doze de 100 mg/zi, în două prize, cu 30 minute înainte de mesele de dimineață și seară, timp de 6 luni. Concomitent, toți pacienții din ambele loturi au beneficiat de un regim igienico-dietetic și tratament simptomatic similare.

kers in HBV in CVHB were: HBsAg+, antiHbs negative, total+ antiHbcor, HBeAg+, total antiHDV. HBV DNA, HDV RNA, HCV DNA were determined using PCR Real Time, using *Corbett Rotor-GENE abbott 2000RT*. In cases of CVHC, the tested viral marker was total antiHCV, using ELISA method. Laboratory tests were made at the Republican Center of Medical Diagnostics from Chisinau.

All patients included in the study had abdominal ultrasound being made. The degree of liver fibrosis was estimated using the elastometry method (FibroScan).

The size of the group was calculated using the following formulae:

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

where:

P_0 – treatment success with pacovirine in children with CVHB and CVHC (not known, as it has not been estimated yet). Therefore $P_0=0,0$;

P_1 – the proportion of patients with CVHB and CVHC in the study group. We suppose that treatment success of pacovirine will be 25.0% ($P_1=0.25$);

$P=(P_0+P_1)/2=0.125$

Z_{α} – table value. When “ α ” (significance threshold) is 5%, then $Z_{\alpha}=1.96$;

Z_{β} – table value. When “ β ” (statistical power of bilateral comparison) is 10%, then $Z_{\beta}=1.28$;

f – estimated proportion that will quit the study from various causes; $f=10.0\%$ (0.1).

Therefore, for every subgroup, the necessary number of patients required for demonstrating the hypothesis was:

$$n = \frac{1}{(1-0,1)} \times \frac{2(1,96+1,28)^2 \times 0,125 \times 0,875}{(0,0-0,25)^2}$$

patients.

After completing the treatment with pacovirine, all patients from both groups were clinically and paraclinically re-examined (dynamics of complaints, of clinical signs, of liver and spleen sizes), re-evaluating liver functions (total bilirubin and its fractions, ALAT, ASAT, GT, HBV DNA, HCV RNA).

Pacovirine is an autochthonous phyto-remedy, with antiviral action, immuno-modulating, interferonogenous and antioxidant properties, that was elaborated by the group of scientists Spînu C. and Chintea P. The molecule structure of pacovirine includes: *5 α -furostan-3 β .22.26-triol-3-[O- β -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 2)- β -D-glucopiranosil (1 \rightarrow 4)- β -D-galacto-piranosil]-26-O- β -D- glucopiranoside*. The remedy was approved for treatment of viral hepatitis in adults and children based on the decree of the Ministry of Health of the Republic of Moldova no. 301 on 16.12.1997 and is used in the State Program “*Hepatitis and cirrhosis, prophylaxis and advanced treatment methods*”.

Pacovirine was administered in doses of 100 mg, twice per day, 30 minutes before meals, morning and evening, for 6 months.

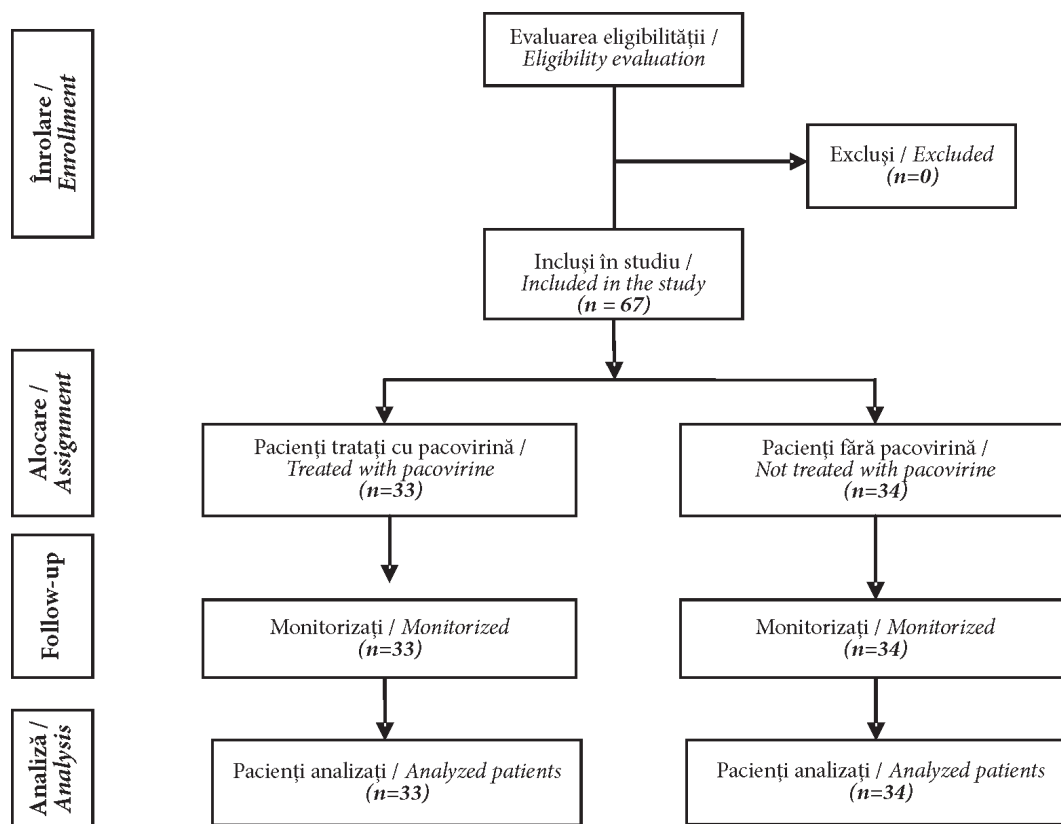


Fig. 2 Diagrama CONSORT a fluxului de pacienți.

Fig. 2 CONSORT diagram of the patients' flow.

Analiza statistică a fost efectuată cu aplicarea *StatSoft-ul Statistica*, versiunea 6,0 rus. (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, SUA). Diferența statistică a fost calculată prin criteriul t-Student. Cazurile cu $p \leq 0,05$ au fost considerate statistic semnificative.

Rezultate

După aplicarea criteriilor de includere și excludere, au fost înrolați în studiu 67 de pacienți cu HVBC și HVCC, cu vârsta cuprinsă între 3-18 ani. Diagrama de flux CONSORT a pacienților incluși în studiu este prezentată în Figura 2.

Aleatoriu, pacienții au fost repartizați în două loturi: 33 dintre ei au fost tratați cu pacovirină (cu HVBC – 15 persoane, cu HVCC – 18 persoane) și 34 – nu au primit pacovirină, ci doar hepatoprotectori.

Omogenitatea loturilor de studiu este prezentată în Tabelul 1.

Parametrii evaluați au avut valori comparabile, iar loturile au fost omogene. Dintre cei 33 de copii din lotul cu pacovirină, la 15 a fost diagnosticată HVBC, dintre care, la 5 a fost identificat și antiVHD, și ARN VHD, iar la 18 – HVCC (genotipul 1b – la 15 persoane, genotipul 3a – la 3 persoane). Vârsta medie a pacienților a fost de 12,5 ani, cu predominarea genului masculin (70%). Determinarea cantitativă a viremiei VHB a constatat la 7 pacienți faza de imunotoleranță, cu ADN VHB $>10^9$ - 10^{12} uI/ml, și la 8 pacienți – faza imunoactivă, cu ADN VHB $>2000 \times 10^9$ uI/ml.

At the same time, all patients from both groups had the same regimen and similar symptomatic treatment.

Statistical analysis was performed using *StatSoft Statistica*, 6.0 version rus. (StatSoft, Tulsa, Oklahoma, USA). Statistic differences were calculated using t-Student criteria. Cases with $p \leq 0.05$ were considered statistically significant.

Results

After inclusion and exclusion criteria were applied, 67 patients with CVHB and CVHC were enrolled, with ages between 3 and 18 years. CONSORT flow diagram of the included patients is presented in Figure 2.

In a random way, patients were split into 2 groups: 33 of them were treated with pacovirine (15 patients with CVHB and 18 patients with CVHC) and 34 – did not receive pacovirine, but only hepatoprotective medication.

Homogeneity of the study groups is presented in Table 1.

Evaluated parameters have comparable values, and groups were homogenous. Out of those 33 patients from the pacovirine group, 15 were diagnosed with CVHB, 5 of them having antiHVD and RNA HVD; 18 were diagnosed with CVHC (genotype 1b – in 15 patients, genotype 3a – in 3 patients). Mean age of the patients was 12.5 years, predominantly males (70%). Quantitative determination of viral load of HBV revealed immunological tolerance phase in 7 patients, with HBV DNA $>10^9$ - 10^{12} uI/ml, immuno-active phase in 8 patients, with HBV DNA $>2000 \times 10^9$ uI/ml.

Tabelul 1. Caracteristica generală a loturilor de pacienți.
Table 1. General characteristics of patient groups.

Parametrii evaluați / Evaluated parameters	Lot cu pacovirină / Pacovirine group n=33	Lot fără pacovirină / Group without pacovirine n=34	p
Repartizarea pe sexe / Gender repartition:			
▪ Feminin / Females	10 (30%)	10 (29%)	P>0,05
▪ Masculin / Males	23 (70%)	24 (71%)	P>0,05
Vârsta medie, ani* / Mean age, years*	12,5±0,5	12,6±0,5	P<0,05
HVBC, total inclusiv / HVHB, total including:			
▪ fără agent delta / without delta agent	10 (67%)	6 (60%)	P>0,05
▪ cu agent delta / with delta agent	5 (33%)	4 (40%)	P>0,05
▪ cu AgHBe+ / with AgHBe+	15 (100%)	10 (100%)	P>0,05
▪ cu AgHBe- / with AgHBe-	0	0	P>0,05
▪ ADN VHB >10 ⁹ -10 ¹² uI/ml / DNA HBV >10 ⁹ -10 ¹² uI/ml	7 (47%)	2 (20%)	P>0,05
▪ ADN VHB >2000×10 ⁹ uI/ml / DNA HBV >2000×10 ⁹ uI/ml	8 (53%)	8 (80%)	P>0,05
▪ ARN VHD >200 uI/ml / RNA HDV >200 uI/ml	5 (33%)	4 (40%)	P>0,05
Grad de fibroză determinat, inclusiv / Determined fibrosis degree, including:			
▪ F0-F1	11 (92%)	9 (90%)	P>0,05
▪ F1-F2	1 (8%)	1 (10%)	P>0,05
▪ F2-F3	0	0	P>0,05
HVCC total, inclusiv / Total CVHC, including:			
▪ genotip1b / genotype 1b	15 (83%)	23 (95%)	P>0,05
▪ genotip3a / genotype 3a	3 (17%)	1 (5%)	P>0,05
▪ ARN VHC >600000 uI/ml / RNA HCV >600000 uI/ml	10 (56%)	10 (42%)	P>0,05
▪ ARN VHC <600000 uI/ml / RNA HCV <600000 uI/ml	8 (44%)	14 (58%)	P>0,05
Grad de fibroză determinat, inclusiv / Determined fibrosis degree, including:			
▪ F0-F1	14 (92%)	18 (90%)	P>0,05
▪ F1-F2	1 (8%)	2 (10%)	P>0,05
▪ F2-F3	0	0	P>0,05

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

Note: * – mean age and standard deviation. Applied statistical tests: t-Student for continuous type data; Fisher's exact test for nominal data.

Gradul de fibroză hepatică a fost determinat la 12 pacienți, dintre care 11 au prezentat fibroză hepatică ușoară (F0-F1), iar 1 pacient a prezentat gradul F1-F2.

Printre copiii cu HVCC, din lotul cu pacovirină, a predominat genotipul 1b (83%) și 3a (17%), precum și gradul înalt de viremie VHC, cu ARN VHC >600.000 uI/ml (56%) și fibroză hepatică ușoară, F0-F1 (92%).

În lotul pacienților tratați fără pacovirină (HVBC – 10; HVCC – 24), vârsta medie a fost de 12,6 ani, cu predominarea genului masculin (71%). În 4 cazuri, HVBC a evoluat cu antiVHD sumar pozitiv și ARN VHD pozitiv >200 uI/ml. HVBC a fost prezentată în formă de AgHBe pozitivă (100%); în fază imunoactivă, cu ADN VHB >2000×10⁹ uI/ml (80%) și a fibrozei ușoare (F0-F1), la majoritatea pacienților. În acest lot, printre copiii cu HVCC a fost identificat predominant genotipul 1b (95%); viremia a fost moderată – VHC cu ARN VHC <600 000 uI/ml, iar fibroza hepatică – ușoară, F0-F1 (90%).

Până la tratament, pacienții cu HVBC din lotul cu pacovirină au prezentat semne clinice mai expresive, comparativ cu cei din lotul fără pacovirină: slăbiciuni generale (82%), durere în hipocondrul drept (79%), inapetență (55%), hepatomegalie (85%), splenomegalie (30%) (Tabelul 2).

Fibrosis degree was determined in 12 patients, 11 of them had mild fibrosis (F0-F1), and one patient had F1-F2 degree.

Among children with CVHC, treated with pacovirine, genotype 1b (83%) and 3a (17%) prevailed, as well as high levels of viral load of HCV, with HCV RNA >600.000 uI/ml (56%) and mild liver fibrosis, F0-F1 (92%).

Among patients that did not receive pacovirine (CVHB – 10 patients, CVHC – 24 patients), the mean age was 12.6 years, predominantly males (71%). Four cases, CVHB evolved with positive total antiHDV and HDV RNA >200 uI/ml. CVHB presented with 100% positive rate of AgHBe; in immuno-active phase, with HBV DNA >2000×10⁹ uI/ml (80%) and mild fibrosis (F0-F1) in most of the patients. In this group, among children with CVHC genotype 1b was predominant (95%); viral load was moderate – HCV DNA <600.000 uI/ml, and liver fibrosis was mild, F0-F1 (90%).

Before treatment, patients with CVHB from the pacovirine group presented with more expressive clinical signs, comparatively with patients from the group that did not receive pacovirine: fatigue (82%), pain in the upper right quadrant (79%), loss of appetite (55%), hepatomegaly (85%), splenomegaly (30%) (Table 2).

Tabelul 2. Caracteristica clinică comparativă a pacienților cu HVBC și HVCC în loturile tratați cu pacovirină și fără pacovirină.
Table 2. Clinical comparative characteristics of patients with CVHB and CVHC in groups with and without pacovirine.

Parametrii clinici / Clinical parameters	Lotul cu pacovirină / Pacovirine group (n=33)				P ₁	Lotul fără pacovirină / Group without pacovirine (n=34)				P ₂	P ₃
	până la tratament / before treatment		după tratament / after treatment			până la tratament / before treatment		după tratament / after treatment			
	abs.	%	abs.	%		abs.	%	abs.	%		
slăbiciuni generale/ fatigue	27	82	13	39	<0,001	16	47	14	42	>0,05	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
durere hipocondru drept / pain in upper right quadrant	26	79	14	42	<0,001	16	47	12	35	>0,05	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
inapetență / loss of appetite	18	55	0	0	<0,001	16	47	14	42	>0,05	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
icter muco-cutanat / jucocutaneous jaundice	1	3	0	0	>0,05	0	0	0	0	NA	p ₃ >0,05 p ₁ =p ₂
hepatomegalie / hepatomegaly	23	70	20	61	>0,05	34	100	34	100	>0,05	p ₃ >0,05 p ₁ =p ₂
splenomegalie / splenomegaly	10	30	2	6	>0,05	6	17	6	17	>0,05	p ₃ >0,05 p ₁ =p ₂

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

Note: p₁ – statistical significance in the pacovirine group, before and after treatment; p₂ – statistical significance in the group without pacovirine, before and after treatment; p₃ – clinical significance between groups, before and after treatment. Applied statistical tests: t-Student test for continuous type data; Fisher's exact test for nominal data.

Tabelul 3. Proporția cazurilor cu parametri biochimici cu valori peste cele de referință în loturile cu și fără pacovirină, comparativ până la și după tratament.

Table 3. Proportion of cases with biochemical parameters exceeding reference levels, in groups of patients with and without pacovirine, comparatively before and after the treatment.

Parametrii biochimici (valori de referință) / Biochemical parameters (reference values)	Lotul cu pacovirină / Pacovirine group (n=33)		P ₁	Lotul fără pacovirină / Group without pacovirine (n=34)		P ₃
	pâna la tratament / before treatment	după tratament / after treatment		n (%)	p ₂	
ALAT (0-41 mmol/l)	pâna la tratament / before treatment	18 (55%)	<0,001	pâna la tratament / before treatment	20 (59%)	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
	după tratament / after treatment	0 (0%)		după tratament / after treatment	14 (41%)	
ASAT (0-37 mmol/l)	pâna la tratament / before treatment	18 (55%)	<0,001	pâna la tratament / before treatment	20 (59%)	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
	după tratament / after treatment	0 (0%)		după tratament / after treatment	14 (41%)	
γGTP (<35 mmol/l)	pâna la tratament / before treatment	12 (36%)	<0,01	pâna la tratament / before treatment	10 (30%)	p ₃ >0,05 p ₁ <p ₂
	după tratament / after treatment	0 (0%)		după tratament / after treatment	8 (24%)	

Notă: p₁ – semnificația statistică până la și după tratament, în lotul cu pacovirină; p₂ – semnificația statistică până la și după tratament, în lotul fără pacovirină; p₃ – semnificația statistică, comparativ, între loturi. Teste statistice aplicate: Fisher exact.

Note: p₁ – statistical significance before and after the treatment, in the pacovirine group; p₂ – statistical significance before and after the treatment, in the group without pacovirine; p₃ – statistical significance, compared between groups. Applied statistical tests: Fisher's exact test.

În lotul copiilor cu HVBC, tratați cu pacovirină, în 55% din cazuri boala a fost manifestată prin citoliză (55%) și sindrom de coleastăză (36%), cu γGTP majorată (Tabelul 3). O viremie înaltă a VHB, cu ADN VHB >10⁹-10¹² uI/ml înainte de trata-

In the group of patients with CVHB treated with pacovirine, 55% of cases evolved with cytolysis and cholestasis syndrome (36%), with elevated γGTP (Table 3). High viral load of HBV DNA >10⁹-10¹² uI/ml before treatment, in the group of patients trea-

ment, în lotul cu pacovirină, a fost constatată la 7 (47%) copii; la 8 (53%) copii, ADN VHB a fost între 2000-10⁹ ui/ml, exprimând faza imunoactivă a VHB. La 5 pacienți, evoluția HVBC a fost concomitentă cu agentul delta (ARN VHD >200 ui/ml). În cazul HVCC, la 10 (56%) copii s-a constatat o viremie înaltă, cu ARN VHC >600.000 ui/ml; la 8 (44%) copii, viremia a fost considerată joasă (ARN VHC <600.000 ui/ml).

Nivelul mediu al viremiei, până la și după tratament, precum și proporția reducerii încărcăturii virale este redată în Tabelul 4.

Tabelul 4. Nivelul mediu al viremiei până la și după tratament și proporția reducerii viremiei (Δ) la copiii cu HVBC și HVCC, tratați cu sau fără pacovirină.

Table 4. Mean values of viral load before and after treatment and the proportion of viral load reduction (Δ) in children with CVHB and CVHC, treated with or without pacovirine.

Viremia medie / Mean viral load	Lotul cu pacovirină / Pacovirine group (n=24)		Lotul fără pacovirină / Group without pacovirine (n=3)		p
	ADN VHB / DNA HBV (ui/ml) (n=8)	ARN VHC / RNA HCV (ui/ml) (n=16)	ADN VHB / DNA HBV (ui/ml) (n=2)	ARN VHC / RNA HCV (ui/ml) (n=1)	
până la tratament / before treatment	95.668.238	1.943.197	7.863.000	1.347.770	p ₁ <0,05 p ₂ <0,05
după tratament / after treatment	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	NA

Notă: p₁ – semnificația statistică pentru cazurile cu VHB, între loturi; p₂ – semnificația statistică pentru cazurile cu VHC, între loturi.

Note: p₁ – statistical significance for cases with HBV, between groups; p₂ – statistical significance for cases with HCV, between groups.

La sfârșitul tratamentului cu pacovirină, la 8 (24%) pacienți cu HVBC a fost constatată reducerea ADN VHB cu 30% (p₁<0,05); la 16 (48%) pacienți cu HVCC, reducerea ARN VHC a fost cu 32% (p₂<0,05). Printre copiii cu HVBC și agent delta, tratați cu pacovirină, doar în 2 cazuri a fost constatată o diminuare, dar și aceea neesențială, a ARN VHD.

Nivelul viremiei VHB la pacienții din lotul fără pacovirină a diminuat doar cu 2%, iar a VHC – cu 4% (Tabelul 4).

Discuții

Tratamentul hepatitelor virale B, C cronice la copii rămâne o problemă actuală în plan global. Infectarea cu VHB sau VHC, începând cu vârsta copilăriei, cronicizarea infecției și persistența formelor active de boală, poate duce la forme severe de boală în următorii 10-20 de ani, uneori – la cancer hepatocelular, apărut la o vârstă tânără, aptă de muncă [2, 3].

Mecanismele etio-patogenetice de cronicizare ale infecției cu VHB sau VHC și severitatea formelor clinice evolutive de hepatită virală cronică la copii sunt direct proporționale cu virulența VHB sau VHC, dar și cu răspunsul imun al organismului la interacțiunea dintre virus și gazdă; acestea, însă, sunt invers proporționale cu vârsta contractării infecției [9, 14]. Este cunoscut, că imunitatea copilului la naștere este imperfectă, iar maturizarea sistemului imun are loc către vârsta de 6-10 ani. Copiii născuți de mame care suferă de HVBC sau HVCC în fază

ted with pacovirine, was found in 7 (47%) children; in 8 children (53%) viral load of HBV DNA ranged between 2000-10⁹ ui/ml, expressing the immuno-active phase of HBV. In 5 patients, evolution of CVHB was concomitant with delta agent (RNA HDV >200 ui/ml). Regarding CVHC, 10 children (56%) had high viral loads, with HDV RNA >600,000 ui/ml; 8 children (44%) had low viral loads (HCV RNA <600,000 ui/ml).

Mean values of viral load, before and after the treatment, as well as the proportional reduction of the viral load is shown in Table 4.

At the end of the treatment with pacovirine, in 8 patients (24%) with CVHB reduction by 30% of the viral load was attested (p₁<0.05); in 16 children (48%) with CVHC a 32% reduction in viral load was attested. Among children with CVHB and agent delta, treated with pacovirine, only 2 cases of insignificant viral load (HDV RNA) reduction was attested.

Viral load of HBV in patients that did not receive pacovirine diminished with 2%, and viral load of HCV – with 4% (Table 4).

Discussions

Treatment of chronic hepatitis of type B and C in children remains an actual problem on a global scale. Infection with HBV and HCV, beginning with young age, chronicization of the infection and persistence of active forms of the disease, can lead to severe forms of the disease in the following 10-20 years, sometimes – to hepatocellular cancer among young individuals, able to work [2, 3].

Etiopathological mechanisms of chronicization of HBV or HCV infection and the severity of evolutive clinical forms of chronic viral hepatitis in children and directly proportional with viral loads of HBV or HCV and with the immune response of the organism to the interaction between the host and the virus; thus, these are inversely proportional with the age of the infection contraction [9, 14]. It is known, that the child's immunity at birth is imperfect, and matura-

de viremie, au un risc major de a fi infectați cu VHB sau VHC în timpul travaliului sau după naștere, cronicizarea constituind 90% în cadrul infecției cu VHB [8, 10]. La copii, HVC în 70-80% din cazuri evoluează primar cronic, VHC având o capacitate înaltă de persistență în organism [10]. HVBC cu agent delta are un prognostic evolutiv și terapeutic mai sever și mai rezervat, decât cele fără agentul delta [4, 13].

Principiile tratamentului etio-patogenetic al hepatitelor virale B, C cronice la copii au unele particularități ce țin de vârstă și toxicitatea remediilor antivirale. Tratamentul cu interferon pegilat în HVBC la copii este recomandat în monoterapie pentru o perioadă de 24 de săptămâni, iar în HVCC, este combinat cu ribavirină (24 de săptămâni – în genotipul 2, 3 și 48 de săptămâni – în genotipul 1, 4), începând cu vârsta mai mare de 3 ani. Efectul antiviral al interferonului pegilat în HVCB și HVCC genotip 1 VHC la copii rămâne rezervat [6, 11]. Analogii nucleotidici, așa ca entecavirul, adefovirul dipivoxil, tenofovirul, au o accesibilitate limitată. Datele existente cu privire la tratamentul de alternativă al hepatitelor virale B și C cronice la copii sunt insuficiente și se referă la utilizarea fosfolipidelor esențiale, a acidului glicirizinic sau ursodeoxicolic, fosfoglivului, viusidului. Aceste remedii au doar efecte temporare și parțiale de ameliorare clinică și de diminuare ușoară a viremiei VHB sau VHC pentru un termen scurt, cu recăderi frecvente după terminarea curei de tratament [5, 14, 15].

Studiul dat a demonstrat că remediul fitoterapeutic autohton pacovirina, utilizat pentru prima dată la copii în tratamentul HVBC și HVCC în fază de viremie, este unul eficient, cu efecte antivirale indirecte, lente, imunomodulatoare și interferonogene. Semnele clinice ale HVBC și HVCC la copiii din lotul cu pacovirină, comparativ cu cele din lotul fără pacovirină, au fost mai expresive. 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.

Tratamentul cu pacovirină la copiii cu HVBC și HVCC a contribuit la ameliorarea semnificativă a manifestărilor clinice, cu diminuarea în 39% din cazuri, a slăbiciunilor generale, a durerilor în hipocondrul drept (42% din cazuri). Normalizarea ALAT și ASAT s-a produs în 55% din cazuri, iar ale γ GTP – în 36% din cazuri.

Monitorizarea dinamicii viremiei VHB și VHC la copiii din lotul cu pacovirină a constatat o reducere importantă a ADN VHB cu 30% și a ARN VHC cu 32%, ambele – semnificativ mai importante față de lotul fără pacovirină.

Toți pacienții incluși în studiu au suportat satisfăcător tratamentul cu pacovirină, iar fenomene adverse nu au fost constatate în niciun caz. Aceste rezultate preliminare ale utilizării pacovirinei în tratamentul HVBC și HVCC la copii, timp de 6 luni, par a fi promițătoare și necesită studii aprofundate în continuare.

Este important de menționat impactul social al efectelor terapeutice ale pacovirinei în tratamentul hepatitelor virale B, C cronice la copii. Remediul dat contribuie la reducerea viremiei VHB și VHC, la recuperarea sănătății copiilor și la reincaadrarea mamelor lor în câmpul muncii.

Costul tratamentului cu pacovirină este mult mai mic decât cel al monoterapiei cu interferon pegilat sau, cu atât mai

tion of the immune system is reached at 6-10 years of age. Children born from mothers infected with HBV or HCV, in viral phases, have major risks of being infected with HBV or HCV during labour or after birth, chronicization reaching 90% in cases of HBV [8, 10]. In children, HCV evolves primarily chronically in 70-80% of cases, HCV having a high capacity of persistence in the organism [10]. CVHB with delta agent has a more severe and poorer evolutive and therapeutic prognosis when compared to cases without agent delta [4, 13].

Etiopathogenetic treatment principles of chronic hepatitis type B and C in children have peculiarities regarding their age and the toxicity of the antiviral remedies. Treatment with pegylated interferon in CVHB in children is recommended in single therapy for a period of 24 weeks, and in cases of CVHC, treatment is combined with ribavirine (24 weeks – in cases of genotypes 2, 3 and 48 weeks – for genotype 1, 4), from the age of 3 years. The antiviral effect of pegylated interferon in CVHB and CVHC genotype 1 in children remains reserved [6, 11]. Nucleoside analogues, such as entecavir, adefovir dipivoxil, tenofovir, have limited accessibility. Existing data regarding alternative treatment of chronic hepatitis B and C in children are insufficient and assess essential phospholipids, glycyrrhizinic acid or ursodeoxycholic acid, phosphogliv, viuside. These remedies have only temporary effects and of atrial clinical improvement with modest viral load reduction of HBV and HCV for short periods of time, with frequent relapses after the end of treatment [5, 14, 15].

This study proved that the autochthonous phyto-remedy pacovirine, used for the first time in children in the treatment of CVHB and CVHC in viral phases, is an efficient medication with slow indirect antiviral, immuno-modulating and interferonogenous action. Clinical signs of CVHB and CVHC in children from the pacovirine group were more expressed comparing to children from the group without pacovirine. Paraclinical modifications in patients with CVHB and CVHC, treated with pacovirine, were determined by cytolysis (55%) and cholestasis (36%), compared to patients treated without pacovirine – 59% and 30% respectively.

Treatment with pacovirine in children with CVHB and CVHC contributed to significant improvement of clinical manifestations, with 39% reduction of fatigue, pain in the right upper quadrant (42% of cases). Normalization of ALAT and ASAT levels occurred in 55% of cases, and of γ GTP – in 36% of cases.

Monitoring of viral load of HBV and HCV dynamics in children from the pacovirine group revealed an important reduction in HBV DNA with 30% and in HCV RNA with 32%, both being significantly more important when compared with the group that did not receive pacovirine.

All patients enrolled in the study handled the treatment with pacovirine very well, with no side effects registered. These preliminary data of pacovirine usage in treatment of CVHB and CVHC in children, during 6 months, seem to be promising and need further thorough research.

It is worth to mention the social impact of the therapeutic effects in the treatment of hepatitis B and C in children. This remedy helps to reduce viral load of HBV and HCV, contribu-

mult, ale tratamentelor combinate. Costul estimativ al curei de tratament cu interferon pegilat, combinat cu ribavirină timp de 48 de săptămâni, în HVCC genotip 1, pentru un copil, este de 76.000 lei, pe când costul curei de tratament cu pacovirină timp de 6 luni a fost estimat la 7.200 lei. Pacovirina, astfel, capătă o importanță socio-economică majoră, fiind inofensivă și ușor aplicabilă în tratamentul HVBC și HVCC la copii cu diapaazonul de vârstă 3-18 ani.

Concluzii

1) Tratamentul cu pacovirină al hepatitelor virale B și C cronice la copii este o metodă de alternativă, eficientă, inofensivă, care ameliorează semnele clinice, paraclinice și reduce semnificativ nivelul viremiei VHB și VHC, comparativ cu tratamentele hepatoprotectoare tradiționale.

2) Complanța față de tratamentul cu pacovirină a fost înaltă, indiferent de vârsta copiilor la care s-a utilizat, iar efectele clinice, în special, cele indirecte antivirale, au potențial de impact farmaco-economic și socio-economic important.

3) Deoarece studiul dat este unul preliminar, descoperirea întregului potențial farmacoterapeutic al pacovirinei în tratamentul HVBC și HVCC la copii necesită studii suplimentare multilaterale, pe eșantioane largi de pacienți pediatrici.

Contribuția autorilor

Ambii autori au participat în mod egal la elaborarea articolului.

Declarația de conflict de interese

Autorii declară că nu se află în conflict de interese financiare sau non financiare pentru datele și informațiile prezentate în articol.

Mulțumiri

TR este recunoscătoare dlui Constantin Spînu, prof. univ., dr. hab. șt. med., Om Emerit și dlui Pavel Chintea, prof. univ., dr. hab. șt. med., pentru elaborarea remediei fitoterapeutice autohton „pacovirina”. Autorii își exprimă recunoștința întregii echipe a Laboratorului de Virusologie a Centrului Național de Sănătate Publică, or. Chișinău, Republica Moldova, pentru suportul oferit în realizarea acestui studiu. Lucrarea a fost elaborată în cadrul cercetării științifice „Contribuții în tratamentul hepatitelor virale și profilaxia cirozelor hepatice la copii prin utilizarea preparatului autohton pacovirina”, parte componentă a Programului de Stat „Hepatitele și cirozele, profilaxie și metode avansate de tratament” (coordonator – Constantin Spînu, prof. univ., dr. hab. șt. med., Om Emerit).

Referințe / references

1. European Association for the Study of the Liver. Recommendations on treatment of hepatitis C. *J. Hepatol.*, 2015; 63 (1):199-236.

tes to health improvement of children and allows mothers to return to work.

The cost of the treatment with pacovirine is much less than the cost of single therapy with pegylated interferon, more so than combined therapy. The estimative cost of the treatment course with pegylated interferon, combined with ribavirine, for 48 weeks, in CVHC genotype 1, for one child equals to 76,000 lei; whilst the cost of the treatment with pacovirine for 6 months has been estimated to 7,200 lei. Thus, pacovirine gains a major social and economical importance, being inoffensive and easily applicable in CVHB and CVHC treatment in children aged 3-18 years.

Conclusions

1) Treatment with pacovirine of chronic viral hepatitis B and C in children is an alternative, efficient, inoffensive method that improves clinical and paraclinical signs and significantly reduces viral load of HBV and HCV, when compared to traditional hepatoprotective treatments.

2) Compliance to pacovirine treatment was high, regardless of age it has been used, and clinical effects, especially the indirect antiviral effect, have a potential important pharmacoeconomic and socio-economic impact.

3) Because of the fact that this study is a preliminary one, discovery of the whole pharmaco-therapeutic potential of pacovirine in the treatment of CVHB and CVHC requires additional, multilateral studies on large groups of pediatric patients.

Authors' contribution

Both authors contributed equally in elaboration of the article.

Declaration of conflict of interests

Authors declare no financial or non-financial conflicts of interest for data, presented in article.

Acknowledgements

TR is thankful to Mr. Constantin Spînu, PhD, university professor; Honored Person, and to Mr. Pavel Chintea, PhD, university professor; for the elaboration of the autochthonous phyto-therapeutic remedy “pacovirine”. Authors express their gratitude to the entire team of the Virusology Laboratory from the National Center of Public Health, from Chisinau, Republic of Moldova, for the support offered during the research. This study was elaborated within the scientific research “Contributions in viral hepatitis treatment and prophylaxis of liver cirrhosis in children by using the autochthonous drug pacovirine”, part of the State Program “Hepatitis and cirrhosis, prophylaxis and advanced treatment methods” (coordinator – Constantin Spînu, university professor, PhD, Honored Person).

2. Bortolotti F, Iorio R., Nebbis G. *et al.* Interferon treatment in children with chronic hepatitis C: long-lasting remission in responders, and risk for disease progression in non-responders. *Digest. Liver Dis.*, 2005; 37: 336-341.

3. Dumbrava V-T. Hepatologie bazată pe dovezi. Ghid practic național. Chișinău, 2005; p. 334.
4. Kross M. EASL Clinical Practice Guidelines: management of hepatitis C virus infection. European Association for the Study of the Liver. *J. Hepatology*, 2014; 60: 392-420.
5. Kelly D., Haber B., Gonzalez-Peralta R., Murray K., Jonas M., Mollleston J. *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 [oral presentation]. Presented at 43rd annual meeting of the European Association for the Study of the Liver. April, 23-27. Milan, Italy, 2008.
6. McMahon B. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology*, 2009; 49: 45-55.
7. Moraru E. Hepatita cronică la copil. Iași, România, 1999; p. 511.
8. Ministerul Sănătății al Republicii Moldova, Centrul Național de Management în Sănătate. Indicatorii preliminari privind sănătatea populației și activitatea instituțiilor medico-sanitare pe anii 2013-2014. Chișinău, 2015; p. 216.
9. Paganelli M., Stephenne X., Sokal E. Chronic hepatitis B in children and adolescents. *J. Hepatology*, 2012; 57: 885-896.
10. Sokal E., Paganelli M., Wirth S., Socha P., Vajro P., Lacaille F., Kelly D., Mieli-Vergani G. Management of chronic hepatitis B in children: 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; 59: 814-829.
11. Wirth S., Ribes-Koninckx C., Calzado M., Bortolotti F. *et al.* High sustained virologic response rates in children with chronic hepatitis C receiving peginterferon alfa-2b plus ribavirin. *J. Hepatology*, 2010; 52: 501-507.
12. WHO. Hepatitis C. Fact sheet N°164, July, 2012, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en>. Accesat: septembrie, 2015.
13. 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. Санкт-Петербург. *Журнал инфектологии*, 2009; 1 (1): 30.
14. Шабалов Н. П. Хронические болезни печени. Гл. 11 в: Детские болезни. Т.1, 6-е издание, СПб Питер, 2011; стр. 874-928.
15. Учайкин В. Ф., Чердниченко Т. В., Смирнов А. В. Инфекционная гепатология. Руководство для врачей. Москва, ГЭОТАР-Медиа, 2012; стр. 640.