

HEPATITA VIRALĂ DELTA: IMUNOPATOGENIE ȘI EVOLUȚIE CLINICĂ

Diana Gudima¹ – rezident medicină internă, anul III,

Adela Țurcanu¹ – dr. șt. med., conf. univ.,

Natalia Taran² – dr. șt. med., cercet. șt.,

Ludmila Tofan¹ – dr. șt. med., conf. univ.,

Elina Berliba¹ – dr. șt. med., conf. univ.,

Eugen Tcaciuc¹ – dr. șt. med., conf. univ.,

Angela Peltec¹ – dr. șt. med., conf. univ.,

¹Departamentul Medicină Internă, Disciplina gastroenterologie,

²Laboratorul de gastroenterologie,

IP USMF „Nicolae Testemițanu”

tel.: 079615610, dianagudima3@gmail.com

Rezumat

Hepatita virală delta este considerată cea mai severă dintre hepatitele virale umane. Virusul hepatitei delta (VHD) este un virus ARN defectiv care nu se poate transmite și replica complet în lipsa AgHBs, proteina de suprafață a virusului hepatitei B (HBV). HDV a fost clasificat inițial în 3 genotipuri, însă analizele filogenetice recente sugerează existența a cel puțin 8 genotipuri majore, repartizate în diferite zone geografice și cu o evoluție clinică specifică. Mai multe studii au arătat că infecția cronică cu HDV evoluează mai sever decât infecția cronică cu HBV, cu progresia rapidă a fibrozei, risc crescut de carcinom hepatocelular și decompensare timpurie în cadrul cirozei deja instalate. Rolul principal în patogenizarea hepatitei delta îl joacă mecanismele imunologice umorale și celulare care și sunt responsabile de persistența virusului, indiferent de terapiile antivirale aplicate. Până în prezent, interferonul alfa pare să fie singura opțiune de tratament cu eficacitate antivirală împotriva HDV. Însă multiplele efecte secundare cât și rata crescută de recidivare după tratament ($\geq 50\%$) au servit drept motiv de studiu pentru noi opțiuni de tratament. Scopul acestui studiu a fost de a analiza aspectele moleculare și genetice a ciclului de replicare VHD, incluzând imunopatogeneza infecției în corelație cu evoluția clinică.

Cuvinte-cheie: hepatita cronică virală delta, imunitate umorală, patogenizarea HDV, interferon alfa

Summary. Hepatitis Delta: immunopathogenesis and clinical challenges

The Delta viral hepatitis is considered to be the most severe form of viral hepatitis in humans. Hepatitis D occurs only in individuals positive for the HBV surface antigen (HBsAg) as HDV is a defective RNA viroid that requires HBsAg for transmission. VHD was originally classified in 3 genomes, but recent phylogenetic assays suggest that there are at least 8 major genomes distributed across different geographic areas and with a specific clinical development. Patients infected with HDV develop progressive cirrhosis, early hepatic decompensation and have shorter survival rates. In the pathogenesis of delta hepatitis special role is played by cellular and humoral immunological mechanisms, responsible for the persistence of this virus, regardless of the antiviral therapy. So far, interferon alpha seems to be the only treatment option with antiviral efficacy against HDV. However, the multiple side effects as well as the increased rate of recurrence after treatment ($\geq 50\%$) served as a reason for new treatment options. This review covers molecular and genetic aspects of VHD replication cycle, including pathogenesis of infection and clinical changes in humans.

Key words: chronic delta hepatitis, hepatitis D virus pathogenicity; interferon alpha, humoral immunity

Резюме. Вирусный гепатит Дельта: иммунопатогенез и клинический курс

Вирусный гепатит дельта считается наиболее тяжелой формой вирусного гепатита у человека. Репликация дефектного РНК вируса гепатита дельта (ВГД), не может осуществляться в отсутствие ХБсАг (поверхностный антиген вируса гепатита В). Первоначально, различали три генотипа ВГД, но недавний филогенетический анализ указывает на существование по крайней мере, восемь основных генотипов. Распределение по разным географическим зонам этих генотипов не равномерно. Хроническая инфекция вызванная ВГД развивается более агрессивно, чем хроническая инфекция с ВГБ, с быстрым прогрессированием фиброза, повышенным риском гепатоцеллюлярной карциномы и декомпенсацией цирроза печени. Основную роль в патогенезе гепатита дельта играют гуморальный и клеточный иммунологические механизмы, которые обеспечивают персистенцию вируса, независимо от применения противовирусной терапии. На сегодняшний день, интерферон альфа, является, единственным эффективным вариантом лечения ВГД. но большое количество побочных эффектов и высокий уровень рецидивов после лечения ($\geq 50\%$), привели к необходимости разработки новых методов лечения. Это исследование анализирует молекулярные и генетические аспекты репликации ВГД, включая патогенез и клиническую характеристику этой инфекции.

Ключевые слова: хронический гепатит дельта, патогенез, интерферон альфа, гуморальный иммунитет

Introducere. Estimările Organizației Mondiale a Sănătății, denotă cca 2 miliarde de indivizi cu infecția VHB, dintre care 240 mln sunt purtători cronici de AgHBs și cca 5% (15-20 mln persoane) coinfectați cu virusul delta. Studiile longitudinale pe pacienții cu VHB netratați indică faptul că la 5 ani după diagnostic, incidența dezvoltării cirozei hepatice variază de la 8% la 20%, incidența decompensării hepatice ajunge la aproximativ 20% iar incidența anuală a hepatocarcinomului cauzat de VHB variază de la 2-5%. Anual se înregistrează 2700 purtători ai AgHBs iar morbiditatea prin hepatite cronice virale fiind în continuă creștere. Mai multe studii au arătat că infecția VHD cronică conduce la o afectare hepatică mai severă decât monoinfecția cronică VHB, cu o progresie accelerată către fibroză, o decompensare precoce a cirozei și un risc mai mare de carcinom hepatocelular iar tratamentul cu interferon pegilat induce un răspuns virologic susținut în aproximativ un sfert din cazuri [17,23].

Aria de răspândire cuprinde întreg globul, dar cu mari diferențe regionale. Astfel, în țările în care infecția cu VHD este rară (SUA, Europa de Nord și de Vest), morbiditatea este redusă (0,5%), fiind de regulă, înregistrată la utilizatorii de droguri, care se droghează pe cale parenterală (profilul I epidemiologic – infecția sporadică). Profilul II epidemiologic – infecția endemică cu virusul D este răspândită în tot Bazinul Mediteranean și al Mării Negre, Africa de Nord, Europa de Sud-Est, Orientul Mijlociu, America de Sud și în unele regiuni din America de Nord. Endemicitatea în aceste zone este de 8-20% (chiar 50% în Italia de Sud) dintre bolnavii cu hepatită virală B (acută sau cronică) [17]. În Republica Moldova indicele morbidității prin hepatita virală B (HVB) acută s-a redus de la 15,88 la 100 mii populație în anul 2001 până la 0,65 în anul 2016, respectiv, prin hepatita virală D (HVD) acută – de la 1,47 până la 0,07. Indicii menționați depășesc indicii țărilor europene [17,20]. În urma studiilor efectuate în Republica Moldova se observă o prevalență înaltă în zonele de sud și centru a republicii. *Țurcanu A și colab. (2015)* raportează că din 53 pacienți evaluați, cca 71% proveneau din zona menționată, fapt ce rămâne deocamdată inexplicabil. Conform indicatorilor demografici vârsta medie constituie $41,6 \pm 4,6$ ani, preponderent femeii – 54%. Majoritatea pacienților fiind din zona rurală – 66,6% [1].

Virusul hepatitei delta (VHD) are aproximativ 36 nm și conține ARN și antigenul delta. ARN-ul VHD este simplu-spiralat, cu multe baze azotate complementare, conținând aproape 1700 nucleotide. Are la exterior o proteina anvelopara derivată din antigenele pre-S și S ale virusului hepatitic B [2]. ARN-ul VHD are 6 cadre deschise de citire (open reading frames,

ORF), 3 pe spira sens și 3 pe spira anti sens. Un cadru de citire codifică antigenul hepatitei delta (AgHD), în timp ce celelalte cadre de citire nu se transcriu activ. Există două AgHD: AgHD scurt (24 kD), ce are 155 aminoacizi și AgHD lung (27 kD), care are 214 aminoacizi. O singură modificare conformațională a nucleotidelor (A-G) în secvența AgHD scurt duce la sinteza AgHD lung. AgHD scurt accelerează sinteza genomului, iar AgHD lung, inhibitor al sintezei ARN/VHD, este necesar pentru morfogeneza virionului [2,3]. Analiza filogenetică a dus la descoperirea a cel puțin a 8 genotipuri VHD. Genotipul 1 este cel mai des întâlnit genotip și este prezent în toată lumea, în special în Europa, Orientul Mijlociu, America de Nord și Africa de Nord. Genotipul 2 se întâlnește în Asia de Est, iar genotipul 3 se regăsește exclusiv în partea de nord a Americii de Sud. Genotipul 1 se asociază atât cu boala cu evoluție blândă, cât și cu cea cu evoluție severă, în timp ce genotipul 2 determină o boală mai blândă pe termen lung. Mai multe studii au arătat că infecția cronică cu VHD evoluează mai sever decât infecția cronică cu VHB, cu progresia rapidă a fibrozei, risc crescut de carcinom hepatocelular și decompensare timpurie în cadrul cirozei deja instalate. Rolul principal în patogenizarea hepatitei delta îl joacă mecanismele imunologice umorale și celulare care și sunt responsabile de persistența virusului, indiferent de terapiile antivirale aplicate. Până în prezent, interferonul alfa pare să fie singura opțiune de tratament cu eficacitate antivirală împotriva HDV. Însă multiplele efecte secundare cât și rata crescută de recidivare după tratament ($\geq 50\%$) au servit drept motiv de studiu pentru noi opțiuni de tratament.

Imunopatogeneza. Cunoștințele cu privire la patogenia infecției cu VHD sunt limitate. În hepatita delta observațiile clinice au arătat prezența unui proces mediat imun și a unor modificări care sugerează citopatogenitatea virusului [9,19]. *In vivo* replicarea VHD are loc în hepatocite, respectiv toate modificările patologice sunt exclusiv în ficat. Histologic infecția VHD se caracterizează prin necroza hepatocitelor și prezența unui infiltrat inflamator care corelează cu faza replicării virale, ceea ce denotă un mecanism mediat imun de distrugere celulară. Deși unele experimente *in vitro* au sugerat un efect citopatic direct al VHD [3,4], acest lucru este puțin probabil ca o consecință a expresiei AgHD, deoarece expresia sa la șoareci transgenici nu este asociată cu nici un semn de afectare a ficatului [4]. Un studiu internațional care a inclus 80 de pacienți cu hepatită cronică D la diferite stadii de fibroză nu a evidențiat nici o corelație între nivelele de replicare ale VHD și orice trăsătură histologică [24], deși o corelație slabă a fost între activitatea histologică și nivelurile serice ale HBsAg. Astfel,

nu este clar dacă moartea celulară observată *in vitro* se datorează nivelurilor foarte ridicate ale ARN-ului HDV în celulele infectate [7]. Pe de altă parte, datorită suprimării frecvente a replicării VHB, cu excepția pacienților la care ambii agenți virali se replică intensiv, leziunile hepatice sunt mai degrabă induse de VHD decât de VHB [18].

Răspunsul imun adaptiv specific la VHD a fost raportat în mai multe studii. Un răspuns specific al celulelor T la AgHD din sângele periferic este corelat cu scăderea activității patologiei hepatice induse de VHD [3]. Un alt studiu, ce evaluează profilul citokinelor, a arătat că interleuchinele – 2 (IL-2), interferona gama (IFN- γ), IFN proteina inductibilă – 10 și IL – 10 au fost detectabile la 53%; 35%; 65%, 6% respectiv a pacienților cu hepatita cronică delta și acest răspuns specific VHD-ului a IFN- γ mai frecvent este observat în cazul nivelului scăzut al ARN-ului VHD [2,3]. Într-un alt studiu comparativ pe un lot de 77 pacienți cu infecție virală hepatică de diferite etiologii, la pacienții cu VHD a fost găsită cea mai mare incidență a limfocitelor T citotoxice CD4+ ($p = 0,04$) față de pacienții cu VHB și VHC [2]. Destul de interesant este faptul că la pacienții care au avut eradicarea VHD-ului a fost detectate peptidele celulelor T CD8+ specifice VHD-ului care au fost găsite și la șoarecii vaccinați cu ADN VHD ce la fel a provocat expresia acestor peptide, fapt ce sugerează că un răspuns adecvat a limfocitelor T poate duce la un clearance viral [3].

Unul din puținele studii privind imunologia infecției VHD efectuat în țara noastră, sugerează că într-adevăr hepatita D este o boală mediată imun și că atât răspunsul imun specific adaptiv la VHD, cât și la VHB, joacă un rol cheie în controlul infecției și în patogeneza bolii hepatice [1]. În acest studiu la jumătate dintre pacienți (indiferent de prezența tratamentului) a fost identificată, o creștere dominantă a CD3 și CD4, ce ar sugera ideea că răspunsul imun de tip hiperstimulator nu este influențat de acțiunea terapiei antivirale [1]. Posibil, acțiunea antivirală a medicamentelor utilizate pentru tratarea pacienților cu hepatita virală cronică delta mai mult contribuie la reducerea activității infecției cu virusul B (exprimată prin absența ADN VHB). Imunitatea umorală la pacienții cu hepatită cronică delta a arătat o creștere predominantă a IgG și IgE, sugerând ideea că VHD ar stimula sinteza acestor imunoglobuline. Nu au fost identificate diferențe semnificative între nivelul IgM, IgG și IgE și liniei limfocitelor T la pacienții *naivi* și tratați cu medicamente antivirale [1].

În ciuda acestor constatări cantitatea și calitatea răspunsurilor imune adaptiv VHD specifice pare să fie insuficientă pentru a stopa activitatea virusului D.

Acest lucru a determinat unii autori să sugereze că răspunsurile imune înăscute poate juca un rol mai important decât ipotezele enunțate mai sus [2,3].

Evoluția clinică. Hepatita virală tip D este considerată cea mai gravă formă a tuturor infecțiilor cu virus hepatic. În funcție de modul de infectare, se pot distinge două cursuri diferite ale bolii. În mai mult de 90% din cazuri, coinfecția acută VHB/VHD evoluează spre vindecare, dar poate avea și o evoluție severă, cu risc de hepatită fulminantă. Vindecarea spontană a infecției la purtătorii cronici de AgHBs suprainfectați VHD se observă în puține cazuri [21]. În experimentele efectuate la cimpanzei, s-a observat că leziunile histopatologice din infecția simultană cu cele două virusuri sunt mai severe decât mono-infecția cu VHB. Au fost descrise mai multe epidemii de hepatita acută delta cu evoluție severă în regiuni diferite din întreaga lume, dar în ultimele două decenii, datorită introducerii programelor de vaccinare, hepatita acută delta apare tot mai rar în țările vestice [9].

Mai multe studii au arătat ca infecția cronică cu VHD este mai severă decât infecția cu VHB, având evoluție rapidă spre fibroză, risc crescut de carcinom hepatic și decompensare timpurie în ciroză. În sud-estul Turciei, VHD este responsabil pentru aproape toate cazurile de ciroză hepatică și carcinoma hepatocelulară, iar în Taiwan într-un studiu observațional s-a raportat o rată de supraviețuire la 15 ani de aproape 50% post infecție VHD genotipul 1. În Spania, infecția cu VHD a fost asociată cu un risc crescut de apariție a cirozei hepatice la pacienții coinfectați cu HIV; risc de 66% – în cazul coinfecției HIV/VHB/VHC/VHD și numai 6% – în cazul coinfecției VHB/VHC/HIV [9,11].

În evoluția bolii evidențiem 3 faze: *primară* – replicarea activă a VHD cu supresia virusului B; *secundară* – scăderea activității VHD cu reactivarea VHB; *terțiară* – dezvoltarea cirozei hepatice și a carcinomului hepatocelular (CHC), consecința replicării concomitente a ambelor virusuri. Conform datelor unui studiu realizat pe un lot de 53 de pacienți din Republica Moldova, s-a constatat că în funcție de faza hepatitei cronice delta, faza precoce de evoluție predomină în aproximativ 63,3 % în comparație cu a doua fază care constituie 23,3% [1].

În managementul pacienților cu maladii hepatice este foarte important să se determine riscul individual de progresie a bolii. Acest lucru este dificil, în special pentru hepatita delta, dat fiind faptul că și eficacitatea tratamentului antiviral este insuficientă. Scorul BEA, a fost primul scor clinic implementat în practica medicală pentru a prognoza evoluția nefavorabilă în hepatita delta. Scorul BEA este util pentru gestionarea hepatitei delta, pentru a decide care pacienți necesită

mai urgent tratament antiviral sau au nevoie de o monitorizare mai minuțioasă. Tratamentul ar trebui să fie în mod preferențial administrat pacienților cu risc mai mare de progresare a bolii și de complicații legate de ficat. Identificarea factorilor de risc care prezic dezvoltarea evenimentelor clinice nefavorabile se consideră foarte utilă în monitorizarea pe termen lung a pacienților cu hepatită cronică delta, în special pentru selectarea celor ce au nevoie de tratament antiviral mai urgent [25,26].

Scorul BEA (baseline-event-anticipation) este un scor clinic predictiv, care prezice dezvoltarea complicațiilor legate de afecțiunea ficatului – decompensare, carcinom hepato celular, transplant de ficat și/sau deces. Aceasta se face pe bază de anticipare a evenimentelor și include variabile asociate cu dezvoltarea complicațiilor clinice legate de patologia ficatului. Astfel, drept indici pentru calcularea scorului BEA au fost stabilite vârsta, sexul, rasa, INR-ul (International Normalized Ratio), bilirubina și trombocitele. Punctele au fost alocate în funcție de pericolul raportat, fiind definite trei grupe de risc: BEA-A – risc minor (0-2 puncte), BEA-B – risc moderat (2-4 puncte) și BEA-C – risc major (>4 puncte) [25,26]. Scorul BEA s-a dovedit a fi ușor de aplicat și are o mare precizie în a distinge pacienții cu risc minor, moderat și major de a dezvolta complicații legate de afecțiunea ficatului. Un studiu autohton a evaluat repartitia pacienților cu HDV privind scorul BEA, arătând că 53% dintre pacienți aveau BEA-A, 35% BEA-B și BEA-C – 12%.

În rezultatul performanței nesatisfăcătoare a scorurilor neinvazive de apreciere a fibrozei a apărut necesitatea de elaborare a altor scoruri cu performanțe mai importante. *Lutterkort și co-autorii* evaluează un scor nou de determinare a fibrozei pentru pacienții cu hepatită virală delta – DFS (Delta Fibrosis Score) care va putea stratifica pacienții cu fibroză severă pentru urgentarea inițierii tratamentelor specifice. Autorii sugerează că sensibilitatea scorului este de 85% cu specificitatea de 73% și valoarea predictivă pozitivă 93%, în cazul punctajului mai mult de 2. Scorul include evaluarea albuminei, gamma-glutamyl-transpeptidazei și colinesteraza. $DFS = 1(dacă\ albumina < 1,19\ LLN) + 1(dacă\ \gamma GT > 0,5\ ULN) + 1(dacă\ CHE < 1,46\ LLN) + 1(dacă\ vîrsta > 42)$. Performanțele scorului coincid cerințelor de sensibilitate, valorii predictive pozitive și nivelul de AUROC semnificativ mai bun decât la alte scoruri existente (*tab. 1*) [29].

Scorul DFS a fost validat pe poluația din Europa centrală infectată cu VHD genotipul 1. Adaptrile regionale a acestui scor sunt binevenite în special pentru zone cu endemicitate înaltă și alte genotipuri VHD. În același timp medicul trebuie să aibă în vedere că markerii incluși în scor ar putea fi influențați

și de alți factori. De exemplu colinesteraza poate fi influențată de statutul nutrițional, dar γ GTP – de abuz de alcool și interacțiunea cu droguri [27,28].

Tabelul 1

Analiza comparativă diferitor scoruri de fibroză cu scorul DFS [compararea AUROC (The Area under the Receiver Operating Characteristic) folosind testul Hanley McNeil] (adaptat Lutterkort GL și colab) [29]

	DFS (Valoarea p) ^d
APRI [30] ^a	< 001
FIB – 4 index [31] ^a	003
NAFLD scor [32] ^b	031
BARD scor [33] ^b	001
ELF scor [34] ^c	002
SHASTA index [35]	< 001
PIINP ca marker solitar [36]	002

APRI^a – Aspartate aminotransferaze/platelet ratio index; FIB^a – 4 index – Fibrosis 4; NAFLD^b score – Non Alcoholic fatty Liver Disease – dezvoltat pentru boala ficatului gras non alcoolic; BARD^b score – rata ALT/AST, BMI, prezența diabetului; ELF – European Liver fibrosis; SHASTA index – scor ce include acidul hialuronic, albumina și AST; PIINP – Procolagen III N – peptide; EMC – extracelular matrix marker^c; DFS^d – Delta Fibrosis Score – scorul de fibroză pentru hepatita delta.

Actualele terapii antivirale a infecției VHB rămân limitate la interferoni (PegIFN-a) și la terapia cu unul din cei cinci analogi nucleotidici aprobați (NUC). Dacă supresia virală poate fi obținută la majoritatea pacienților cu o rezistență crescută la NUC (entecavir, tenofovir) atunci scăderea nivelului de AgHBs prin PegIFN-a și/sau NUC s-a evidențiat doar la 10% din pacienți pe parcursul a 5 ani de monitorizare [5,6]. Încercările de a îmbunătăți răspunsul terapeutic prin administrarea a două NUC-uri diferite și a PegIFN-a nu a înregistrat o creștere funcțională. Din acest motiv dar și din necesitatea administrării pe o durată mai lungă a NUC-urilor a reapărut un interes de studiere și înțelegere a etapelor de replicare virală precum și interacțiunile specifice dintre celula gazdă și virus în scopul de a define noi obiective și a descoperi noi preparate antivirale. Acestea ar avea drept mecanism inhibarea directă a replicării și transcripției virale. Refacerea răspunsului imun este o abordare complementară. Restaurarea imunității înnăscute împotriva HBV ar putea fi atins cu agonistii TLR (toll-like receptor) sau cu ajutorul citokinelor antivirale specifice. Adăugarea unuia sau a mai multor medicamente noi la terapiile curente ar trebui să ofere perspectiva unui răspuns excelent la tratament și o rată crescută de vindecare. Acest lucru ar trebui să conducă la o rezistență scăzută la antivirale precum și la o scădere semnificativă a complicațiilor hepatice, CHC și a cirozei [5].

Concluzii

Hepatita virală delta rămâne o problemă majoră de sănătate atât în Republica Moldova cât și în general pe glob, cu opțiuni limitate de tratament. Datele publicate pînă în prezent sugerează că VHD este o patologie determinată imun, iar răspunsul imun specific joacă un rol cheie în controlul infecției și în patogenia bolii. În acest context sunt necesare studii mai detaliate care ar analiza mai profund răspunsul imun celular și umoral adaptiv și înăscut la VHD în vederea elaborării noilor opțiuni de tratament al infecției virale tip delta.

Bibliografie

1. A.Turcanu, L.Andriesh, I.Gherman, I.Rotari, D.Barba. „Clinical and immunological aspects of patients with chronic viral delta hepatitis”. International Journal on Immunorehabilitation Vol. 17 No. 2/2015. ISSN 1562-3629.
2. Aslan N, Yurdaydin C, Wiegand J, Greten T, Ciner A, Meyer MF, et al. Cytotoxic CD4 T cells in viral hepatitis. *J Viral Hepat* 2006;13:505–514.
3. Camille Sureau, Francesco Negro. “The hepatitis delta virus: Replication and pathogenesis.” *Journal of Hepatology* 2016 vol. 64 j S102–S116.
4. Christoph Seeger, William S. Mason. “HBV replication, pathobiology and therapy: Unanswered questions”. *Journal of Hepatology* 2016 vol. 64 j S1–S3.
5. Dagmar Kiesslich, Myuki Alfaia Crispim, Carlos Santos, Fernando de Lima Ferreira, Nelson Abraham Fraiji, Shirley Vasconcelos Komminakis and Ricardo Sobhie Diaz. ”Influence of Hepatitis B Virus (HBV) Genotype on the Clinical Course of Disease in Patients Coinfected with HBV and Hepatitis Delta Virus”. *The Journal of Infectious Diseases* 2009; 199:1608–11.
6. David Durantel, Fabien Zoulim “New antiviral targets for innovative treatment concepts for hepatitis B virus and hepatitis delta virus” *Journal of Hepatology* 2016 vol. 64 j S117–S131.
7. Gowans EJ, Baroudy BM, Negro F, Ponzetto A, Purcell RH, Gerin JL. Evidence for replication of hepatitis delta virus RNA in hepatocyte nuclei after in vivo infection. *Virology* 1988;167:274–278.
8. Hsi-Hsun Lin, Susan Shin-Jung Lee, Ming-Lung Yu, Ting-Tsung Chang, Chien-Wei Su, Bor-Shen Hu, Yaw-Sen Chen, Chun-Kai Huang, Chung-Hsu Lai, Jiun-Nong Lin, and Jaw-Ching Wu. “Changing Hepatitis D Virus Epidemiology in a Hepatitis B Virus Endemic Area With a National Vaccination Program”. *HEPATOLOGY*, Vol. 61, No. 6, 2015.
9. Mauss, Berg, Rockstroh, Sarrazin, Wedemeyer “HEPATOLOGY” 8th Edition 2017. <http://www.hepatologytextbook.com/download/hepatology2017.pdf>
10. Huang YH, Tao MH, Hu CP, Syu WJ, Wu JC. Identification of novel HLA A*0201-restricted CD8+ T-cell epitopes on hepatitis delta virus. *J Gen Virol* 2004;85:3089–3098.
11. Jan Grabowski, Heiner Wedemeyer. “Hepatitis Delta: Immunopathogenesis and Clinical Challenges”. *Immunology and Liver Disease Dig Dis* 2010;28:133–138 DOI: 10.1159/000282076
12. Katja Gierschl and Maura Dandri. “Hepatitis B and Delta Virus: Advances on Studies about Interactions between the Two Viruses and the Infected Hepatocyte” *Journal of Clinical and Translational Hepatology* 2015 vol. 3, 220–229.
13. Letiția ȚUGUI, Speranța IACOB, Liana GHEORGHE, Carmen PREDĂ, Roxana VADAN, Iulia SIMIONOV, Adriana ANDREI, Larisa FULGER, Mircea DICULESCU, Dumitru MATEI. “Influence of hepatitis delta virus infection on natural history of compensated viral B cirrhosis” *PRACTICA MEDICALĂ – VOL. IX, NR. 3(35), AN 2014.*
14. Liana Gheorghe, Irma Eva Csiki, Speranta Iacob, Cristian Gheorghe, Anca Trifan, Mircea Grigorescu, Adriana Motoc, Andra Suceveanu, Manuela Curescu, Florin Caruntu, Ioan Sporea, Ciprian Brisc, Ion Rogoveanu, Razvan Cerban, Letitia Tugui, Andrea Alexandrescu. “Hepatitis Delta Virus Infection in Romania: Prevalence and Risk Factors.” *J Gastrointest Liver Dis*, December 2015 Vol. 24 No 4: 413-421.
15. Mario Rizzetto Hepatitis D Virus: Introduction and Epidemiology “Cold Spring Harb Perspect Med 2015;5:a021576.
16. Patrizia Farci, M.D. Grazia Anna Niro, M.D. “Clinical Features of Hepatitis D.” *Seminars in Liver Disease* Vol. 32 No. 3/2012.
17. Protocol clinic national. Hepatita cronică și Ciroza hepatică de etiologie virală B și D la adult. Chișinău 2016.
18. Raimondo G, Brunetto MR, Pontisso P, Smedile A, Maina AM, Saitta C, et al. Longitudinal evaluation reveals a complex spectrum of virological profiles in hepatitis B virus/hepatitis C virus-coinfected patients. *Hepatology* 2006;43:100–107.
19. Shiva Ghamari, Seyed Moayed Alavian, Mario Rizzetto, Antonella Olivero, Antonina Smedile, Abulfazl Khedive, Seyed Ehsan Alavian, Mohammad Reza Zolfaghari, Seyed Mohammad Jazayeri. “Prevalence of Hepatitis Delta Virus (HDV) Infection in Chronic Hepatitis B Patients with Unusual Clinical Pictures”. *Hepatitis Monthly*. 2013 August; 13(8): e6731. DOI: 10.5812/hepatmon.6731.
20. Supravegherea de stat a sănătății publice în Republica Moldova. Raport National 2016.
21. Wedemeyer, H. & Manns, M. P. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 7, 31–40 (2010); doi:10.1038/nrgastro.2009.205.
22. Wenhui Li, Stephan Urban. “Entry of hepatitis B and hepatitis D virus into hepatocytes: Basic insights and clinical implications.” *Journal of Hepatology* 2016 vol. 64 j S32–S40.
23. WHO “Guidelines for the prevention, care and treatment of person with chronic hepatitis B infection.” 1-166, 2015.
24. Zachou K, Yurdaydin C, Drebber U, Dalekos GN, Erhardt A, Cakaloglu Y, et al. Quantitative HBsAg and HDV-RNA levels in chronic delta hepatitis. *Liver Int* 2010;30:430–437.
25. Calle B. Serrano, Großhennig A. et al. Development and evaluation of a baseline-event-anticipation score for hepatitis delta, *Journal of Viral Hepatitis*, 2014, 21, e154–e163.

26. Liudmila Tofan-Scutaru, Vlada-Tatiana Dumbrava, Adela Turcanu, Angela Peltec, Elina Berliba, Diana Rotaru-Cojocari, "Studierea scorului BEA și corelării acestuia cu indicii sindroamelor biologice hepatice la pacienții cu hepatită cronică delta". Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale Numărul 2(51) / 2016 / ISSN 1857-0011.
27. Sugihara K., Yamanaka – Okumura H., Teramoto A., et al. Recovery of nutritional metabolism after liver transplantation. *Nutrition*. 2015;31:105 – 110.
28. Whitfield JB., Gamma glutamyl transferase. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2001;38:263 – 355.
29. Lutterkort, G. L., Wranke, A., Yurdaydin, C., Budde, E., Westphal, M., Lichtinghagen, R., Stift, J., Bremer, B., Hardtke, S., Keskin, O., Idilman, R., Koch, A., Manns, M. P., Dienes, H. P., Wedemeyer, H. and Heidrich, B. (2017), Non-invasive fibrosis score for hepatitis delta. *Liver Int*, 37: 196–204. doi:10.1111/liv.13205.
30. Wai CT, Greenson JK, Fontana RJ, et al. A simple noninvasive index can predict both significant fibrosis and cirrhosis in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;38:518–526.
31. Sterling RK, Lissen E, Clumeck N, et al. Development of a simple noninvasive index to predict significant fibrosis in patients with HIV/HCV coinfection. *Hepatology*. 2006;43:1317–1325.
32. Angulo P, Hui JM, Marchesini G, et al. The NAFLD fibrosis score: a noninvasive system that identifies liver fibrosis in patients with NAFLD. *Hepatology*. 2007;45:846–854.
33. Harrison SA, Oliver D, Arnold HL, Gogia S, Neuschwander-Tetri BA. Development and validation of a simple NAFLD clinical scoring system for identifying patients without advanced disease. *Gut* 2008;57:1441–1447.
34. Lichtinghagen R, Pietsch D, Bantel H, Manns MP, Brand K, Bahr MJ. The Enhanced Liver Fibrosis (ELF) score: normal values, influence factors and proposed cut-off values. *J Hepatol*. 2013;59:236–242.
35. Kelleher TB, Mehta SH, Bhaskar R, et al. Prediction of hepatic fibrosis in HIV/HCV co-infected patients using serum fibrosis markers: the SHASTA index. *J Hepatol*. 2005;43:78–84.
36. Gabrielli GB, Capra F, Casaril M, et al. Serum laminin and type III procollagen in chronic hepatitis C. Diagnostic value in the assessment of disease activity and fibrosis. *Clin Chim Acta*. 1997;265:21– 31.