

На правах рукописи

**УШАКОВА
РИМА АСХАТОВНА**

**ГЕПАТИТЫ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА, РОЖДЕННЫХ
В ГРУППЕ РИСКА ПЕРИНАТАЛЬНОГО ИНФИЦИРОВАНИЯ.
ОПТИМИЗАЦИЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИСХОДОВ**

14.01.08 – педиатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Екатеринбург - 2016

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты

доктор медицинских наук, профессор **Ковтун Ольга Петровна**
доктор медицинских наук, профессор **Бейкин Яков Борисович**

Официальные оппоненты

Потапов Александр Сергеевич - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное автономное учреждение «Научный центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий гастроэнтерологическим отделением с гепатологической группой

Горячева Лариса Георгиевна - доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт детских инфекций Федерального медико-биологического агентства», руководитель отдела вирусных гепатитов и заболеваний печени у детей

Котович Марина Михайловна - доктор медицинских наук, профессор, Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры педиатрии и неонатологии

Ведущая организация

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится « ___ » _____ 2016 г. в « ___ » часов на заседании совета Д 208.102.02 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора медицинских наук, созданного на базе Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3.

С диссертацией и авторефератом можно ознакомиться в библиотеке им. В.Н. Климова ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России по адресу: 620028, г. Екатеринбург, ул. Ключевская, д. 17 и на сайте университета [www:usma.ru](http://www.usma.ru), а также на сайте ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации www.vak.ed.gov.ru
Автореферат разослан « ___ » _____ 2016 г.

Ученый секретарь
Диссертационного совета
д.м.н., профессор



**Гришина
Ирина Федоровна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

За последние десятилетия достигнуты значительные успехи в изучении этиологии, клинико-лабораторной оценке тяжести поражений гепатобилиарной системы (ГБС) и формировании исходов у детей первого года жизни (Л.Г. Горячева, 2006; О.Н. Ершова, 2006; О.К. Кирилочев, 2008; Ю.Н. Иванова, 2010; Ю.Г. Мухина и др., 2010; Н.А. Ефремова и др., 2011; А.В. Дегтярева и др., 2012; Г.Ф. Леонова, 2014; Н.Г. Ускова, 2014; D. Dhumeaux, 2005; Y. Shibata et al., 2005; J.M. Cisneros-Herreros et al., 2006; T.B. Ozkan et al., 2007; F. Mahjoub et al., 2008; M.-H.Chang, 2008; S.Rauschenfels et al., 2009). Вероятность возникновения клинической ситуации становится высокой в том случае, если у новорождённого ребёнка желтуха длится более трёх недель и протекает по сценарию неонатального холестаза либо неонатального гепатита (Е.С. Кешишян, 2010; А.В. Дегтярева и др., 2013; D. Goedhals et al., 2008; D.T. Robinson et al., 2008; U. Poddar et al., 2009). Поражение печени возникает как при внутриутробном, так и постнатальном инфицировании (Л.Б. Кистенёва и др., 2012; А.Е. Лаврова и др., 2012; В.А.Цинзерлинг, 2014; M. Torbenson et al., 2010). Внедрение в медицинскую практику современных и общедоступных серологических, молекулярно-биологических методов обследования позволяет расширить горизонты этиологической расшифровки гепатитов у детей (Н.Е. Сенягина и др., 2009; Н.Н. Володин и др., 2010; Т.В. Половцева и др., 2012; Е.Е. Орехова, 2013; D.S. Bowden et al., 2008; M. Kaneko et al., 2009; T. Goegebuer et al., 2009; K. Lagrou et al., 2009; L. Szenborn, 2010; G. Tosone et al., 2014). Известен широкий спектр возбудителей, формирующих патологию ГБС у детей первого года, а наряду с вирусами гепатитов В, С, D, G, TTV историческую нишу занимают представители семейства вирусов герпеса, микоплазма, хламидиоза, парвовирус В19 и пр. (М.А. Никольский, 2008; С.А. Хмилевская и др., 2010; В.Ф. Учайкин и др., 2012; Т.И. Долгих и др., 2012; L. Marjoleine et al., 2008; J.F. Gallegos-Orozco et al., 2010; G.B. Soomro et al., 2011; L. Benova et al., 2014; S.L. Yang et al., 2014; Н. Komatsu et al., 2015).

В научном сообществе по-прежнему остаются спорными вопросы медико-статистического учета внутриутробных инфекций, обсуждаются закономерности и последствия перинатального инфицирования человека, междисциплинарные аспекты подготовки педиатров по данной проблеме (Ю.В. Лобзин и др., 2009; Л.Н. Мазанкова и др., 2012; Н.П. Шабалов, 2012; И.Г. Техова и др., 2014). Возможность реализации анте-, интра- либо постнатального пути инфицирования, когда в результате перинатального контакта мать-носитель того или иного инфекта становится источником заражения для своего плода, новорождённого ребёнка или младенца в первый год его жизни, подтверждает актуальность научной дискуссии и требует поиска новых решений проблемы (О.В. Островская, 2009; Л.Б. Кистенева, 2010; В.В. Васильев и др., 2011; Т.А. Ковалева, 2013; Ю.В. Лобзин и др., 2014; Н.-Н. Tan et

al., 2008; A.A.Asratian et al., 2009; M.M. Mussi-Pinhata et al., 2009; E. Anzivino et al., 2009; V. Kouri et al., 2010; T.B. Hyde et al., 2010; M. Hamele et al., 2010; Y. Yinon et al., 2010; S. Kurath et al., 2010; M. Arshad et al., 2011; W. Vaudry et al., 2014). Клиническая практика убедительно демонстрирует факты, когда возбудители TORCH-инфекций вызывают заболевания не только у иммунокомпроментированных людей (A. Ornoy et al., 2006; Y. Zalel et al., 2008; S. Kanik-Yukseket al., 2014). На протяжении 1990-2006 гг. в США было зарегистрировано 777 случаев летального исхода у иммунокомпетентных пациентов, обусловленных врождённой цитомегаловирусной инфекцией (ЦМВИ) (B.N. Bristow et al., 2011). По мнению авторов, это привело бы к 56355 годам потерянных лет потенциальной жизни. Из общего количества смертей 557 (71,7%) случаев произошли у детей первого года. Применение профилактических технологий, в частности, превентивная терапия ВИЧ-инфекции, токсоплазмоза, гепатита В или сифилиса у беременной женщины, пассивно-активная иммунизация новорождённого ребёнка против гепатита В помогают избежать инфицирования младенцев (Н.Д. Ющук и др., 2010; В.В. Романенко, 2012; N.P. Nelson et al., 2014; H. Zhang et al., 2014).

Течение и исход инфекционного процесса определяются сложным комплексом взаимодействия патогена(-ов) с макроорганизмом, а механизм хронизации обусловлен гетерогенными свойствами возбудителя, путями инфицирования и связан с иммунной системой хозяина, от адекватности функционирования которой зависит исход заболевания (М.А. Толстопятова и др., 2009; Л.В. Кравченко и др., 2012; Ю.В. Лобзин и др., 2012; М.А. Сулова, 2012; А.С. Федяева, 2014; P. Shivakumar et al., 2007; Z.Q. Yao et al., 2008; M. Nakamura et al., 2008; K.S. Korsholm et al., 2009; P.T. Wille et al., 2010; P. Eligio et al., 2010; A.G. Miethke et al., 2010; M.G. Revello et al., 2010; B. Wang et al., 2011; M. Marschall et al., 2011). Доля инфекционных факторов, принимающих участие в формировании гепатитов у детей, составляет от 20,0% до 45,1% (B. Karim et al., 2005; С.Б. Чуелов, 2008). Однако у детей первого года жизни представлены немногочисленные исследования по оценке результатов морфометрии печени при хронических гепатитах В (ХГВ) и С (ХГС), герпесвирусных инфекциях и микоплазмозе (В.А. Цинзерлинг и др., 2002; Л.Ю. Барычева, 2004; Ю.Б. Пучков, 2005; С.Б. Чуелов, 2009).

Биопсия печени у детей проводится с большой степенью надёжности, критерий доказательности «А» (В.А. Цинзерлинг и др., 2012; Н.А. Карнаухова, 2013; M. Torbenson et al., 2010; E. Talachian et al., 2014). Материалы гепатобиопсии используются для изучения апоптоза, проведения электронной микроскопии и иммуногистохимических исследований (ИГХ) (А.А. Шевченко и др., 2010; К.Л. Райхельсон и др., 2013; Y.H. Huang et al., 2007; S. Serafinska et al., 2009; P. Balamourougane et al., 2009; M.A. Bellomo-Brandao et al., 2009; P. Roy et al., 2010; R. Yaghoobi et al., 2010; E.M. Ghoneim et al., 2011; S. Sharma et al., 2011). Достижения в изучении морфологии печени, уточнение функции перисинусоидальных клеток Ито помогают пониманию сущности процесса фиброгенеза и его клеточных основ (Е.Б. Романова, 2008; Ч.С. Павлов, 2009; С.П. Лукашик и др., 2010; A. Douglass et al., 2008; K. Otogawa et al., 2009).

Фиброгенез в печени определяется соотношением про- и антифиброгенных факторов, рассматривается как динамический процесс с включением каскада событий: повреждение гепатоцитов, эндотелия синусоидов и холангиоцитов, часто с компонентами оксидативного стресса, мобилизация иммунного ответа, выделение медиаторов межклеточного взаимодействия, активация купферовских клеток и клеток Ито (М.В. Северов, 2006; Г.И. Сторожаков и др., 2009; Г.М. Элбакидзе и др., 2013; К. Suzumura et al., 2008; Н.-У. Park et al., 2009; J.K. Lee et al., 2009; J. Xu et al., 2009). В исследованиях показано участие тромбоцитарного серотонина в иммунопатологической реакции, которую вызывают вирусиндуцированные Т-клетки (В.Т. Ивашкин, 2009). Доказано, что инфицирование гепатотропными вирусами способствует притоку тромбоцитов в синусоиды, а степень их активации коррелирует со скоростью снижения микроциркуляции в печени, степенью повреждения гепатоцитов и уровнем вирусной нагрузки.

Современный этап развития клинической гепатологии характеризуется разработкой неинвазивных методов диагностики фиброза печени. К методам визуализации относят несколько видов инструментального обследования: УЗИ-диагностика, доплеровское исследование, гепатобилиарная сцинтиграфия, эластография печени (В.А. Исаков, 2009; Л.Г. Горячева и др., 2009; Sr. Venigalla et al., 2005; Z.-X. Li et al., 2006; Т.М. Humphrey et al., 2007; R. Sadeghi et al., 2009; P. Govender et al., 2013). Диагностическая ценность метода FibroTest сопоставима с данными морфометрии при фиброзе F2-F3 в 85,2% случаев, при F3-F4 – 95,2% (Ч.С. Павлов, 2008; А. Loaeza-del-Castillo et al., 2008). Потенциально интересным является исследование сывороточных маркеров фиброза с целью оценки степени фиброгенеза: гиалуроновой кислоты, коллагена IV типа, ламинина, трансформирующего фактора роста и пр. (Ч.С. Павлов, 2009; В.М. Мицура, 2011; Н. Parsian et al., 2010). Показано, что содержание гиалуроновой кислоты и коллагена IV в сыворотке крови у детей достоверно увеличивается по мере нарастания фиброза и достигает максимума при формировании цирроза печени (В.Ф. Учайкин и др., 2008; А.Н. Сурков и др., 2009; С.В. Романова и др., 2012; Z.-X. Li et al., 2006).

Продолжается поиск новых лекарственных форм и протоколов лечения ХГС, ХГВ, герпесвирусных гепатитов, обладающих высокой противовирусной и клинической эффективностью при минимальном токсическом действии препаратов, у детей (О.Б. Ковалёв, 2005; Т.В. Строкова, 2006; О.В. Погодина, 2007; В.Ф. Учайкин и др., 2008; В.В. Иванова и др., 2008; А.С. Потапов и др., 2009; Н.Г. Соболева и др., 2009; Р.В. Вартамян, 2010; Г.В. Волынец и др., 2011; О.Г. Желудкова, 2011; Т.Д. Синёва и др., 2011; В.Ф. Баликин и др., 2012; А.В. Смирнов и др., 2012; Г.П. Мартынова и др., 2013; М.-Н. Chang, 2008; G.K. Lau, 2008; Н. Tezer et al., 2008; J. Blumer et al., 2010; J. Piret, 2011; V.C. Emery et al., 2012; V.W. Wong et al., 2012). Всё большее беспокойство вызывает устойчивость вирусов герпеса, гепатита В и С к проведению противовирусной терапии (J.-H. Kao, 2007; Н.-W. Hann et al., 2008; S. Shakado et al., 2008; Sh. Alam et al., 2008; L. Strasfeld et al., 2010). Педиатры используют препараты урсодезоксихолевой кислоты (УДХК) с целью устранения холестаза,

стимуляции сохранившихся транспортных путей и рециркуляции желчных кислот (Н.В. Матанина и др., 2005; А.В. Дегтярева, 2008; W.F. Balistreri, 2007; М.А. Котв, 2009, 2012). В некоторых критических ситуациях рассматривается вопрос о проведении трансплантации печени у детей (А.В. Филин, 2008; А. Liberek et al., 2006; J. Leonhardt et al., 2009).

Вместе с тем, в практической деятельности педиатра назрела необходимость создания прогностического алгоритма дебюта гепатитов у детей, имеющих перинатальный контакт с матерями-носителями TORCH-инфекций, как инструмент управления качеством оказания медицинской помощи. Перспективным направлением научного поиска является создание патогенетической модели влияния разных типов возбудителей на формирование структурных изменений в печени и степень активации белков апоптоза гепатоцитов. Малоизученными остаются вопросы идентификации антигенов возбудителей TORCH-инфекций и белков апоптоза при ИГХ исследовании материалов пункционной биопсии печени у детей грудного возраста. Принципиальной позицией в педиатрической практике является своевременная диагностика начальной стадии фиброза печени, поскольку важно стартовать адекватной терапией на ранних этапах болезни с целью предотвращения дальнейшего его прогрессирования. В связи с этим продолжается поиск неинвазивных тестов, информативных и доступных для диагностики тяжести структурных повреждений печени у детей с трансформацией заболевания в цирроз печени. Оптимизация протоколов лечения гепатитов, разработка современной концепции формирования иммунопосредованного ответа при лечении герпесвирусных гепатитов у детей первого года являются перспективным направлением педиатрии. Всё вышеизложенное послужило основанием для выполнения настоящего исследования.

Цель исследования

Определить прогностические анамнестические, клиничко-лабораторные и морфологические критерии формирования гепатитов и их исходов у детей первого года, инфицированных при перинатальном контакте, разработать патогенетические модели и оптимизировать протоколы лечения.

Задачи исследования

1. Провести сравнительный анализ данных акушерского анамнеза и клиничко-лабораторного обследования детей первого года, страдающих врождённым гепатитом В (ВГВ) и С (ВГС), гепатитами при герпесвирусных инфекциях и микоплазмозе с показателями детей, не реализовавших перинатальный контакт с TORCH-инфекциями. Определить совокупность информативных признаков для прогнозирования риска формирования гепатитов при каждой нозологии.

2. Установить особенности течения и прогностическую информативность индекса APRI у детей первого года при гепатитах EBV-этиологии и врождённом гепатите С, ассоциированном с герпесвирусными инфекциями.

3. Провести сравнительный анализ клинико-морфологических признаков, данных гистологии, морфометрии и иммуногистохимического исследования печени, электронной микроскопии материалов гепатобиопсии детей грудного возраста. Установить прогностическую информативность клинико-морфологических маркёров при вирусных и герпесвирусных гепатитах. Исследовать экспрессию белков апоптоза p53 и bcl-2 при разных нозологиях. Выявить патогенетические закономерности.

4. Установить клинико-морфологические особенности течения гепатитов с формированием цирроза печени, определить прогностические критерии исхода гепатитов в цирроз печени и информативность индекса APRI.

5. Обосновать необходимость проведения противовирусной терапии ВГС и ВГВ в дебюте заболевания, провести рандомизированные контролируемые исследования (РКИ) протоколов лечения гепатита С у детей.

6. Разработать протокол лечения герпесвирусных гепатитов (ГГ) у детей первого года на амбулаторном этапе, провести РКИ и обосновать необходимость назначения ранней противовирусной терапии (ПВТ). Показать пути реализации иммунопосредованного ответа при лечении герпесвирусных гепатитов.

7. Определить совокупность информативных признаков для прогнозирования риска формирования гепатитов при микоплазмозе. Разработать и внедрить в практику педиатров протокол лечения.

Научная новизна

Установлена совокупность клинико-лабораторных признаков и факторов отягощенного акушерского анамнеза (ОАА), позволяющая с высокой степенью вероятности отнести ребёнка с перинатальным контактом в группу здоровых детей либо больных гепатитами ($p=0,0001$), разработан диагностический алгоритм.

Выявлена особенность течения гепатитов при врождённой Эпштейн-Барр вирусной инфекции (ЭБВИ): ранний дебют болезни, ахолия, высокий уровень билирубина и трансаминаз по сравнению с другими герпесвирусными гепатитами. Прогностическую значимость имеет высокий показатель индекса APRI, повышен риск трансформации гепатитов в цирроз печени.

Установлено, что при микст-гепатитах ВГС и ГГ диагностируется высокая активность трансаминаз как в дебюте заболевания, так и в процессе проведения противовирусной терапии в сравнении с моно-гепатитом HCV-этиологии. В период активного течения микст-гепатитов регистрируют лейкоцитоз и нейтрофиллёз как косвенные маркёры проявления холангита при герпесвирусных инфекциях.

Показано, что при герпесвирусных гепатитах у детей первого года жизни отмечаются тяжелые структурные нарушения ГБС: высокая степень некробиоза гепатоцитов, холангит, перидуктальный склероз, дуктуллопения, внутри- и внепечёночная обструкция, холестаза, выраженная либо высокая степень экспрессии белков индукции p53 и ингибирования bcl2 апоптоза гепатоцитов. Методом ИГХ-анализа преимущественно определяются антигены CMV pp65 в

цитоплазме и p52 в ядрах гепатоцитов. У детей грудного возраста появляется высокая вероятность трансформации герпесвирусных гепатитов в цирроз печени. При врождённых вирусных гепатитах В или С диагностируется слабовыраженная степень некробиоза гепатоцитов, отмечаются минимальные нарушения билиарной системы, фиброзогенный потенциал печени индуцирован слабо, определяется низкий либо умеренный уровень активации белков апоптоза.

Впервые установлено, что у детей грудного возраста показатель индекса APRI более 2,0 единиц позволяет прогнозировать формирование тяжелого фиброза либо цирроза печени, при значениях менее 1,5 единиц подозрения о выраженном фиброзе не правомочны.

Впервые в РКИ апробирован протокол лечения ВГС, начиная с возраста 8,0 (6,0-9,0) мес., использован комплекс препаратов Орвирем[®], Виферон[®] и Урсофальк[®] (суспензия) продолжительностью 12-14 месяцев. Показано, что пациенты первого года позитивно отвечают на терапию: стойкий вирусологический ответ (СВО) наблюдается в 75,0% случаев, стойкий биохимический ответ (СБО) – 87,5%, рецидив – 12,5%. При базис-терапии репликация HCV не прекращается у 100,0% больных, СВО регистрируется у 10,0% детей, рецидив гепатита происходит в 83,3% случаев.

Показано, что при раннем старте и длительной терапии герпесвирусных гепатитов создаются оптимальные условия для подавления репликации вирусов герпеса, устраняются проявления воспаления и холестаза. Объективно у 97,8% больных отмечается достижение клинико-лабораторной ремиссии, рецидивирующее течение наблюдается в 15,1% случаев. На фоне базис-терапии ГГ регистрируется низкая частота достижения СВО 31,8% и СБО 21,7%, рецидив наблюдается в 75,0% случаев.

Впервые установлено, что у детей грудного возраста под влиянием комплексной противовирусной терапии ГГ происходит снижение уровня CD4+, CD8+ и CD3-CD16+CD56+ лимфоцитов, увеличение продукции IL2, IL10, IgA, повышение CD19+клеток, ЦИК, уменьшение концентрации IL1 β , TGF- β ₁. Определяется зависимость нормализации размеров печени, уровня щелочной фосфатазы, получения позитивного биохимического ответа и подавления репликации вирусов с динамикой повышения IL2, снижения продукции гиалуроновой кислоты, уменьшения числа моноцитов и их функциональной активности. На основании проведённых исследований предложена концепция иммунопосредованного ответа.

Практическая значимость

Результаты когортных клинических исследований положены в основу разработки компьютерных программ с целью модернизации диагностического этапа определения принадлежности пациентов с перинатальным контактом по TORCH-инфекциям в группу здоровых детей либо больных гепатитами. В процессе научного поиска, разработки практических навыков обслуживания детей с гепатитами в амбулаторно-поликлинических условиях и тактики взаимодействия с родителями, опекунами, участковыми педиатрами, составлен

алгоритм диагностики затяжных форм желтухи и гепатитов с целью исключения наследственных заболеваний, оптимизированы протоколы лечения ВГС, ВГВ, герпесвирусных гепатитов, редких проявлений гепатитов при микоплазмозе либо уреаплазмозе, микст-гепатитов. При достижении клинико-лабораторной ремиссии, используется тактика индивидуальной иммунизации детей, перенесших гепатит.

Большую диагностическую ценность, простоту выполнения исследования приобретает обоснование значимости определения индекса APRI при невозможности выполнения инвазивной процедуры или в случае отказа родителей от проведения диагностической пункционной биопсии печени. Индекс APRI может использоваться для прогнозирования тяжести структурных повреждений печени, риска трансформации гепатитов в цирроз печени, мониторингования результатов лечения.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Совокупность клинико-лабораторных данных и факторов отягощенного акушерского анамнеза у детей первого года, имеющих перинатальный контакт с матерями, носителями вирусов гепатита В, С и герпеса, микоплазмоза или уреаплазмоза, позволяет определить их принадлежность к группе здоровых либо больных детей, реализующих инфицирование дебютом гепатитов.

2. Морфологические, морфометрические и ИГХ исследования материалов пункционной биопсии печени, проведённой детям в возрасте 2,5-14,0 месяцев жизни, позволяют выявить многообразие отличительных признаков и специфичность повреждения гепатобилиарной системы при вирусных и герпесвирусных гепатитах. На основании анализа клинико-морфологических данных можно прогнозировать риск трансформации гепатитов в цирроз печени.

3. Оптимизация и проведение протоколов лечения врождённого гепатита В и С, герпесвирусных гепатитов и гепатитов при микоплазмозе способствуют формированию стабильной клинико-лабораторной ремиссии. При раннем лечебном вмешательстве и длительной комплексной терапии удается избежать рецидивирующего течения гепатитов.

4. При лечении герпесвирусных гепатитов наблюдается зависимость нормализации размеров печени и уровня щелочной фосфатазы, достижения биохимического и вирусологического ответа с динамикой повышения уровня IL2, снижения концентрации гиалуроновой кислоты, уменьшения абсолютного количества моноцитов крови и их функциональной активности. На основании полученных данных разработана патогенетическая концепция иммунопосредованного ответа при проведении противовирусной терапии.

Внедрение результатов исследования

Результаты работы положены в основу создания диагностического алгоритма наследственных и инфекционных заболеваний ГГС, разработку новых протоколов лечения гепатитов при ВГВ, ВГС, герпесвирусных инфекциях, микоплазмозе у детей первого года жизни, диспансерного

наблюдения и контроля эффективности лечения, которые применяются в практической деятельности участковых педиатров, гастроэнтерологов, медицинских генетиков и инфекционистов на клинических базах г.Екатеринбурга, при оказании амбулаторно-поликлинической помощи детям г.Екатеринбурга и Свердловской области.

Актуальность проблемы, вопросы этиологии и патогенеза поражений ГБС у детей грудного возраста, лечебно-диагностические технологии ведения пациентов используются в преподавании в форме лекций, обсуждаются с врачами-курсантами на практических занятиях кафедры поликлинической педиатрии и педиатрии ФПК и ПП «Уральского государственного медицинского университета» Минздрава России. Результаты исследования изложены в методических рекомендациях: «Синдром желтухи при TORCH-ассоциированных инфекциях у новорождённых и детей первого года жизни» (2013), «Острые вирусные гепатиты у детей: эпидемиология, клинико-лабораторная диагностика, лечение, профилактика» (2013), в учебном пособии для педиатров «Клиническое обследование детей на амбулаторно-поликлиническом этапе» (2013).

Апробация материалов диссертации

Основные положения диссертации представлены и доложены на Первом Конгрессе педиатров Урала «Актуальные проблемы педиатрии», (г. Екатеринбург, 22-23 мая 2008 г.), IV съезде физиологов Урала с международным участием (г. Екатеринбург, 2009 г.), Городской конференции «Гастродни на Урале» (г. Екатеринбург, 2010 г.), IV Региональном научном форуме «Мать и дитя» пленума Российского общества акушеров-гинекологов (г. Екатеринбург, 2010 г.), V Ежегодном Конгрессе специалистов перинатальной медицины «Современная перинатология: организация, технологии и качество» (г. Москва, 2010 г.), XI Международной выставке-конференции «Дитя и мама» (г. Екатеринбург, 2010 г.), XV Конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (г. Москва, 14-17 февраля 2011 г.), Республиканской научно-практической конференции «Современные технологии выхаживания новорождённых детей» (г. Уфа, 2011 г.), 10 Областной научно-практической конференции «Современные аспекты гепатологии» (г. Екатеринбург, 2011 г.), I Международном конгрессе по перинатальной медицине. VI Ежегодном Конгрессе специалистов перинатальной медицины (г. Москва, 16-18 июня 2011 г.), Городской педиатрической конференции «Актуальные проблемы инфекционной и неинфекционной патологии ЖКТ» (г. Екатеринбург, 2011 г.), Всероссийском ежегодном конгрессе «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» (г. Санкт-Петербург, 5-6 октября 2011 г.), Межрегиональной научно-образовательной конференции в рамках VI терапевтического форума «Гастроэнтерология и гепатология: взгляд из XXI века» (г. Тюмень, 10-11 ноября 2011 г.), Городской педиатрической конференции по гастроэнтерологии «Функциональные заболевания ЖКТ в практике педиатра» (г. Пермь, 2011 г.),

XVI конгрессе педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (г. Москва, 24-27 февраля 2012 г.), IV ежегодном Всероссийском конгрессе по инфекционным болезням (г. Москва, 26-28 марта 2012 г.), Втором Конгрессе педиатров Урала с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (г. Екатеринбург, 17-19 мая 2012 г.), стендовом докладе в г. Праге на Prague Hepatology meeting (Prague, Czech Republic, 20-22 sept. 2012 г.), Всероссийском ежегодном конгрессе «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика» (г. Санкт-Петербург, 17-18 октября 2012 г.), Городской конференции «Актуальные вопросы детской гастроэнтерологии» (г. Челябинск, 2012 г.), IX Российской конференции с международным участием «Педиатрия и детская хирургия в Приволжском федеральном округе», I Конференции детских гастроэнтерологов ПФО (г. Казань, 20-21 ноября 2012 г.), Евразийском конгрессе «Медицина, фармация и общественное здоровье – 2013» с международным участием (г. Екатеринбург, 21-23 мая 2013 г.), городской конференции «Актуальные проблемы гастроэнтерологии в практике участкового педиатра» (г. Пермь, 2013 г.), XXI международном Конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ (г. Москва, 18-20 марта 2014 г.), Третьем Конгрессе педиатров Урала с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (г. Екатеринбург, 23-25 апреля 2014 г.), Третьем Конгрессе Евро-Азиатского Общества по инфекционным болезням (г. Екатеринбург, 21-23 мая 2014 г.), городской конференции «Актуальные вопросы неонатологии» (г. Челябинск, 2014 г.), Третьем Уральском Медицинском форуме «Здоровая семья – здоровая Россия» и Первом Уральском Форуме специалистов перинатальной медицины (г. Екатеринбург, 6-7 ноября 2014 г.), XIV Третьяковских чтениях «Эффективное безопасное выхаживание младенцев с перинатальной патологией» (г. Уфа, 2015 г.), Евразийском форуме «Национальное здравоохранение: международный диалог» (г. Екатеринбург, 21-22 мая 2015 г.), окружной научно-практической конференции «Актуальные вопросы педиатрии» (г. Сургут, 11-12 ноября 2015 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликованы 52 работы, из них 14 в научных журналах, входящих в перечень ВАК Министерства образования и науки РФ. Получены семь патентов на изобретения.

Структура и объем диссертации

Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения с обсуждением результатов исследования, выводов, практических рекомендаций, указателя цитируемой литературы, иллюстрирована 38 таблицами и 116 рисунками. Содержит описание восьми клинических случаев, из которых четыре сопровождаются морфологическими рисунками. Работа изложена на 296 страницах машинописного текста, включает библиографический список из 294 источников, в том числе 145 отечественных и 149 зарубежных.

Личный вклад автора в проведённые исследования

Автором самостоятельно и в полном объёме:

- составлен дизайн клинических исследований, проведена координация по взаимодействию лабораторий и отделений лечебно-диагностических учреждений и научно-практических центров;
- организовано внедрение диагностических тест-систем для научных исследований в лабораториях г.Екатеринбурга и проведено ознакомление с технологиями постановки лабораторных исследований;
- составлен и внедрен в амбулаторно-поликлинических условиях протокол проведения лабораторных, инструментальных, медико-генетических исследований и наблюдения детей из группы риска перинатального инфицирования и больных гепатитами;
- разработаны и внедрены протоколы лечения детей, реализовавших перинатальный контакт с инфекциями дебютом гепатитов;
- выполнены клинические осмотры, программа обследования и лечения детей с заболеваниями гепатобилиарной системы, наблюдения в катамнезе;
- составлена статистическая карта регистрации ребёнка с присвоением идентификационного номера для учёта данных анамнеза, осмотра, результатов обследования и протоколов лечения;
- проведён анализ комплекса серологических, молекулярно-биологических и иммунологических исследований;
- внесены в программу Excel дихотомические и числовые данные анамнеза, осмотра, результатов обследования и лечения, которые систематизированы в четырех файлах «Все гепатиты», «Морфология», «Иммунология и лечение», «Лечение гепатитов»;
- проведён отбор публикаций по изучаемой проблеме в материалах отечественных и зарубежных изданий, интернета в программе PubMed, а результаты научного поиска систематизированы;
- выполнена статистическая обработка данных по всем разделам научной программы исследования и проведён анализ полученных результатов;
- написана и оформлена в полном объёме диссертационная работа.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Когортные клинические проспективно-ретроспективные исследования проводили с 1 января 2005 г по 31 декабря 2014 г. в соответствии с планом научно-исследовательских работ ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России (ректор, д.м.н., профессор Кутепов С.М.). Программа клинических исследований осуществлялась при наличии информированного согласия родителей и одобрена Локальным этическим комитетом ГОУ ВПО «Уральской государственной медицинской академии» Росздрава, протокол № 2 от «11» февраля 2010 г.

Работа выполнена на клинических и исследовательских базах г.Екатеринбурга: ГБУЗ СО «Областная детская клиническая больница №1» (главный врач, к.м.н. Беломестнов С.Р.), ГБУЗ СО «СОПАБ» (зав. Игумнова Ю.Э.), лаборатория гистологии ЦНИЛ ГБОУ ВПО УГМУ (зав, к.м.н., доцент Валамина И.Е.), лаборатория морфологии «Института иммунологии и физиологии» УрО РАН (с.н.с., к.м.н. Блинкова Н.Б.), МАУ Клинико-диагностический центр (главный врач, д.м.н., профессор Бейкин Я.Б.), ГБУЗ СО Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка» (главный врач Николаева Е.Б.), Клиника «Уральская» (главный врач, д.м.н., профессор Соколова Л.А.), Клинико-диагностическая лаборатория «Ситилаб-Урал» (главный врач Лебедева О.П.). На базе МАУ «Детская городская клиническая больница №9» г. Екатеринбург (главный врач, к.м.н. Карлов А.А.) проводили осмотр и катamnестическое наблюдение детей в возрасте от одного до 36 месяцев жизни, мониторинг клинико-лабораторных синдромов и протоколов лечения.

Критериями включения стали дети первого года жизни, имеющие перинатальный контакт с матерями-носителями вирусов гепатита В и С, цитомегаловируса, герпеса 1, 2, 6 типа и Эпштейна-Барр, токсоплазмоза, уреаплазмоза, микоплазмоза, хламидиоза. Следовательно, это были дети неинфицированные (контрольная группа) либо реализовавшие инфицирование формированием гепатитов (основная группа).

Критериями исключения стали новорождённые и дети первого года жизни, имеющие в анамнезе сепсис и/или малые гнойные инфекции, гемолитическую болезнь новорождённых, билиарную атрезию, фетальный алкогольный синдром, инфекцию мочевой системы, стеноз привратника, кишечную непроходимость, врождённый сифилис, ВИЧ-инфекцию, ПК по туберкулёзу, наследственно-генетические заболевания. В клинические исследования не взяли недоношенных детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела (ОНМТ и ЭНМТ) и детей, получивших полное парентеральное питание.

На протяжении 2001-2014 гг. за консультативной помощью обратились матери 1120 детей раннего возраста (табл. 1). На первом этапе (2001-2004 годы) проведены пилотные исследования. Обследовано 625 новорождённых и детей первого года жизни, у 165 (26,4%) выявлены клинико-лабораторные маркёры гепатита: затяжная желтуха, гипербилирубинемия, гепатомегалия ($p < 0,05$),

гиперферментемия ($p < 0,001$). У матерей во время беременности были обнаружены маркёры TORCH-инфекций. Решены задачи по созданию программы обследования и наблюдения детей с гепатитами в амбулаторно-поликлинических условиях, выбору оптимальной терапевтической тактики и лечебного питания.

Таблица 1

Этапы и задачи клинического исследования

Этапы наблюдения	Годы	Содержание работы и задачи исследования	Количество детей
1	2	3	4
1 этап	2001-2004 гг.	<p>Пилотные исследования, продольные лонгитудинальные. Анализ данных амбулаторных карт (форма 112/у) в поликлиниках г. Екатеринбурга (МУ ДГБ № 5, 8, 11, 15); консультации, на базе МУ ДМБ №9.</p> <p>Задачи:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) разработать алгоритм обследования детей с поражениями ГБС, рождённых в группе риска перинатального инфицирования; 2) оценить современные способы лекарственной терапии гепатитов, затяжной желтухи и холестаза у новорождённых и детей первого года жизни; 3) провести анализ опубликованных исследований по проблеме. 	625
2 этап	2005-2009 гг.	<p>Когортные проспективные клинические исследования у детей, имеющих перинатальный контакт с матерями-носителями возбудителей TORCH-инфекций.</p> <p>Задачи:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) внедрить алгоритм обследования детей в амбулаторно-поликлинических условиях; 2) обеспечить проведение медико-генетического консультирования детей при заболеваниях ГБС неустановленной этиологии; 3) оптимизировать протоколы лечения гепатитов; 4) оформить заявки на изобретения. 	258

1	2	3	4
3 этап	2010-2014 гг.	<p>Проведение открытых рандомизированных контролируемых исследований, наблюдение детей в катамнезе.</p> <p>Задачи:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) провести пересмотр биоптатов печени из СОПАБ на базах лаборатории гистологии ЦНИЛ ГБОУ ВПО УГМУ и Института иммунологии и физиологии УрО РАН; 2) организовать диагностические исследования и внедрить способ идентификации маркёров TORCH-инфекций и белков апоптоза p53, bcl-2 методом ИГХ-анализа на базе ЦНИЛ ГБОУ ВПО УГМУ; 3) исследовать гепатобиоптаты младенцев методом электронной микроскопии на базе МАУ КДЦ г. Екатеринбурга; 4) провести исследование иммунного статуса детей с ГГ, определить профиль цитокинов, уровень ТФР-β и гиалуроновой кислоты в МАУ ДГКБ №9 и МАУ КДЦ г. Екатеринбурга. 	237
4 этап	2014-2015 гг.	<p>Отбор информационных карт наблюдения, формирование групп по этиологическому признаку.</p> <p>Задачи:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) систематизировать результаты обследования и наблюдения; 2) провести статистическую обработку данных; 3) оформить результаты клинкоморфологических исследований; 4) систематизировать публикации других исследователей и написать обзор по изучаемой проблеме. 	314

На втором этапе когортных клинических исследований (2005-2009 годы) под наблюдением находились 258 детей, имеющих ПК с матерями-носителями маркёров TORCH-инфекций, поставленные задачи выполнены. На третьем этапе (2010-2014 годы) продолжена консультативная работа, наблюдение в катамнезе. Проведены научно-диагностические исследования: пересмотр гепатобиоптатов, морфометрический анализ, ИГХ с идентификацией маркёров TORCH-инфекций и белков апоптоза, исследование иммунного статуса и уровня цитокинов у детей первого года. На четвёртом этапе (2014-2015 годы) проведена систематизация результатов обследования, сформированы группы по этиологическому признаку, выполнена статистическая обработка данных.

Методы исследования

Лабораторная диагностика. Верификацию возбудителей вирусных гепатитов В, С, TORCH-инфекций осуществляли методом ИФА с использованием тест-систем фирмы ЗАО «Вектор–Бест» (г. Новосибирск) на оборудовании Tecan Sunrise (Австрия). Выделение и амплификацию генетического материала возбудителей, взятых из разных биологических сред, проводили наборами АмплиСенс (ФГУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва) в амплификаторах с активным регулированием «Терцик» (ДНК-Технология). Детекцию продуктов амплификации осуществляли на мультисканальном автоматическом люминесцентном анализаторе АЛА-1/4 (Латвия), методом электрофореза в агарозном геле. Генотипирование HCV, определение вирусной нагрузки HBV, HCV, EBV, CMV и HHV6 проводили на многоканальном автоматическом анализаторе Rotor Gene-6000 (Австрия). Использовали наборы производства «Интерлабсервис» (Россия) для ПЦР-диагностики: «АмплиСенс HCV-генотип FL», «АмплиСенс HBV-монитор FL», «АмплиСенс HCV-монитор FL» и «АмплиСенс EBVCMV/HHV6-скрин-FL». Определяли маркеры инфекций: Chlamydia trachomatis, Chlamydomphila pneumoniae, Mycoplasma hominis, Mycoplasma genitalis, Mycoplasma pneumonia, Ureaplasma urealiticum, Hepatitis viruses B et C, Herpes simplex viruses Type 1 et 2, Epstein-Barr virus, Cytomegalovirus hominis, Human herpes viruses Type 6 et 7, Candida albicans, Toxoplasma gondii, Parvovirus B19, Rotavirus, Rubella, Listeria monocytogenes, Human immunodeficiency virus.

Стандартные биохимические исследования крови с определением уровня билирубина и фракций, АлАТ, АсАТ, ЩФ, ГГТП, глюкозы, холестерина проводили на автоматическом анализаторе Selectra Yuniior (Нидерланды) с наборами фирмы Диасис (Германия).

Расчёт индекса APRI производили по следующей формуле (А. Loeza-del-Castillo et al., 2008):

$$APRI = \frac{\frac{AST\ level}{ULN}}{Platelet\ count\ (10^9 / L)} \times 100 \quad (1), \text{ где}$$

APRI - индекс соотношения АсАТ к количеству тромбоцитов
 AST level - уровень АсАТ обследуемого

ULN - верхний нормальный уровень АсАТ
 Platelet counst - количество тромбоцитов обследуемого.

Морфологические методы. Морфометрия. Иммуногистохимический анализ. Материалы гепатобиоптатов получены путём проведения чрезкожной пункционной биопсии печени (ПБП) у 55 детей в возрасте 2,5-14,0 месяцев жизни, проходивших обследование в отделении детей раннего возраста ГБУЗ СО ОДКБ №1 г. Екатеринбурга. Критерием отбора пациентов стали случаи неонатального криптогенного гепатита у младенцев с клиническими маркерами холестической желтухи и ахолии, ВГВ, ВГС, ГВИ с риском формирования хронического гепатита. Морфологическое исследование биоптатов проходило на базе ГБУЗ Свердловского областного патолого-анатомического бюро (СОПАБ) г. Екатеринбурга и лаборатории гистологии ЦНИЛ ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России. Гепатобиоптаты подвергали стандартной гистологической обработке с окраской серийных срезов гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван-Гизону. Проводили ШИК-реакцию с целью окрашивания включений в цитоплазме гепатоцитов и базальных мембран желчных протоков, реакцию Перлса для выявления гемосидерина, окраску рубеоноводородной кислотой для обнаружения меди. В гистологическом заключении использовали полуколичественную оценку степени активности по Knodell и фиброза по Desmet.

Для ИГХ анализа применяли универсальный иммунопероксидазный метод с использованием полимерной системы детекции «Histofine» и антител к белкам-антигенам возбудителей. Исследовали гистологические срезы толщиной пять микрон/мкм, полученных с парафиновых блоков гепатобиоптатов. Антигенную иммунореактивность восстанавливали высокотемпературным методом: кипячением 15 минут в цитратном буфере для работы с антителами CMV-pp 65 и HCV-NS3 (фирма Abbotec) и ЭДТА для работы с антителами CMV (DDG 9/CCN 2), p53 (DO7), bcl-2 (124), Hepatit B Virus Core antigen (polyclonal), Epstein Barr Virus (CS1-4), Herpes Simplex Virus I (polyclonal), Herpes Simplex Virus II (polyclonal) (фирма cell Marque). Исследование проводили с постановкой положительного и отрицательного контролей с целью исключения ложнонегативных либо ложнопозитивных результатов.

Экспрессию маркеров апоптоза определяли методом ИГХ-анализа, применяли иммунопероксидазный метод с использованием системы детекции «Histofine» и антител к белкам p53, bcl-2. Микропрепараты исследовали с помощью светового микроскопа «CarlZeiss» при увеличении x100, x200, x400. Морфометрическое обследование гистохимических препаратов проводили при 40-кратном увеличении. Для характеристики апоптоза оценивали индекс апоптоза (ИА) для белков p53 и bcl-2, с помощью которого определяли процентное соотношение количества клеток, наблюдаемых в поле зрения с экспрессией маркера, к общему количеству клеток в поле зрения. Оценку проводили в десяти полях зрения, после чего вычисляли среднее значение ИА для каждого конкретного случая. Уровень экспрессии соответствующих

маркеров с учетом выявленного ИА может соответствовать критериям низкого уровня апоптоза (менее 10%), умеренного (10-50%), выраженного (51-80%), высокого (более 80%) (S. Serafinska et al., 2009).

Иммунологические методы. Исследование иммунного статуса с определением цитокинового профиля проводили на базе МАУ КДЦ г. Екатеринбурга. Параметры общего анализа крови регистрировали с помощью гематологического анализатора «Cobas Micros 60» («ABX», Франция). Иммунофенотипирование субпопуляций лимфоцитов осуществляли с использованием моноклональных антител CD3-FITC/CD19-PE, CD3-FITC/CD4-PE, CD3-FITC/CD8-PE, CD3-FITC/CD16+56-PE, CD3-FITC/HLA-DR-PE «IO Test» («Beckman Coulter», США) методом лазерной проточной цитофлюориметрии на цитометре «FacsCanto II» («Becton Dickinson», США). Концентрации иммуноглобулинов IgG, IgM, IgA сыворотки крови определяли методом радиальной иммунодиффузии в агаре по Mancini. Содержание ЦИК оценивали методом преципитации в растворе ПЭГ-6000.

Содержание цитокинов TNF α , IFN α , IFN γ , IL1b, IL6, IL8, IL10, IL2 в сыворотке периферической крови определяли методом ИФА с использованием наборов ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Измерение оптической плотности проводили с помощью ИФА-ридера Multiscan EX («Thermo Electron Corporation», Китай). Уровень цитокинов ИЛ12 и TGF- β ₁ определяли методом ИФА на спектрофотометре MultiscanEX с использованием диагностических наборов фирмы «Bioscience» (Германия-Австрия), содержание гиалуроновой кислоты – наборами фирмы «Corgenix» (Германия-США).

Для оценки поглотительной активности нейтрофилов и моноцитов периферической крови, внутриклеточного киллинга пробы анализировали на проточном цитометре FACScan («Becton Dickinson», США). Оценивали процент клеток среди нейтрофилов и моноцитов, положительных по зеленой флюоресценции. Функционирование НАДФ-оксидазной системы нейтрофилов оценивали при помощи спонтанного и стимулированного НСТ-теста.

Медико-генетическое консультирование детей с патологией ГБС проводили в ГБУЗ СО «Клинико-диагностический центр «Охрана здоровья матери и ребенка». Использовали тандемный масс-спектрометр Micromass Quattro micro API (Waters) и готовые наборы реагентов без дериватизации «NeoBase Non-Derivatized MSMS kit» (PerkinElmer, Wallac OY, Finland). Для расчета концентраций аналитов применяли модуль «Result Viewer» программы «Specimen Gate Laboratory» (PerkinElmer, Wallac OY, Finland). С помощью данного метода определяли 35 наследственных болезней, обусловленных дефектами обмена аминокислот, органических кислот и митохондриального β -окисления жирных кислот. С помощью неонатального скрининга исключали наследственные болезни: фенилкетонурию, галактоземию, муковисцидоз, врожденный гипотиреоз, адреногенитальный синдром.

Методы лечения. Открытые рандомизированные контролируемые исследования (РКИ) протоколов лечения проведены у детей, страдающих ВГС либо ГГ, по варианту «случай-контроль» наблюдали пациентов с ВГВ либо микоплазмозом (табл. 2).

Протоколы лечения гепатитов у детей первого года

Протокол А	Протокол В	Протокол С
<p>Базис-терапия Урсофальк[®] суспензия (УДХК) 10-12 мг/кг в сутки однократно в течение 4-х недель, возможен повторный курс лечения</p>	<p>Противовирусная терапия гепатита С</p> <p>1) Виферон[®] 3 млн. ед/м² - 14 дней ежедневно, затем через день, 12-18 мес. 2) Орвирем[®] (ремантадин) 5 мг/кг·сут, ежедневно после завтрака, 9-12 мес. 3) Урсофальк[®] сусп. (УДХК) 20 мг/кг·сут, 2-3 раза в день, 12-18 мес.</p>	<p>Противовирусная терапия гепатита С</p> <p>1) Виферон[®] 3 млн. ед/м² - 10 дней ежедневно, затем 3 раза в неделю, 6-9 мес. 2) Урсофальк[®] сусп. (УДХК) 10-12 мг/кг·сут, 2-3 раза в день п/еды, 6-9 мес.</p>
	<p>Противовирусная терапия герпесвирусных гепатитов</p> <p>1) Виферон[®] 50 тыс.ед/кг - 10 дней ежедневно, затем через день, 6-9 мес 2) Ацикловир-акри[®] (Зовиракс[®]) 50 мг/кг·сут, 3-4 раза в день п/еды (до двух лет не более 400 мг/сут), 6-12 недель 3) Урсофальк[®] сусп. (УДХК) 20-30 мг/кг·сут, 2-3 раза в день п/еды, 6-9 мес.</p>	<p>Противовирусная терапия герпесвирусных гепатитов</p> <p>1) Виферон[®] 150 тыс.ед 2 раза в день - 10 дней ежедневно, затем 150 тыс.ед 1 раз в день - 10 дней ежедневно, затем 150 тыс.ед - 10 дней 2 раза в неделю 2) Ацикловир 50 мг/кг в сутки 4 раза в день п/еды, 10-14 дней 3) Урсофальк[®] сусп. (УДХК) 10 мг/кг·сут, 1-2 раза в день, 1 мес.</p>
	<p>Антибактериальная терапия гепатитов при микоплазмозе</p> <p>1) Ровамицин[®] (спирамицин) 100 тыс.ед/кг·сут, 2 раза в день – 8 дней ежедневно. Затем Сумамед[®] (азитромицин) курсовая доза 30 мг/кг – по схеме: 1-й, 7-й, 14-й день 2) Виферон[®] 50 тыс.ед/кг – 10 дней ежедневно, затем</p>	<p align="center">-</p>

	через день, 3 мес. 3) Урсофальк [®] сусп. (УДХК) 20 мг/кг·сут, 2-3 раза в день, 3 мес.	
	Противовирусная терапия гепатита В 1) Виферон [®] 3 млн. ед/м ² - 14 дней ежедневно, затем через день, 12-18 мес. 2) Зеффикс [®] (ламивудин) 3 мг/кг·сут, ежедневно после завтрака, 12-18 мес. 3) Урсофальк [®] сусп. (УДХК) 20 мг/кг·сут, 2-3 раза в день, 12-18 мес.	-

Назначение терапии не могло быть утаено от родителей и участковых педиатров, поскольку активная либо выжидательная лечебная тактика требуют проведения различных действий от участников эксперимента. Лаборанты не были информированы о схемах назначаемого лечения и ожидаемых результатах.

Методы статистической обработки данных. Статистическая обработка результатов исследования проводилась с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel, Statistica 6,0. Пакет прикладных программ по прогнозированию на базе стандартных методов распознавания образов «Квазар», созданный профессором Вл.Д. Мазуровым с соавторами УрО РАН, зарегистрирован в государственном фонде алгоритмов и программ РФФИ в 1983 году, № П-006903. С помощью критериев Шапиро-Уилка и Колмогорова-Смирнова определяли распределение переменных по признаку нормальности. Применяли методы описательной статистики с вычислением медианы (Me), межквартильного интервала (МКИ), среднего арифметического (M), стандартного отклонения (σ), ошибки среднего (m) и 95% доверительного интервала (95%ДИ). Сравнительный анализ качественных и количественных признаков в двух независимых группах проводили с помощью критерия хи-квадрат (χ^2) с поправкой Йейтса и двухвыборочного t-критерия соответственно, в случае ненормального распределения применяли непараметрический критерий Манна-Уитни (U). Для оценки корреляционных связей вычисляли коэффициент корреляции Пирсона (r). Расчет отношения шансов (OR) был выбран для описания редких форм заболевания. Для оценки эффективности лечения использовали критерий знаковых рангов Вилкоксона для числовых и критерий Мак-Немара для категориальных переменных. Для прогнозирования в малых группах применяли метод комитетов линейных неравенств или консилиумов решающих правил. Проверка гипотезы в исследовании проходила через определение нулевой и альтернативной гипотез, различия считались достоверными при $p < 0,05$.

Систематизация признаков и статистическая обработка данных проведена в объёме 974 834 единиц информации (табл. 3).

Таблица 3

Материалы и объём клинического исследования

№	Наименование объекта наблюдения и материала исследования	Количество детей	Количество единиц стат.анализа
1.	Акушерский анамнез матери, течение беременности и родов (форма 113/у). Период новорожденности ребёнка, данные объективного осмотра и развития ребёнка (форма 112/у) и пр.	314	440 985
2.	Лабораторные методы обследования: биохимический и общий анализ крови, маркёры холестаза, ферритин, ТТГ, α -фетопротеин, протеинограмма	314	167 586
3.	Маркёры TORCH-комплекса: методы ИФА и ПЦР-диагностики из разных биологических сред матери и ребёнка	314	216 548
4.	Инструментальное обследование: УЗИ, ФГДС, сцинтиграфия печени, компьютерная томография и пр.	314	55 607
5.	Исследование иммунного статуса пациентов, комплекса цитокинов, ТФР- β , гиалуроновой кислоты	73	48 217
	Маркёры ИГХ TORCH-комплекса и апоптоза с помощью универсального иммунопероксидазного метода с использованием полимерной системы детекции «Histofine»	55	
6.	Морфометрия гепатобиоптатов: полуколичественная оценка степени активности по Knodell и фиброза по Desmet	55	45 645
7.	Электронная микроскопия биоптатов печени выполнена с помощью микроскопа Morgagni 268	9	180
8.	Микрофотографии гистологических препаратов выполнены с помощью лабораторного комплекса микроскопа Leica DM 2500 и фотокамеры Leica DFC 420	11	66
9.	Всего:		974 834

На основании проведённых когортных клинических исследований сформулированы и представлены положения, выносимые на защиту.

ПЕРВОЕ ПОЛОЖЕНИЕ. Совокупность клинико-лабораторных данных и факторов отягощенного акушерского анамнеза у детей первого года, имеющих перинатальный контакт с матерями, носителями вирусов гепатита В, С и герпеса, микоплазмоза или уреаплазмоза, позволяет определить их принадлежность к группе здоровых либо больных детей, реализующих инфицирование дебютом гепатитов.

Анализировали истории развития 314 детей первого года жизни из группы риска перинатального инфицирования (рис. 1). В контрольной группе (группа 1) наблюдали 81 (25,8%) ребёнка, у которых перинатальный контакт с возбудителями TORCH-инфекций не был реализован. У 233 детей (основная группа) анте-, интра- либо постнатальное инфицирование сопровождалось формированием ведущей патологии гепатобилиарной системы – гепатита.

В основной группе, неоднородной по этиологическим факторам, 51 (16,2%) пациент заболели ВГВ или ВГС (группа 2), 158 (50,3%) детей страдали герпесвирусными гепатитами (группа 3), у 9 (2,9%) детей группы 4 наблюдали редкие случаи гепатита на фоне микоплазмоза и 15 (4,8%) больных имели криптогенный гепатит (группа 0), когда этиологию болезни не удалось установить. Наблюдения в катамнезе осуществляли до 36 месяцев жизни.

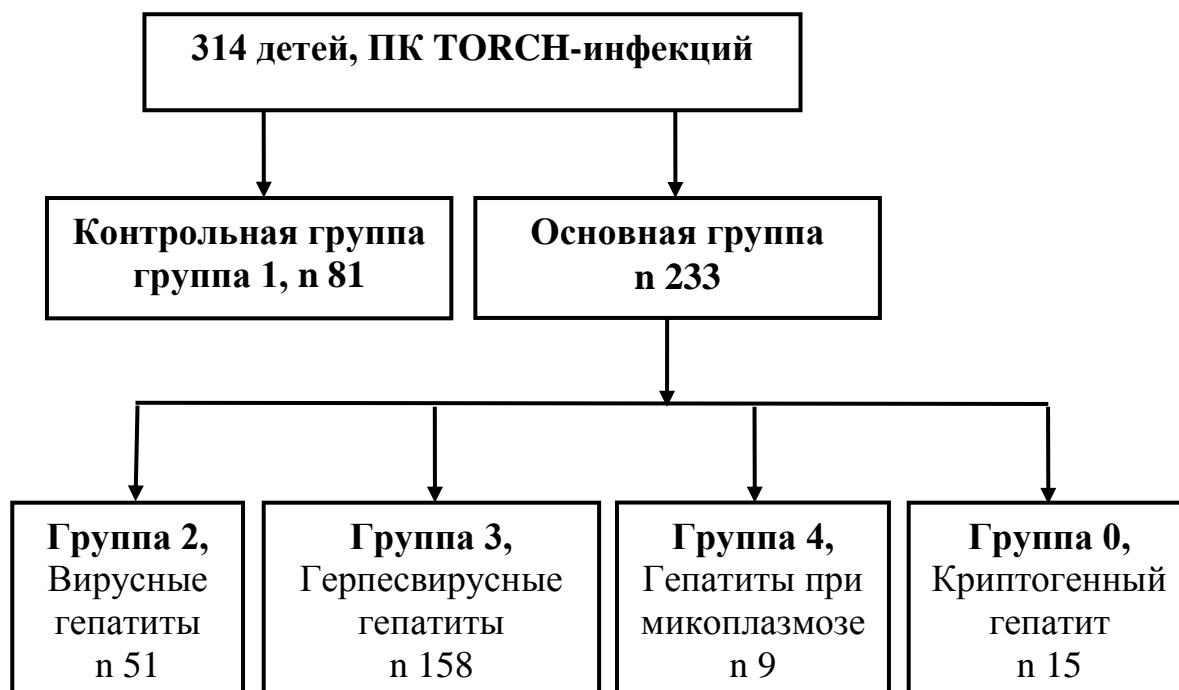


Рис. 1. Дизайн исследования. Схема формирования групп

У пациентов группы 2 выявили вирус HBV в 8 (15,7%) случаях, вирус HCV – 43 (84,3%), рис. 2 и 3. Маркёры репликации CMV имели 141 (89,2%) ребёнок группы 3, 11 (7,0%) – HHV6-го типа, 4 (2,5%) – EBV, у 2 (1,3%) детей был HSV2-го типа (рис 4). Возбудителей микоплазмоза верифицировали у 9 (3,9%) больных гепатитами, из них восемь имели маркёры *Ur.urealyticum*.

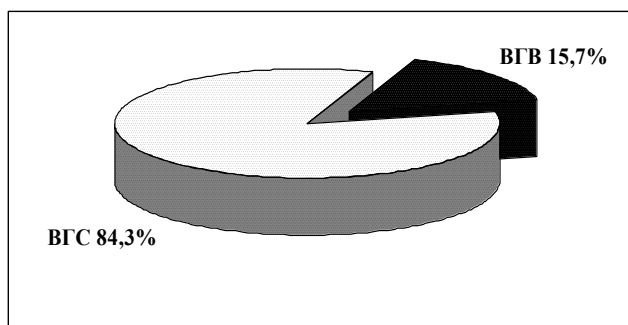


Рис. 2. Этиологическая структура вирусных гепатитов

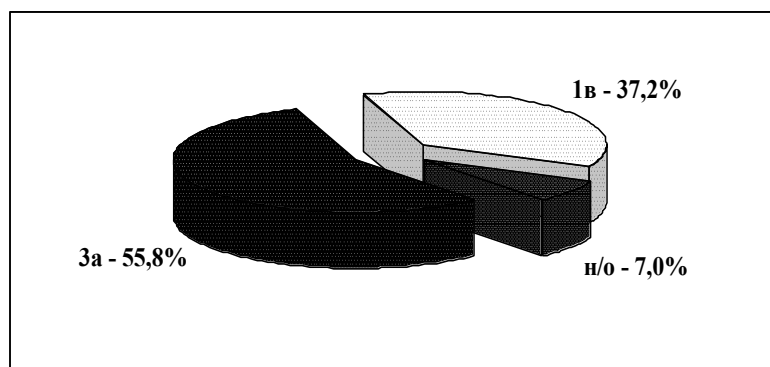


Рис. 3. Частота обнаружения генотипов вируса гепатита С

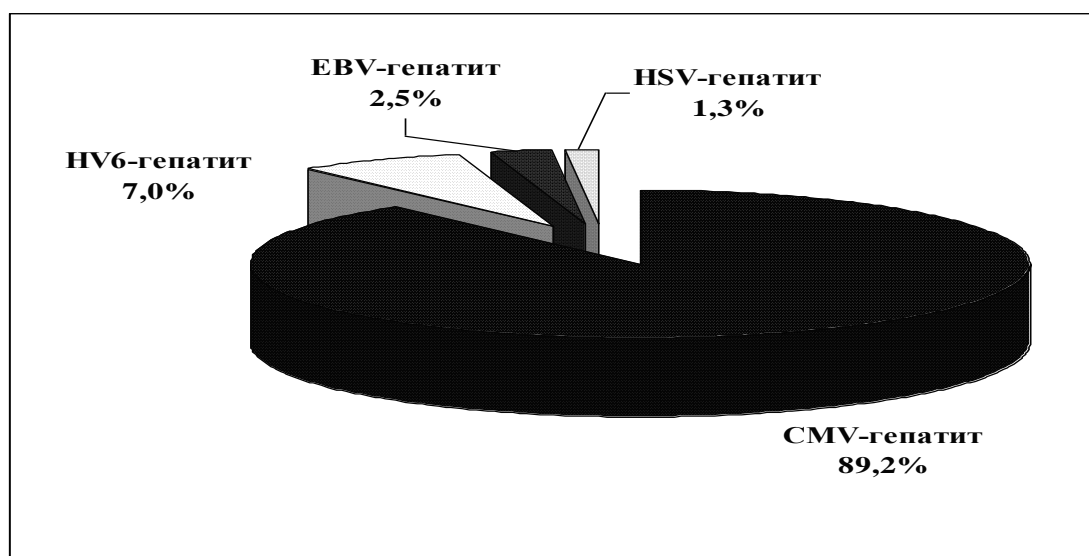


Рис. 4. Этиологическая структура герпесвирусных гепатитов

В 88,5% случаев дети родились доношенными. Недоношенность 1 и 2 степени отмечали у 36 (11,5%) новорождённых, которых наблюдали как в группе контроля, так и в группе больных гепатитами ($p > 0,05$). Акушерский анамнез сопровождался следующими нарушениями: у матерей из групп 3 и 4 чаще диагностировали ППМ и отёки в третьем триместре беременности, ОРЗ, гестационный нефрит ($p < 0,020$). У женщин групп 3 и 2 отмечали признаки хронической ФПН, угрозу прерывания беременности, гипоксию плода ($p < 0,042$). У женщин всех групп были выявлены ЗППП, однако в группе 4 микоплазмоз и уреоплазмоз диагностированы в 77,8% случаев по сравнению с группами 1, 2, 3, 0 (соответственно 21,0%; 21,6%; 24,7%; 13,3%, где $p < 0,0001$).

Безводный период был продолжительным у матерей групп 2, 3 и 4 в сравнении с контрольной группой ($p < 0,020$). Вакцинацию против гепатита В провели в роддоме более чем у 86,4% новорождённых, однако иммунизация была низкой у детей группы 3 и составила 66,5% ($p < 0,0001$). У матерей группы 0 во время беременности чаще регистрировали случаи гестационного нефрита и гипоксию плода в сравнении с группами 1 и 2 ($p < 0,004$).

Затяжная желтуха более 30,0 дней стала предиктором поражения ГБС у младенцев групп 3, 4, 0 ($p < 0,014$). При ВГВ и ВГС регистрировали случаи атипичного дебюта заболевания. Повышение уровня трансаминаз при ГГ происходило до трёх месяцев жизни ребёнка, при ВГВ – в возрасте 3,0-3,5 мес. и ВГС – 4,5-6,5 мес. ($p < 0,0001$). При ГГ показатели АсАТ преобладали над уровнем АлАТ, при ВГВ и ВГС уровень АлАТ был достоверно выше значения АсАТ. При всём этиологическом многообразии гепатитов, цитолиз и желтуху наблюдали на фоне гепатолиенального синдрома, но увеличение размеров селезёнки достоверно чаще регистрировали при ГГ. Синдром холестаза, в том числе ахолию, высокий уровень щелочной фосфатазы (ЩФ) и гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТП) достоверно часто определяли при ГГ и КГ ($p < 0,004$). Индекс APRI был высоким у пациентов с ВГ, ГГ и КГ ($p < 0,007$).

У пациентов с ГГ и КГ чаще наблюдали признаки поражения ЦНС: ПП ЦНС гипоксически-ишемического генеза, гипертензионно-гидроцефальный синдром (ГГС), пирамидную недостаточность, миотонический синдром, синдром вегето-висцеральных дисфункций (СВД), синдром двигательных нарушений (СДН), судорожный синдром ($p < 0,020$). При герпесвирусных инфекциях отмечали признаки МФН, выявили маркёры соединительнотканной дисплазии, как ДХЛЖ, ФОО, грыжи, нейтро- и тромбоцитопению, гипогаммаглобулинемию ($p < 0,028$). При врождённой ЦМВИ наблюдали формирование тугоухости и ангиопатии сетчатки у 5,0% детей. Задержку психоречевого развития и резидуальную церебральную недостаточность регистрировали соответственно в 7,7 и 25,0% случаев ГГ ($p < 0,040$).

У больных групп 3 и 4 отмечали лимфадению ($p < 0,010$). Атопический дерматит и конъюнктивит наблюдали достоверно чаще у пациентов группы 4 ($p < 0,042$). Нормохромная анемия 1-2 степени была диагностирована в группах 3, 4, 0 ($p < 0,008$). Гипотрофию 1 ст. отмечали при ВГ, ГГ и КГ ($p < 0,05$). Уровень острофазовых белков α 2-глобулина и ферритина был повышен в группах 2, 3, 0.

У 11 больных ВГС выявили ассоциации с возбудителями герпесвирусных инфекций: маркёры репликации CMV были обнаружены у 5 детей, EBV – 4, HHV6 – 2. В дальнейшем в группе комбинированных по этиологическому признаку гепатитов (микст-ВГС) отмечали рецидивы заболевания в 90,9% случаев, в том числе у четырёх детей – в результате суперинфицирования вирусами EBV и HHV 6-го типа. Характерной особенностью микст-ВГС стала высокая активность трансаминаз как в дебюте заболевания, так и в процессе проведения ПВТ: показатель АсАТ в 4,0-4,5, АлАТ в 6,7-7,2 раза превышал контрольные значения, соответственно при моно-ВГС в 2,3-2,5 и 2,9-3,1 раза. Индекс APRI при микст-ВГС был выше показателя группы контроля в 4,5 раза, а при моно-ВГС – в 2,5 раза.

Отличительные особенности обнаружили при гепатитах EBV-этиологии. Дети родились недоношенными в гестационном возрасте 32-34 недели с СЗВУР плода, имели достоверно высокий уровень общего билирубина и трансаминаз по сравнению с гепатитами CMV-, HHV6-, HSV-этиологии, ахолию, внутрижелудочковые кровоизлияния (ВЖК), признаки морфофункциональной незрелости (МФН). Индекс APRI достигал значений 2,0 (95%ДИ:1,6-2,5), а в гепатобиоптатах определяли тяжелый фиброз и цирроз печени.

В период с 2005 по 2014 гг. у младенцев основной группы произошли неблагоприятные исходы гепатитов в ЦП и летальные случаи, обусловленные печеночной недостаточностью: при CMV- и EBV-гепатитах – 7 (3,0%), КГ – 1 (0,4%). Двум детям с циррозом печени на фоне ЦМВИ была проведена трансплантация печени в ФГУ «НИИ трансплантологии и искусственных органов Росмедтехнологий» им. В.И. Шумакова.

Для распознавания принадлежности детей к группам наблюдения применяли метод дискриминантного анализа с вычислением коэффициента решающего правила по формуле (2): $D = \sum X_i \times A_i + \text{CONSTANT}$. Результаты собственных клинических исследований демонстрируют варианты дебюта и особенности течения гепатитов при разных нозологических формах, позволяют выявить совокупность информативных признаков для прогнозирования риска реализации перинатального инфицирования (рис. 5). Детализация маркёров репликации возбудителей осуществляется на ранних этапах проведения диагностического марафона, поскольку ориентирует врача-педиатра на дальнейшие лечебно-диагностические мероприятия (рис. 6).

ВТОРОЕ ПОЛОЖЕНИЕ. Морфологические, морфометрические и ИГХ исследования материалов пункционной биопсии печени, проведённой детям в возрасте 2,5-14,0 месяцев жизни, позволяют выявить многообразие отличительных признаков и высокую специфичность повреждения гепатобилиарной системы при вирусных и герпесвирусных гепатитах. На основании анализа клинико-морфологических данных можно прогнозировать риск трансформации гепатитов в цирроз печени.

Клинико-морфологические данные анализировали у 55 детей основной группы, которым была проведена диагностическая пункционная биопсия печени в возрасте от 2,5 до 14,0 месяцев жизни. Распределение детей по группам осуществляли по этиологическому признаку: группа 0 – 15 младенцев с КГ, группа 2 – 15 детей с ВГ, группа 3 – 25 больных ГГ. Гепатобиопсию в возрасте 2,5-7,0 месяцев жизни проводили детям с ГГ и КГ, при ВГВ и ВГС – в возрасте 10,0-14,0 мес. Синдром холестаза отмечали при ГГ и КГ: была гипербилирубинемия, уровень прямого билирубина составил более 60,0%, повышались показатели щелочной фосфатазы и γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП), ахолию наблюдали у 52,0% и 40,0% детей. Гиперферментемия при ГГ и КГ была выше по сравнению с ВГ ($p < 0,000$). Отмечали достоверно высокий уровень индекса APRI при КГ 1,1 (95%ДИ:0,7-1,5) и ГГ 2,2 (1,4;3,0) по сравнению с ВГ 0,5 (0,4;0,6) ед. Выявляли гепатолиенальный синдром, подтверждённый данными осмотра, УЗИ и сцинтиграфии печени.

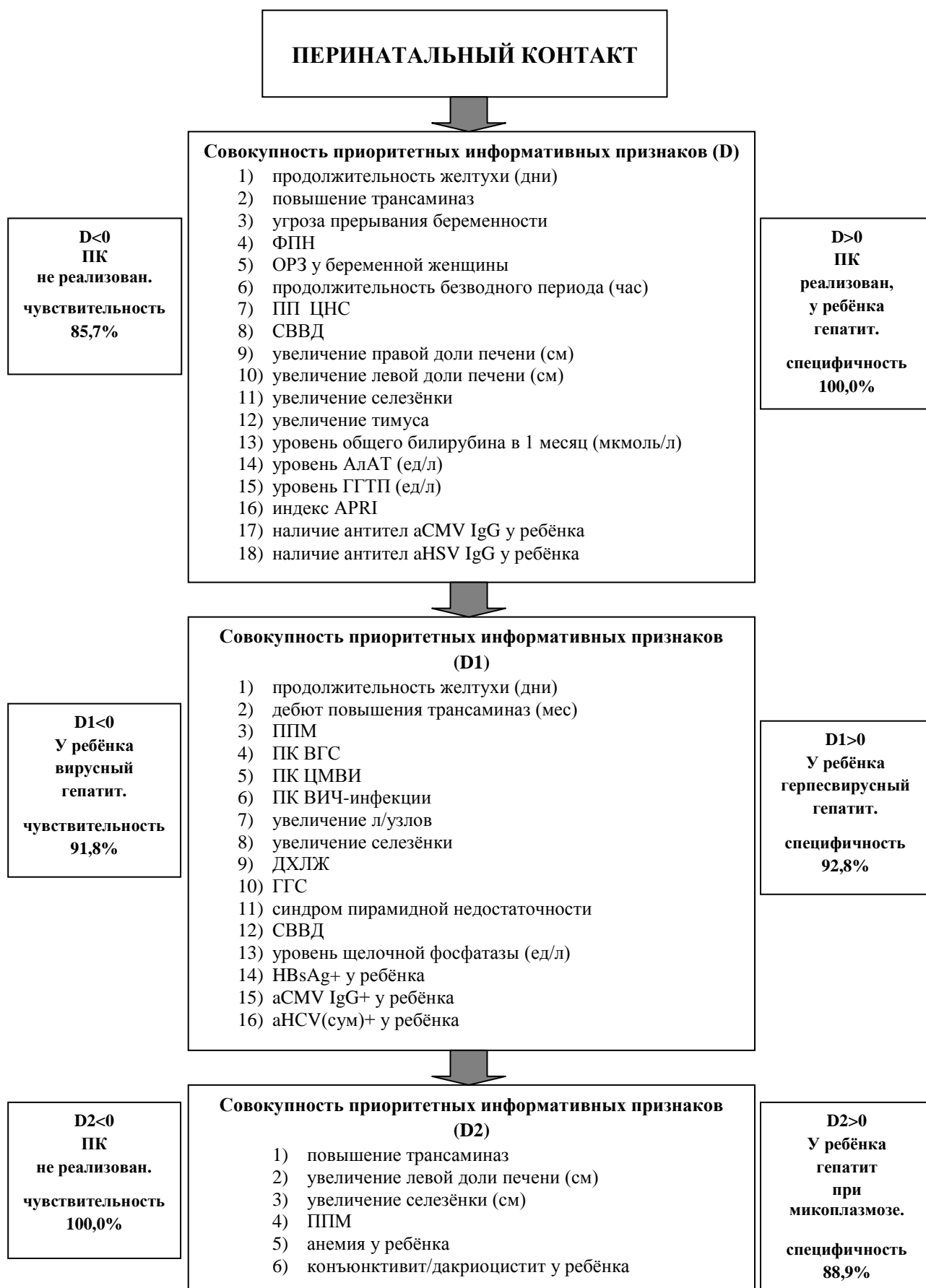


Рис. 5. Прогнозирование риска перинатального инфицирования и отбор детей в группы наблюдения

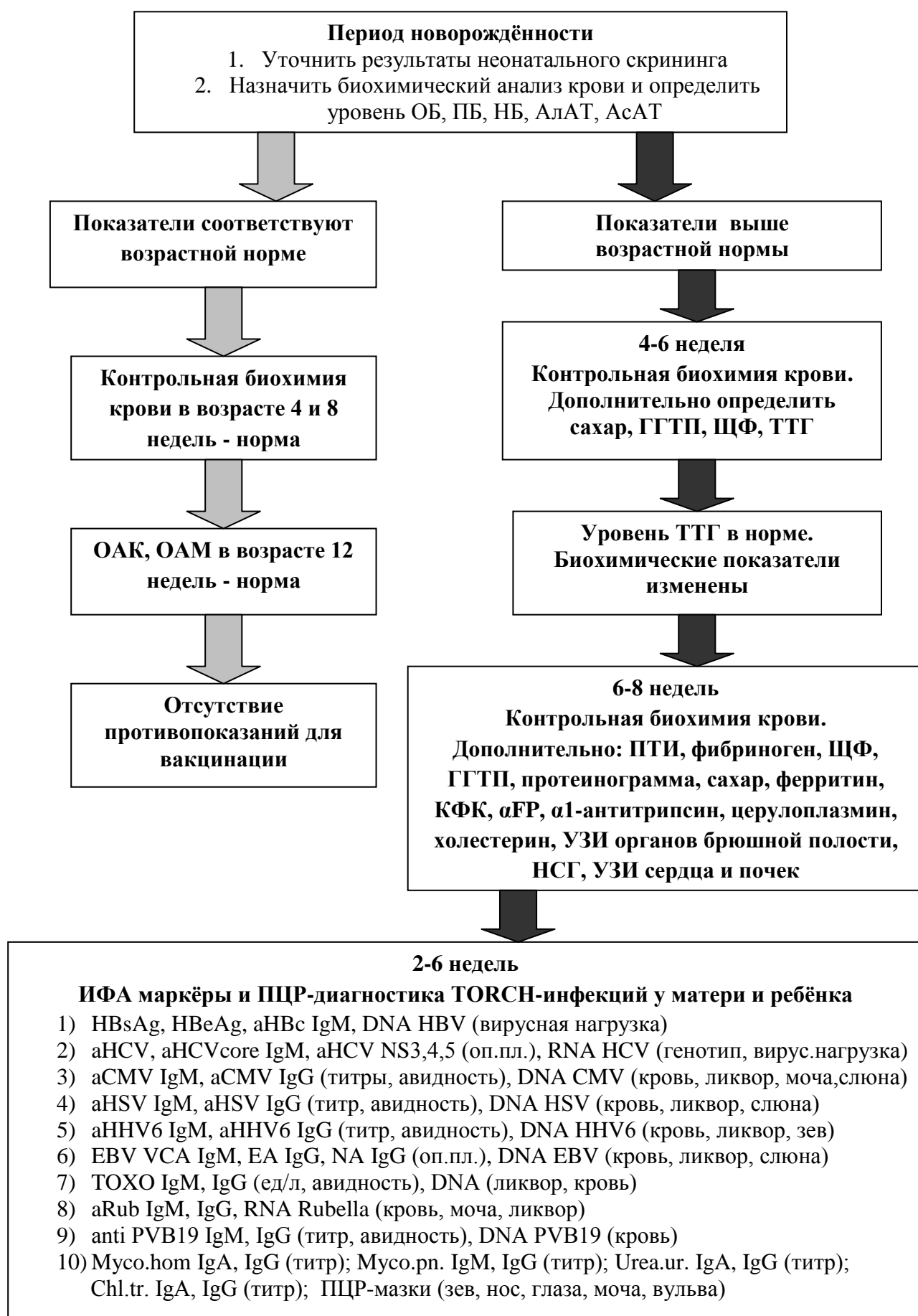


Рис. 6. Алгоритм диагностики гепатитов у детей первого года, рождённых в группе риска перинатального инфицирования

Воспалительную инфильтрацию портальной и внутридольковой стромы лимфоцитами и эозинофилами отмечали во всех исследуемых группах. Степень воспаления была более выражена при ГГ 2,0 (95%ДИ:1,7-2,3) в сравнении с КГ 1,6 (1,3;1,9) и ВГ 1,6 (1,2;2,0), где $p=0,040$ и $p=0,048$ соответственно. Степень некробиотических изменений была выше при ГГ 1,6 (95%ДИ:1,2-2,0) баллов в сравнении с КГ 1,2 (0,8;1,6) и ВГ 0,9 (0,6;1,3), где $p=0,012$. Индекс гистологической активности (ИГА) оценивали по Knodell, показатель был больше в группах КГ 7,5 (95%ДИ:5,5-8,8) и ГГ 7,0 (5,0;8,0) баллов против 4,0 (3,3;4,8) группы ВГ, где $p<0,000$ (рис. 7).

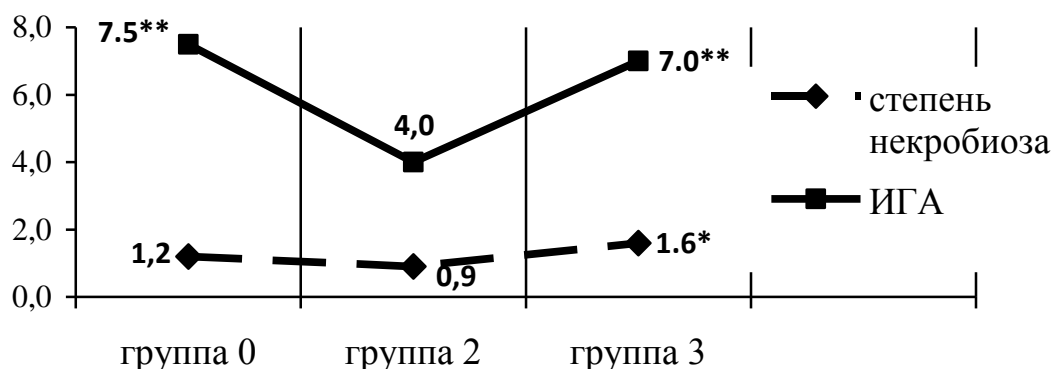


Рис. 7. Степень некробиоза и индекс гистологической активности в баллах (*, ** - критерий $p<0,05$)

Дольковое строение печени было нарушено во всех группах сравнения: легкая степень характерна для ВГ 1,2 (95%ДИ:1,0-1,4), тяжелая степень – для КГ 1,9 (1,4;2,3) и ГГ 2,4 (2,0;2,8) балла. В совокупности умеренный фиброз (F1-F2) отмечали при ВГ в 100,0% случаев, соответственно при КГ – 53,3% и ГГ – 44,0% случаев. Выраженный фиброз (F3-F4) наблюдали исключительно у пациентов группы 0 и группы 3, где $p_{0-2}=0,006$ и $p_{3-2}<0,000$ (рис. 8).

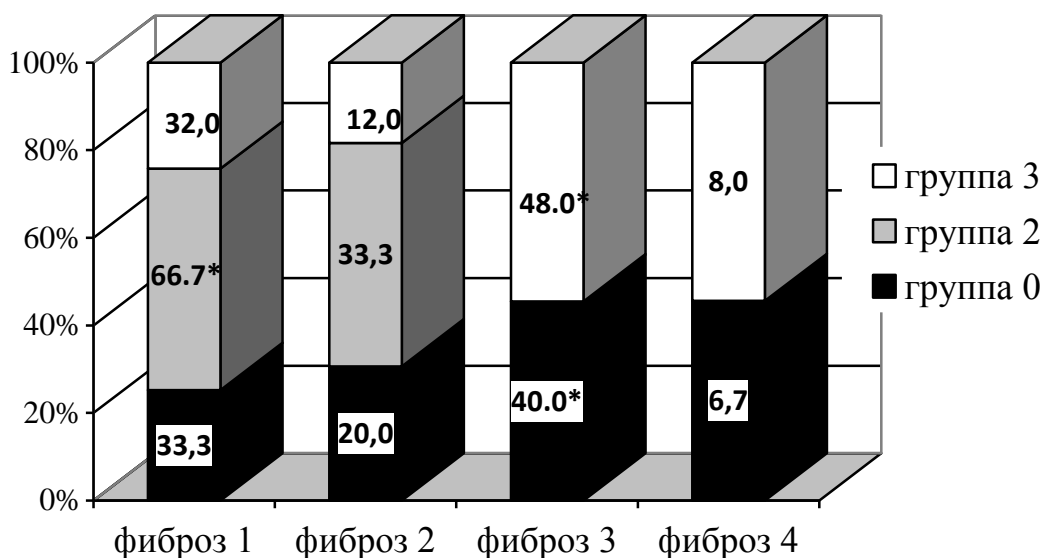


Рис. 8. Сравнительный анализ распределения фиброза в группах (* - критерий $p<0,05$)

Признаки кистозного фиброза печени отметили при ГГ у 24,0% (6 из 25) и КГ – 13,3% (2 из 15) больных и не обнаружили в группе ВГ ($p=0,040$). Мы констатировали формирование хронического гепатита у детей до 14,0 месяцев жизни независимо от продолжительности течения заболевания и воздействия разных этиологических факторов.

Морфологические признаки холестаза выявляли достоверно чаще при ГГ и КГ, соответственно $p=0,009$ и $p=0,003$. Поражение междольковых желчных протоков и дуктулопению регистрировали преимущественно при ГГ, в 48,0% и 44,0% случаев соответственно ($p=0,026$). Во всех группах определяли перидуктальное склерозирование и пролиферацию желчных протоков (рис. 9).

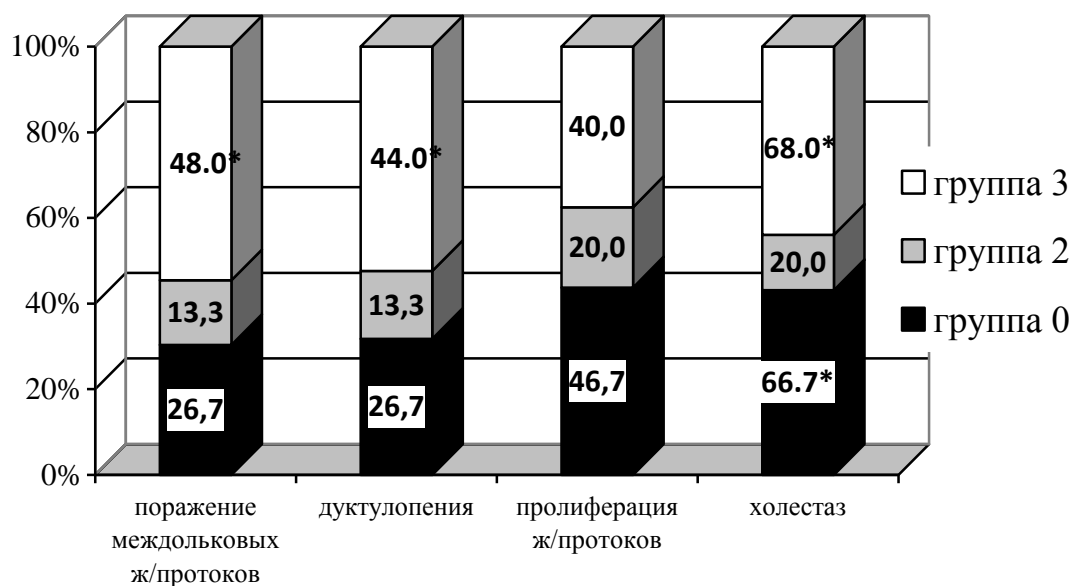


Рис. 9. Морфологические признаки поражения билиарной системы при гепатитах у детей 2,5-14,0 месяцев жизни, % (* - критерий $p<0,05$)

Признаки пигментного гепатоза наблюдали при ГГ за счет избыточного накопления железа в гепатоцитах и купферовских клетках, повышенное содержание липофусцина в паренхиме печени отмечали при КГ.

Методом ИГХ-анализа проводили идентификацию антигенов вирусов в цитоплазме и ядрах гепатоцитов. В группе 2 частота выявления антигенов ВГВ (HBsAg) и ВГС (HCV NS3) достигла 75,0%. В группе 3 антиген CMV белок pp65 идентифицировали в 81,9% случаев, степень экспрессии антигена была значимой ($p=0,0001$). Антиген CMV белок p52 выявляли в ядрах гепатоцитов с частотой 77,2%, степень экспрессии антигена была высокой ($p=0,002$). У одного больного (4,5%) группы 3 был обнаружен антиген HSV2-го типа. Антиген вируса EBV LMP1 верифицировали у трёх (13,6%) больных ГГ. В трёх (5,4%) случаях из 55 наблюдений были выявлены маркёры микст-инфекций, это были ассоциации антигенов вирусов CMV и HCV, CMV и EBV, CMV и HBV.

В гепатобиоптатах методом ИГХ обнаруживали маркер апоптоза – белок p53. Белок p53 определяли в 58,3% случаев КГ (группа 0), 36,4% - ВГ (группа 2), 68,4% - ГГ (группа 3), где $p>0,05$. При ВГ выявляли достоверно низкий уровень экспрессии белка p53, а при ГГ и КГ отмечали умеренную,

выраженную и высокую степень его активности. Ингибирование механизма апоптоза происходило при помощи белка bcl-2, в нашем исследовании его обнаруживали в более 60,0% случаев. Экспрессия белка bcl-2 проявилась умеренной активностью 10-50%. Однако, при ГГ отмечали тенденцию к более выраженной экспрессии белка bcl-2 в пределах 51-80%, при КГ и ВГ показатель индекса апоптоза bcl-2 не превышал 20%. Результаты ИГХ-исследования гепатобиоптатов детей в возрасте 2,5-14,0 мес. позволяют предположить, что при гепатите происходит дисбаланс процессов апоптоза, о чём свидетельствуют обнаруженные белки индукции и ингибирования апоптоза (рис. 10).

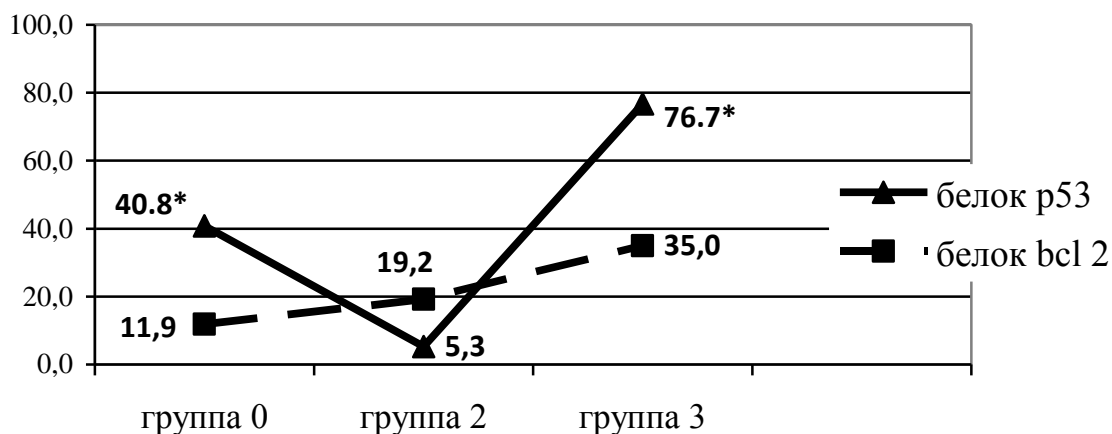


Рис. 10. Активность белков индукции (p53) и ингибирования (bcl-2) апоптоза в печени у детей 2,5-14,0 месяцев жизни, % (* - критерий $p < 0,05$)

Дискриминантный анализ позволил объективно выделить совокупность клинично-морфологических данных, характерных для каждой нозологической формы гепатита. Приоритетными маркерами для ГГ и КГ в сравнении с ВГ стали ахолия, большие размеры правой и левой доли печени, тяжелая степень нарушения долькового строения и фиброз 3 ст. (F3), выявление признаков пигментного гепатоза, высокий индекс APRI ($p = 0,0008$). При КГ отмечали достоверно высокое содержание липофусцина в гепатоцитах. При герпесвирусных гепатитах критерием информативности явилось обнаружение антигенов CMV pp65 в цитоплазме и CMV p52 в ядрах гепатоцитов методом ИГХ-анализа, а также наличие спленомегалии ($p = 0,0009$), рис. 11 и рис. 12.

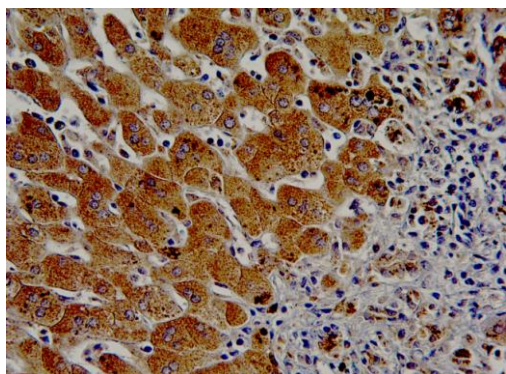


Рис. 11. Больной Б.С., 3,5 мес. Врождённый CMV-гепатит. Экспрессия белка CMV pp65 в цитоплазме гепатоцитов и междольковых желчных протоков. Иммунопероксидазный метод. Ув.×400

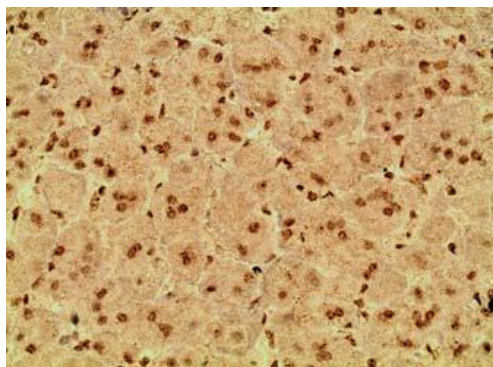


Рис. 12. Больной Б.С., 3,5 мес. Врожденный CMV-гепатит. Экспрессия белка CMV p52 в ядрах гепатоцитов, положительная реакция с антителами CMV-DDG 9/CSH2. Иммунопероксидазный метод. Ув.×400

Проведён сравнительный анализ течения гепатитов у 11 детей первого года жизни с исходом в цирроз печени (ЦП+) и 44 детей без исхода в цирроз печени (ЦП-) с целью определения у младенцев прогностических клинкоморфологических и этиологических маркёров трансформации гепатитов в ЦП. Отличительными признаками цирроза печени стали: затяжная желтуха, гипербилирубинемия более 180,0 мкмоль/л, гиперферментемия с показателями АсАТ более 170,0 ед/л и АлАТ – 150,0 ед/л, холестаза с преобладанием в крови уровня прямого билирубина более 60,0%, повышенными значениями щелочной фосфатазы более 570,0 ед/л и высокими показателями ГГТП – 250 ед/л, дебют ахолии наблюдали у 81,8% младенцев 6-8 недель жизни. При ЦП+ гепатолиенальный синдром был значимым, по данным УЗИ регистрировали признаки портальной гипертензии, увеличение диаметра портальной вены, проявления асцита. Варикозное расширение вен пищевода 1-2 степени определяли в группе ЦП+, отмечали увеличение размеров селезёнки и повышение РФП в ней, очищение крови от РФП было замедлено у 100,0% детей.

При определении тяжести структурных повреждений печени у детей грудного возраста мы использовали мультифакторный корреляционный анализ, информативными оказались восемь признаков: уровень АлАТ, индекс APRI, размеры левой доли печени по данным УЗИ, степень нарушения долькового строения печени, инфильтрация внутريدольковой стромы, степень некробиоза, ИГА, признаки дуктуллопии ($p=0,0001$). Индекс APRI вошёл в перечень лабораторных маркёров оценки тяжести структурных нарушений, происходящих в паренхиме печени, эффективность алгоритма распознавания составила 94,0%.

Методом дискриминантного анализа установили, что ЦП у детей первого года формируется преимущественно на фоне активной ЦМВИ, подтверждённой ИГХ-методом с идентификацией антигена CMV pp65 в цитоплазме гепатоцитов. По совокупности признаков уровень значимости отличий группы гепатитов с исходом в ЦП+ от группы гепатитов без исхода в ЦП- составил $p=0,0001$. Индекс APRI был достоверно выше у больных с ЦП+ 2,5 (95%ДИ:2,2-2,8) в сравнении с группой без формирования ЦП 1,2 (95%ДИ:1,0-1,5), рис. 13.

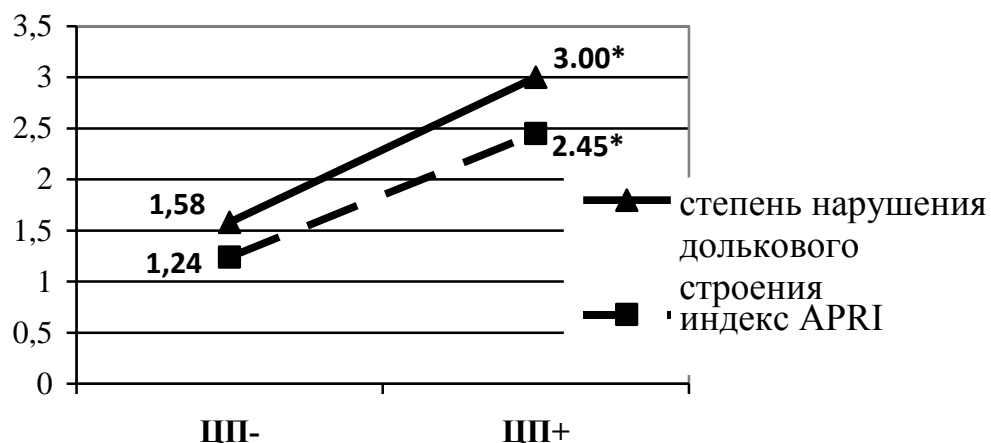


Рис. 13. Степень фиброза и индекс APRI у детей с циррозом печени (ЦП+) и без цирроза печени (ЦП-), * - критерий $p < 0,05$

Ультраструктурные повреждения гепатоцитов ассоциировались с изменением структуры митохондрий: в шести биоптатах мы наблюдали гомогенизацию митохондриального матрикса с полным отсутствием крист, в трёх случаях обнаружили единичные кристы, отмечали неравномерное перинуклеарное распределение органелл. Дистрофические изменения характеризовались выраженной вакуолизацией цитоплазмы гепатоцитов. Малочисленность исследований не позволила нам провести клинко-морфологические сопоставления и установить связь описанных нарушений с влиянием возбудителей TORCH-инфекций.

На основании полученных клинко-лабораторных и морфологических данных нами предложена патогенетическая модель формирования гепатитов и их исходов у детей грудного возраста. В частности, при герпесвирусных гепатитах отмечаются следующие структурные нарушения гепатобилиарной системы, как: высокая степень некробиоза гепатоцитов, холангиолит с поражением междольковых желчных протоков, перидуктальный склероз, дуктулопения, выраженная либо высокая степень экспрессии белков индукции (p53) и ингибирования (bcl-2) апоптоза гепатоцитов (рис. 14). В результате таких преобразований активируется фиброзогенный потенциал печени, создаются предпосылки для формирования хронического активного гепатита, внутри- и внепечёночной обструкции, холестаза, появляется высокая вероятность трансформации гепатитов в цирроз печени. У $\frac{3}{4}$ больных герпесвирусными гепатитами в момент проведения биопсии печени регистрируется слабый, умеренный либо тяжёлый фиброз печени (F1-F3), формирование же цирроза печени (F4) происходит динамично в ускоренных темпах в течение первого года жизни. Показатель индекса APRI достигает уровня 2,2 (95%ДИ:1,4-3,0) ед. При врождённом гепатите В или С определяется слабовыраженная степень некробиоза гепатоцитов, поражение билиарной системы минимальное, нет проявлений холестаза, фиброзогенный потенциал печени индуцирован слабо (F1-F2), отмечается низкий либо умеренный уровень активации белков апоптоза. Показатель индекса APRI колеблется в пределах 0,5 (95%ДИ:0,4-0,6) единиц, рис. 14.

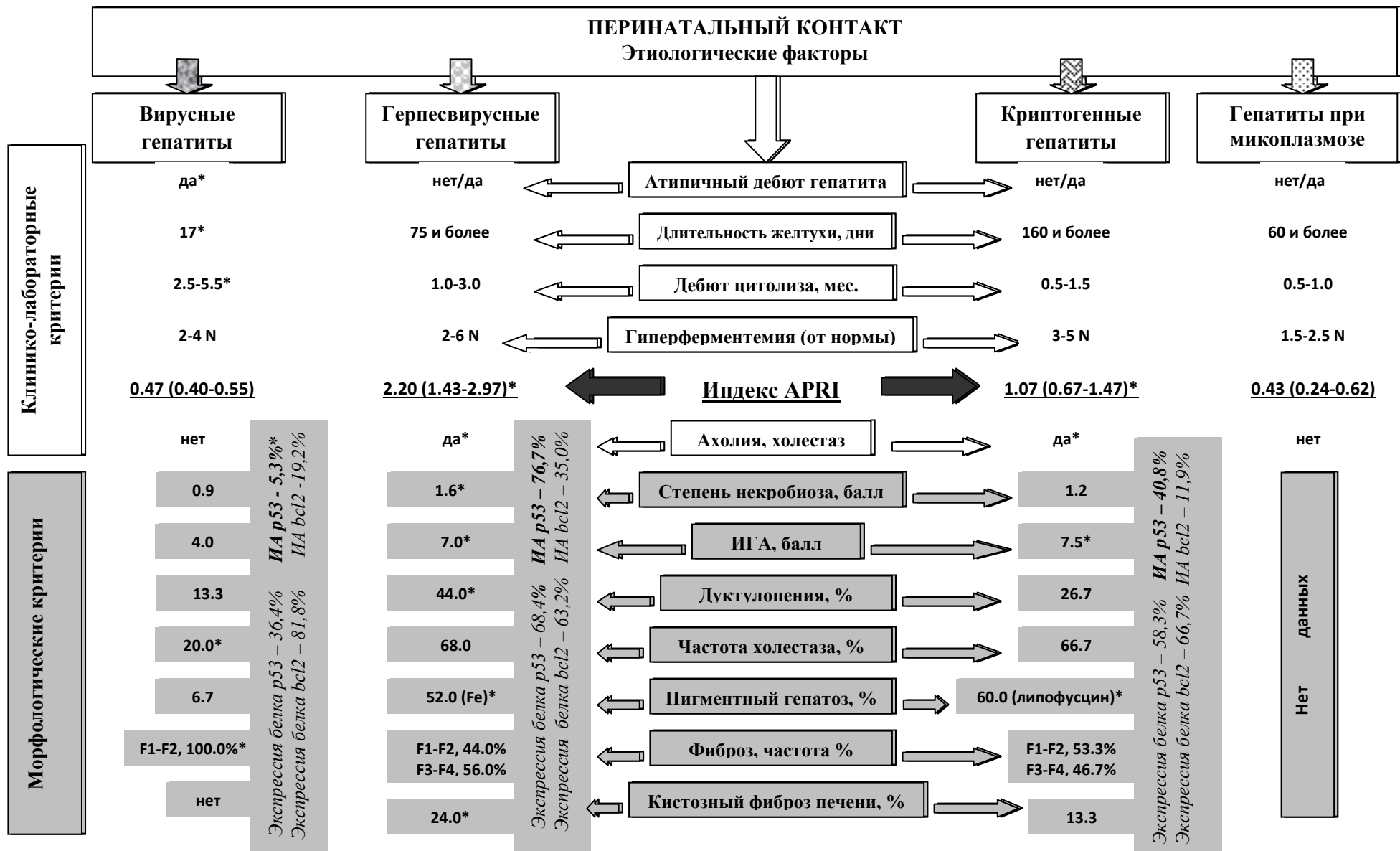


Рис. 14. Клинико-морфологические модели формирования гепатитов у детей с перинатальным контактом (где * p<0,05)

ТРЕТЬЕ ПОЛОЖЕНИЕ. Оптимизация и проведение протоколов лечения врождённого гепатита В и С, герпесвирусных гепатитов и гепатитов при микоплазмозе способствуют формированию стабильной клинико-лабораторной ремиссии. При раннем лечебном вмешательстве и длительной комплексной терапии удастся избежать рецидивирующего течения гепатитов.

Открытые рандомизированные контролируемые исследования (РКИ) протоколов лечения провели у 43 больных ВГС и у 158 детей, страдающих герпесвирусными гепатитами. В РКИ использовали лекарственные средства, разрешенные к применению у детей до трёх лет жизни на территории Российской Федерации. Родители, участковые педиатры были предупреждены о проведении контрольных исследований и возможных побочных реакциях во избежание серьёзных осложнений. Лаборанты, которые определяли показатели крови, не имели информации о протоколах лечения и ожидаемых результатах. Эффективность лечения оценивали по следующим критериям (Г.П. Мартынова и др., 2013), табл. 4.

Таблица 4

Критерии оценивания эффективности проведённого лечения

№ п/п	Оценка эффективности терапии	Описание критериев эффективности лечения
1.	НВО Непосредственный Вирусологический Ответ	Репликация возбудителя прекращается во время или сразу после завершения лечения
2.	СВО Стойкий Вирусологический Ответ	Репликация возбудителя отсутствует на протяжении шести месяцев после отмены лечения
3.	ОВО Отсутствие Вирусологического Ответа	Репликация возбудителя не прекращается во время или после отмены лечения
4.	НБО Непосредственный Биохимический Ответ	Нормализация уровня ферментов АлАТ, АсАТ происходит на фоне лечения
5.	СБО Стойкий Биохимический Ответ	Показатели АлАТ, АсАТ не превышают нормальный уровень шесть месяцев после лечения
6.	ОБО Отсутствие Биохимического Ответа	Активность ферментов АлАТ, АсАТ сохраняется без признаков нормализации показателей
7.	Рецидив гепатита	На фоне лечения либо в течение шести месяцев после завершения терапии происходит повторное повышение уровня АлАТ, АсАТ

При ВГС базисная терапия по протоколу «А» длилась 3,0 (1,5;4,5) мес., рис. 15. Противовирусная терапия по протоколу «АВ» стартовала поздно в возрасте 18,0 (15,5;23,0) мес. Больных начинали лечить по протоколу «В» в 8,0 (6,0;9,0) и протоколу «С» - 8,0 (5,5;12,0) мес.

Дети с ВГС продолжали оставаться хроническими носителями вируса, спонтанной элиминации РНК HCV не происходило. Только у четырёх детей, получивших лечение по протоколу «В», в возрасте 36-48 месяцев наблюдали снижение вирусной нагрузки до слабо определяемых значений. Пациенты ответили позитивно на ПВТ по протоколу «В»: СВО отмечали у 75,0% и СБО – 87,5% больных ($p=0,005$), рецидив гепатита состоялся у одного ребёнка (12,5%) при суперинфицировании HNV6 типа ($p=0,002$). По протоколу «АВ» у 81,8% детей отсутствовал вирусологический ответ ($p=0,006$), рецидив HCV-гепатита происходил у 63,6%, СБО удалось получить у 81,8% детей ($p=0,013$). По протоколу «С» был достигнут СВО у одного ребёнка (7,1%), СБО наблюдали у 57,1% и рецидив HCV-гепатита произошел у 71,4% больных ($p=0,003$). Лечение ВГС по протоколу «А», выжидательная тактика родителей и участковых педиатров дали негативные прогнозы: репликация HС-вируса сохранилась у 100,0% детей ($p<0,000$), СБО отмечали только у одного ребёнка (10,0%), рецидив гепатита наблюдали в 83,3% случаев ($p=0,002$).

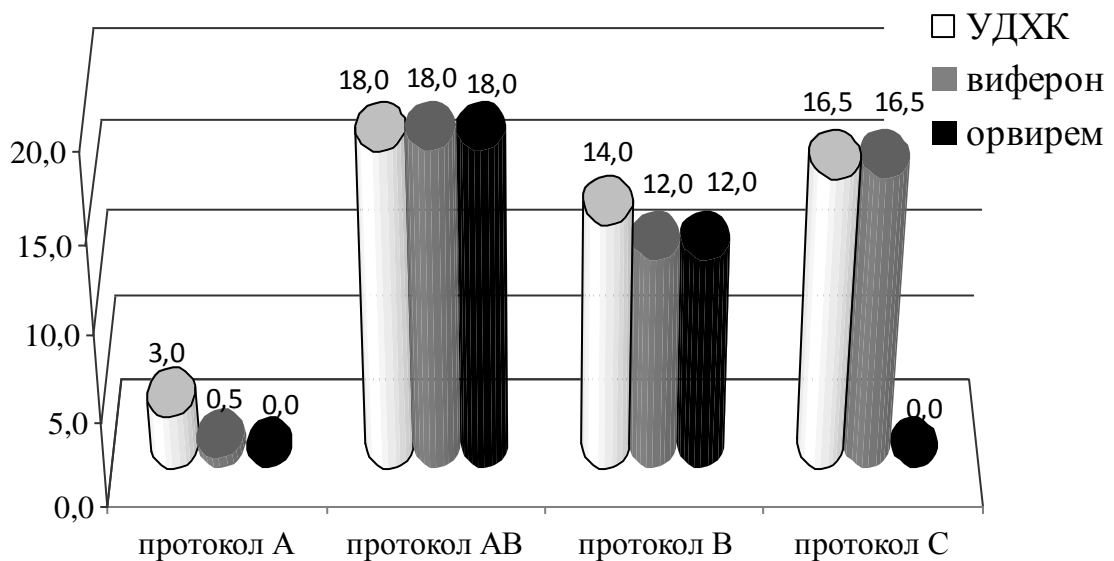


Рис. 15. Содержание протоколов лечения врождённого гепатита С и продолжительность назначения препаратов, мес.

Следовательно, у детей при ВГС спонтанной элиминации вируса не происходило, стабильную клиничко-лабораторную ремиссию наблюдали на фоне проведения противовирусной терапии по протоколу «В», которую назначали рано на стадии затяжного течения либо дебюта хронического HCV-гепатита и завершали спустя 12-18 месяцев.

Противовирусную терапию ГГ проводили по протоколу «В» в возрасте 4,0 (3,5;5,5) и протоколу «С» - 3,5 (3,5;7,5) мес., рис. 16. По протоколу «АВ» лечение дебютировало поздно – 9,5 (6,5;12,0) мес. Эффективность лечения ГГ

оценивали по следующим критериям: СВО получили у 97,8% и 83,3% пациентов, пролеченных протоколами «В» и «АВ» соответственно. Только у 1/3 больных по протоколу «А» и 1/2 детей по протоколу «С» удалось добиться СВО ($p < 0,001$).

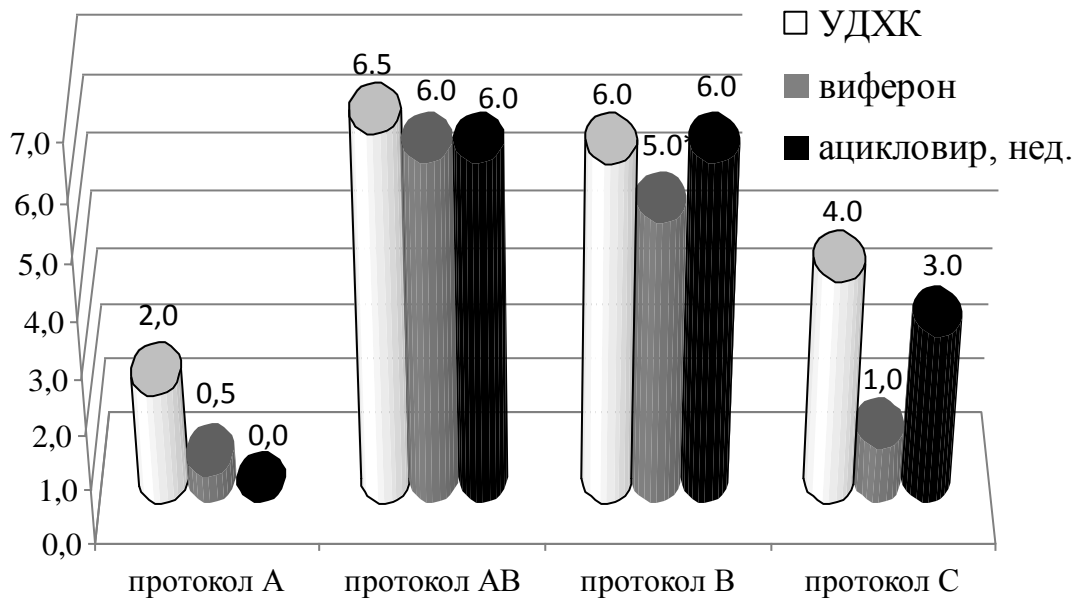


Рис. 16. Содержание протоколов лечения герпесвирусных гепатитов и продолжительность назначения препаратов, мес.

Частота достижения биохимической ремиссии в группах «А» и «С» составила 21,7% и 16,7% в сравнении с протоколами «АВ» 66,7% и «В» 96,8% случаев ($p < 0,001$). Рецидивирующее течение ГГ достоверно чаще наблюдали при лечении по протоколам «А» у 75,0%, «АВ» - 79,2%, «С» - 90,9% больных против 15,1%, пролеченных по протоколу «В» ($p < 0,0001$). Летальные исходы произошли в группе лечения «А» в 20,8%, «АВ» - 4,2%, «С» - 10,0% случаев в сравнении с протоколом «В», где не было ни одного случая гибели детей ($p < 0,0001$). В процессе катамнестического наблюдения пациентов, получивших ПВТ по протоколу «В» и «АВ», уровень трансаминаз оставался в пределах нормальных значений. Гиперферментемия сохранялась в группах лечения «А» и «С». Следовательно, при герпесвирусных гепатитах под влиянием комплекса препаратов, содержащих Виферон[®], Ацикловир-акри[®], Урсофальк-суспензию[®], на фоне раннего дебюта и длительной противовирусной терапии создаются оптимальные условия для подавления репликации вирусов герпеса, устраняются проявления воспаления и холестаза. Объективно отмечается наступление клинико-лабораторной ремиссии (КЛР): гепатит переходит в клиническую стадию выздоровления, а герпесвирусная инфекция – в латентную стадию хронического персистирования.

В настоящей работе мы анализировали результаты клинического исследования противовирусной терапии ВГВ у восьми детей. Назначение этиотропной терапии и наблюдение за больными было проспективным по

варианту «случай-контроль». Для достижения КЛР и с целью подавления репликации НВ-вируса применяли два противовирусных препарата, содержащих ламивудин и интерферон- α , в комплексе с УДХК. Оптимизация протокола лечения ВГВ у детей первого года жизни, ранний старт ПВТ в стадии затяжного течения либо дебюта хронического гепатита, позволили получить ремиссию у шести детей (75,0%). Два ребёнка (25,0%) начали противовирусную терапию после 16,0 месяцев жизни, у них отмечали рецидивы гиперферментемии, сохранялась репликация НВV.

Для лечения гепатитов при микоплазмозе применяли макролиды в комбинации с УДХК и интерфероном- α . Наблюдение за девятью больными было проспективным по варианту «случай-контроль». У больных исчезали проявления гепатолиенального синдрома, происходила нормализация уровня АлАТ и АсАТ, показателей билирубина и ЩФ, отмечали снижение титра антител в 4,4 раза. Рецидив микоплазмоза наблюдали у одного ребёнка (11,1%) в результате суперинфицирования в семье контактно-бытовым путём.

Таким образом, под влиянием длительной комбинированной противовирусной терапии вирусных и герпесвирусных гепатитов, антибактериальной терапии гепатитов при микоплазмозе создаются оптимальные предпосылки для подавления репликации возбудителей, устраняются проявления воспаления и холестаза, происходит клиническое выздоровление. Учитывая тот факт, что вирусы гепатитов В и С, герпеса 1, 2, 6 типов, Эпштейна-Барр и цитомегаловирус, возбудители микоплазмоза склонны к продолжительной персистенции, врач-педиатр может: 1) перевести активный гепатит в состояние клинико-лабораторной ремиссии; 2) подавить репликацию возбудителя(-ей); 3) исследовать динамику клинико-лабораторных показателей, инструментального обследования, маркёров репликации возбудителя(-ей) в условиях поликлиники. Такие последовательные шаги помогают успешно прогнозировать благоприятные исходы при гепатитах, контролировать динамику заболевания, не пропустить реактивацию болезни либо суперинфицирование при диспансерном наблюдении ребёнка на участке.

ЧЕТВЁРТОЕ ПОЛОЖЕНИЕ. При лечении герпесвирусных гепатитов наблюдается зависимость нормализации размеров печени и уровня щелочной фосфатазы, достижения биохимического и вирусологического ответа с динамикой повышения уровня ИЛ2, снижения концентрации гиалуроновой кислоты, уменьшения абсолютного количества моноцитов крови и их функциональной активности. На основании полученных данных разработана патогенетическая концепция иммуноопосредованного ответа при проведении противовирусной терапии.

Иммунологическое обследование провели у 43 детей группы 3, получивших лечение по протоколам «АВ» и «В». Состояние иммунного ответа оценивали в динамике до старта ПВТ и по завершению лечения. В группе 3АВ наблюдали 20 больных ГГ, в группе 3В – 23 детей. Первоначально детям проводили базисную терапию, в том числе применяли НеоЦитотект® у четырёх больных (два в каждой группе). Продолжительность базис-терапии составила в

группе 3АВ – 1,9 (95%ДИ:1,2-2,5) и 3В – 1,3 (0,9-1,7) мес., $p>0,05$. Показатели билирубина достоверно снизились, не достигнув нормального уровня, сохранялась гиперферментемия с тенденцией к нарастанию. Противовирусная терапия ГГ дебютировала в возрасте 5,9 (95%ДИ:4,2-7,6) и 3,3 (2,7-4,0) мес. соответственно ($p=0,002$).

После курса противовирусной терапии мы наблюдали снижение абсолютного количества лейкоцитов, лимфоцитов и моноцитов ($p<0,05$). В Т-клеточном звене изменения характеризовались уменьшением числа Т-хелперов CD3+CD4+ и цитотоксических лимфоцитов с фенотипами CD3+CD8+ и CD3-CD16+CD56+, рис. 17. Регистрировали увеличение популяции Т-клеток с маркерами CD3+CD16+CD56+, повышение количества CD19+ лимфоцитов, наблюдали увеличение уровня IgA, ЦИК ($p<0,004$).

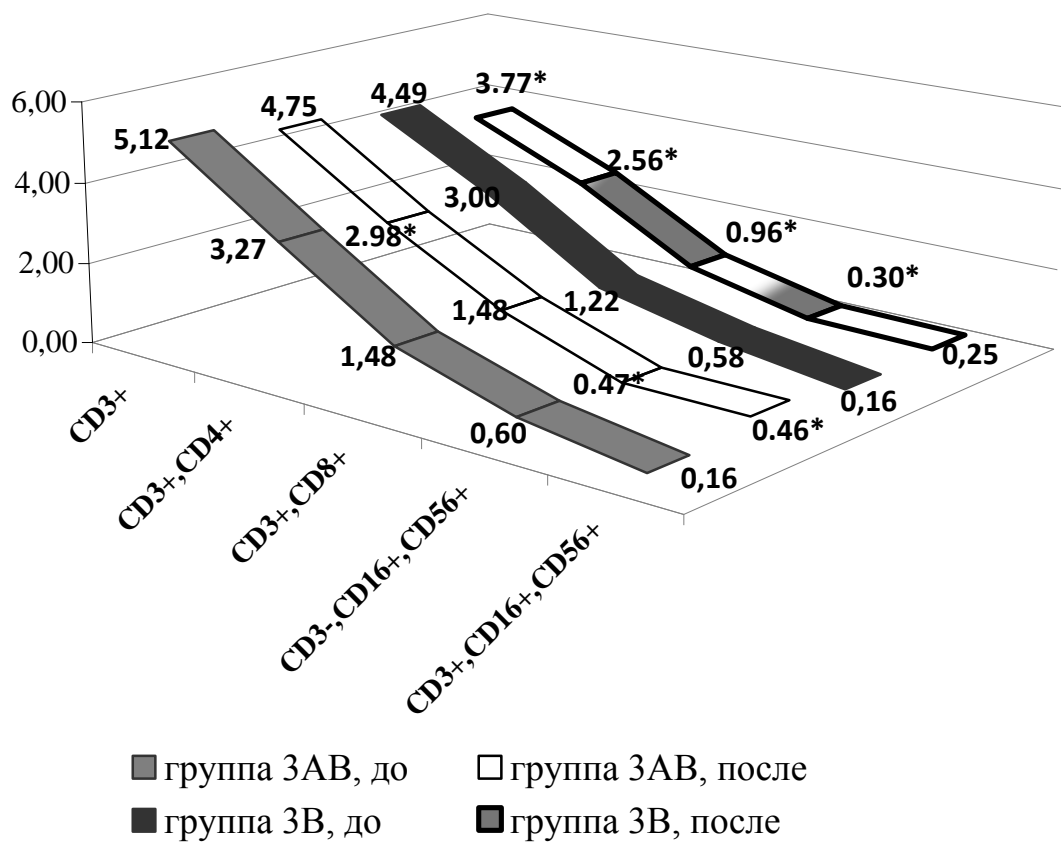


Рис. 17. Состояние клеточного звена иммунитета на фоне ПВТ герпес-гепатитов у детей первого года жизни, $10^9/л$ (* - критерий $p<0,05$)

Мы отмечали снижение поглотительной способности и внутриклеточной активности моноцитов ($p<0,008$). Функционирование НАДФ-оксидазной системы нейтрофилов оценивали с помощью спонтанного и стимулированного НСТ-теста, уровень которых оставался по-прежнему высоким после лечения. На фоне противовирусной терапии происходило достоверное снижение показателей TGF- β_1 и гиалуроновой кислоты, исчезла гепатомегалия, мы наблюдали подавление репликации вирусов, нормализацию уровня АлАТ и щелочной фосфатазы ($p<0,001$).

После лечения достоверно уменьшилось содержание IL1 β , увеличилась концентрация IL2 и IL10, появилась тенденция к снижению уровня IL8, произошла нормализация показателей IFN γ ($p < 0,020$), рис. 18.

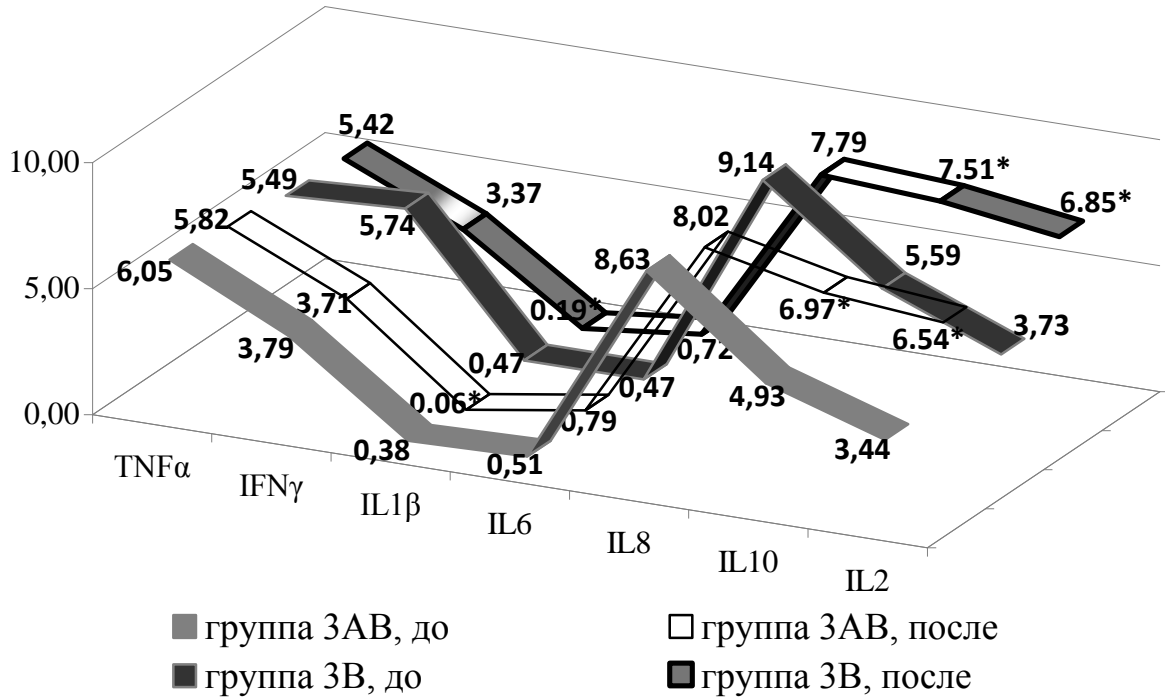


Рис. 18. Динамика показателей цитокинов на фоне лечения герпесвирусных гепатитов (* - критерий $p < 0,05$)

Методом дискриминантного анализа была установлена взаимосвязь нормализации клинико-лабораторных проявлений гепатитов с динамикой повышения уровня IL2, снижения продукции гиалуроновой кислоты, уменьшения абсолютного количества моноцитов и их функциональной активности. Уровень значимости отличий иммунного ответа по совокупности признаков: IL2, TGF- β_1 , гиалуроновая кислота, моноциты (абс.), НК-клетки с фенотипом CD3-CD16+CD56+, NKT-клетки с фенотипом CD3+CD16+CD56+, активность моноцитов, равен $p = 0,0001$. Чувствительность алгоритма составила 92,6%, специфичность – 85,7%, эффективность прогноза – 88,7%. Уровень значимости отличий совокупности клинико-иммунологических признаков, как: IL2, гиалуроновая кислота, количество моноцитов (абс.), активность моноцитов (%), увеличение размеров печени (см.), уровень АлАТ и ЩФ (ед/л), ДНК CMV в крови, непосредственный вирусологический и биохимический ответ, равен $p = 0,0001$. Чувствительность алгоритма составила 98,8%, специфичность – 92,4%, эффективность прогноза – 95,6%.

С учётом вышеизложенных фактов, нами предложена современная концепция иммунопосредованного ответа при проведении противовирусной терапии герпесвирусных гепатитов (рис. 19).

(Комментарий к рисунку 19. Жирным шрифтом обозначены исследованные параметры. Пунктирной линией выделены эффекторные и регуляторные клетки, возможные пути влияния).

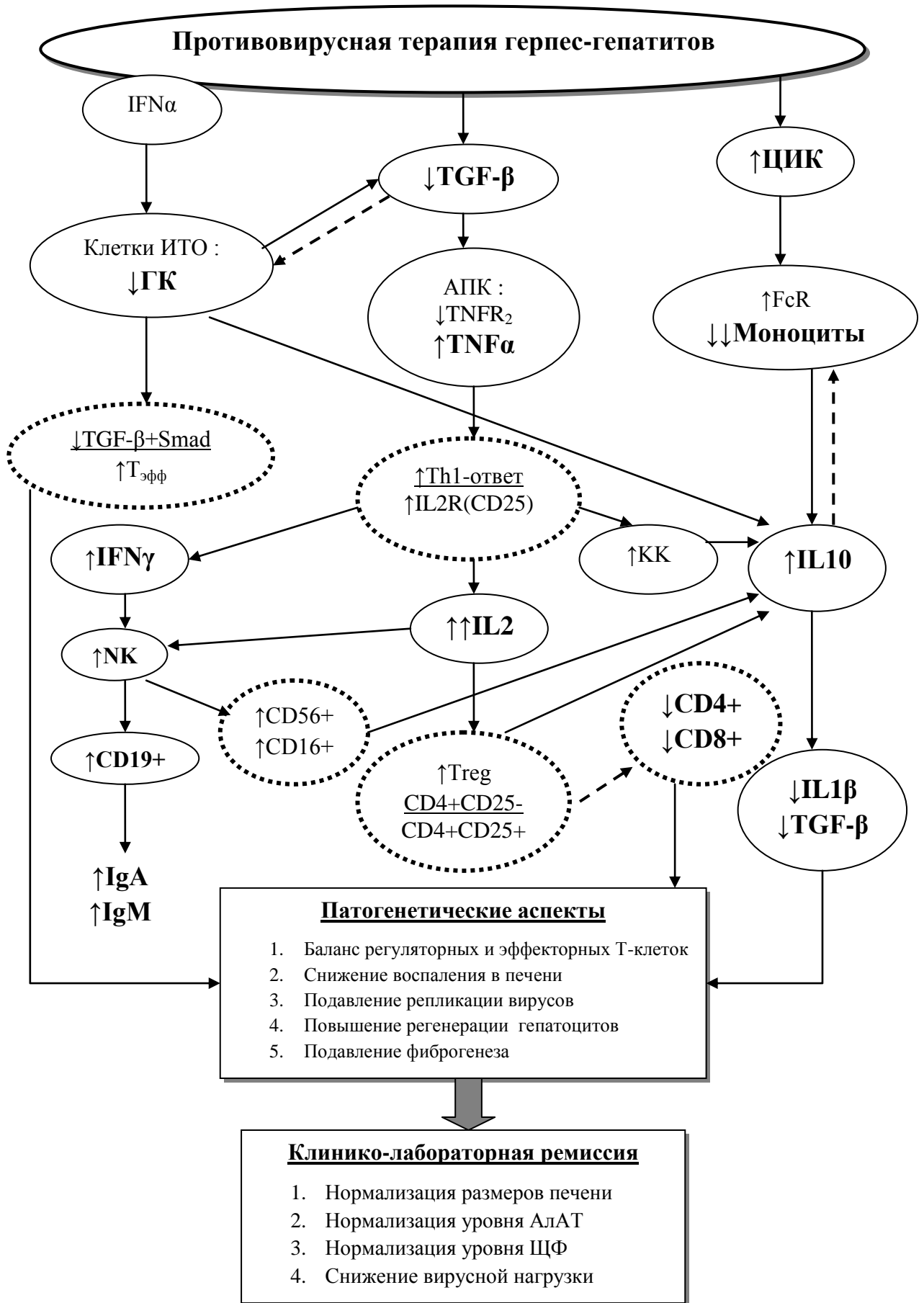


Рис. 19. Патогенетическая модель иммуноопосредованного ответа противовирусной терапии герпесвирусных гепатитов

Известно, что ростовым фактором для Th1 является IL2, а IL1 β запускает каскад провоспалительных цитокинов (А.В. Соснина и др., 2013). По-видимому, на фоне лечения ГГ повышается уровень экспрессии рецепторов IL2R на поверхности Th1-типа и увеличивается продукция IL2. Естественные Treg-клетки под влиянием IL2 обучают наивные CD4+CD25-лимфоциты супрессорной активности, превращая их в CD4+CD25+Treg-клетки, а продукция IL10 повышается благодаря активации фактора транскрипции STAT5 (S.G. Zheng et al., 2004). Одним из основных эффектов действия CD4+CD25+Treg и IL10 является снижение воспаления в тканях, обусловленное провоспалительными цитокинами и цитотоксическими лимфоцитами. Это способствует выживанию и длительной персистенции возбудителей оппортунистических инфекций, в частности, герпесвирусов. В исследованиях показано, что IL2 активирует рецепторы NK-клеток, а CD56+клетки, находясь преимущественно в паренхиме печени, обретают свойства Treg-клеток, продуцируя IL10 либо модулируя продукцию IL10 макрофагами через активацию лиганд аденозиновых рецепторов (L.Walker, 2009). Клетки Treg1 могут оказывать иммуносупрессивное действие на CD4+ и CD8+ лимфоциты.

На фоне лечения нами зарегистрировано достоверное повышение показателей ЦИК, подавление моноцитоза и снижение функциональной активности моноцитов. Известно, что апоптоз мононуклеарных клеток инициируется с помощью ЦИК, влияющих на их FcR-рецепторы (А.В. Соснина и др., 2013). Возможно, так в нашем исследовании происходит нормализация численности моноцитов периферической крови. Показано, что интерферон- γ стимулирует цитотоксическую активность NK-клеток, вызывая В-лимфоцитоз и продукцию иммуноглобулинов, что регистрируется в нашем исследовании (А. Gattoni et al., 2006). Интерферон- α способствует регенерации гепатоцитов, подавляя активность фиброгенеза в повреждённой ткани печени (М.В. Северов, 2006; К. Suzumura et al., 2008). В нашем исследовании на фоне лечения по протоколу «В» и «АВ» наблюдается достоверное снижение концентрации гиалуроновой кислоты и TGF- β_1 . Возможно, длительное применение экзогенного IFN α в протоколе противовирусной терапии оказывает антифиброгенное действие.

Ослабление сигнального пути TGF- β -Smad улучшает противовирусную функцию Т-эффекторов при хронической инфекции (R. Tinoco et al., 2009). Совместное действие TGF- β и IL10 обеспечивает контролируемый воспалительный ответ, способный специфично поражать патогены, не вызывая чрезмерной иммунопатологии собственных тканей (M.O. Li, R.A. Flavell, 2008). В функционировании CD8+NKT-клеток участвуют IFN γ совместно с IL10 (А. Gattoni et al., 2006). Популяции Т-клеток могут участвовать в экспрессии проапоптотической молекулы Vim, обеспечивая апоптоз гепатоцитов и клиренс вирусов в паренхиме печени, а являясь субпопуляцией Treg-клеток, они имеют корецептор CD16+, встречаются в ткани печени, селезёнке, костном мозге и экспрессируют FasL-лиганды, участвуя в Fas-опосредованном апоптозе (Н.М. Калинина и др., 2008).

Таким образом, в патогенезе поражений печени при герпесвирусных инфекциях играет роль комплекс эффекторных механизмов защиты с инициацией процессов индукции и ингибирования апоптоза. Мы позиционируем принцип эффективного управления воспалением. Предложенный нами протокол лечения герпесвирусных гепатитов у детей грудного возраста позволяет получить клинико-лабораторную ремиссию через коррекцию механизмов иммунного ответа с подавлением репликации вирусов. Иммунорегуляторные сигналы могут менять силу противовирусной активности и предотвращать чрезмерное повреждение паренхимы печени. Позитивное взаимодействие и баланс сил на фоне этиотропной и патогенетической терапии, активация регуляторов иммунного ответа приводят к благоприятному исходу течения гепатитов.

ВЫВОДЫ

1. Информативными маркерами формирования гепатитов у детей первого года при реализации риска перинатального инфицирования являются: угроза прерывания беременности, эпизоды ОРЗ у беременной женщины, признаки ФПН, продолжительный безводный период, затяжная желтуха, увеличение размеров печени и селезёнки, гипербилирубинемия в возрасте одного месяца жизни, гиперферментемия, увеличение индекса APRI, выявление антител IgG к CMV и HSV у ребёнка, увеличение тимуса, наличие ПП ЦНС и СВВД. Эффективность прогноза составляет 96,7%. Прогностическими критериями включения больных в группу вирусных либо герпесвирусных гепатитов являются: наличие в акушерском анамнезе ППМ, перинатальный контакт с матерью-носителем ХГС, ЦМВИ, продолжительность желтухи, дебют гиперферментемии, размеры селезёнки, уровень щелочной фосфатазы, лимфадения, ДХЛЖ, синдром пирамидной недостаточности, гипертензионно-гидроцефальный синдром, СВВД, выявление у ребёнка маркеров HBsAg, antiHCV(сум) либо antiCMV IgG. Эффективность прогноза составляет 92,6%.

2. Дети с гепатитами EBV-этиологии рождаются недоношенными в гестационном возрасте 32-34 недели с проявлениями СЗВУР плода, МФН и ВЖК. В крови определяются высокие показатели общего билирубина и трансаминаз в сравнении с герпесвирусными гепатитами другой этиологии, отмечается ранний дебют ахолии в возрасте 4-6 недель. Индекс APRI достигает значений 1,6-2,5 ед., а в материалах гепатобиопсии при ЭБВИ отмечается тяжёлая стадия фиброза либо цирроз печени. При врождённом гепатите С, ассоциированном с герпесвирусными инфекциями, наблюдается достоверно высокая активность трансаминаз как в дебюте заболевания, так и в процессе проведения противовирусной терапии. Показатель индекса APRI при микст-ВГС и ГГ составляет 0,8-1,6 ед., при моно-ВГС – 0,5-0,8 ед.

3. У $\frac{3}{4}$ больных герпесвирусными гепатитами (ГГ) в возрасте 2,5-14,0 месяцев регистрируется слабый, умеренный либо тяжёлый фиброз печени, а формирование цирроза печени происходит динамично в ускоренных темпах на фоне выраженного некробиоза и индукции процессов апоптоза гепатоцитов. При ГГ отмечается высокий уровень повреждения паренхимы печени, характеризующийся умеренной и выраженной степенью некробиоза гепатоцитов, активацией и дисбалансом апоптоза, развитием гепатита и холангиолита, экспрессией антигенов вирусов в гепатоцитах и эпителии желчных протоков, с формированием дуктулопении и тяжёлого фиброза. При вирусных гепатитах регистрируется слабая степень некробиоза гепатоцитов и минимальные признаки поражения билиарной системы, отмечается слабый и умеренный фиброз печени, низкий либо умеренный уровень активации апоптоза. Приоритетными маркерами ГГ в сравнении с ВГ является совокупность признаков: ахолия, выраженная гепатомегалия, высокий показатель индекса APRI, тяжёлая степень нарушения долькового строения печени, выраженный фиброз, пигментный гепатоз и спленомегалия.

4. Цирроз печени у детей первого года формируется преимущественно на фоне активной ЦМВИ с идентификацией антигенов CMV pp65 в цитоплазме гепатоцитов, с высокой вероятностью обнаружения дуктулопении, перидуктального склерозирования, кистозного фиброза печени. Клинико-инструментальными маркерами прогнозирования исхода гепатитов в цирроз печени являются: дебют ахолии в возрасте 6-8 недель, повышение РФП в селезёнке по данным сцинтиграфии печени, признаки портальной гипертензии и увеличение диаметра v.portae по данным УЗИ. Информативным критерием формирования тяжелого фиброза либо цирроза печени является показатель индекса APRI более 2,0 единиц, при значениях менее 1,5 единиц подозрения о тяжелом фиброзе не правомочны. Летальность при циррозе печени обусловлена печеночной недостаточностью и составляет 3,4% случаев.

5. При врожденном гепатите С ранний старт противовирусной терапии по протоколу «В» и длительное лечение не менее 12 месяцев приводят к достижению стойкого вирусологического ответа (СВО) у 75,0% пациентов, стойкий биохимический ответ (СБО) отмечается у 87,5% больных, рецидив гепатита происходит в 12,5% случаев. При позднем дебюте ПВТ по протоколу «АВ» лишь у 18,2% пациентов регистрируется СВО, у 81,8% отмечается СБО, рецидив гепатита происходит в 63,6% случаев. При лечении ВГС по протоколу «С» наблюдается низкий СВО и СБО у 7,1% и 57,1% больных соответственно, рецидив гепатита происходит в 71,4% случаев. Базисное лечение ВГС по протоколу «А» дает негативные прогнозы: репликация HCV не прекращается у 100,0% больных, гиперферментемия сохраняется у 90,0% детей, рецидив гепатита происходит в 83,3% случаев. Оптимизация и раннее назначение протокола лечения врожденного гепатита В в возрасте 8-9 месяцев позволяет получить клинико-лабораторную ремиссию у 75,0% больных. Поздний старт противовирусной терапии после 16,0 мес. жизни приводит к рецидивирующему течению гепатита с сохранением репликации вируса HBV.

6. При лечении герпесвирусных гепатитов по протоколу «В» и «АВ» частота достижения стойкого вирусологического ответа составляет 97,8% и 83,3% соответственно, в сравнении с протоколами «А» 31,8% и «С» 54,5% случаев. Частота достижения биохимического ответа по протоколу «А» и «С» достоверно ниже, соответственно 21,7% и 16,7% случаев, в сравнении с протоколами «АВ» 66,7% и «В» 96,8%. Рецидивирующее течение гепатитов отмечается при лечении протоколами «А» у 75,0%, «АВ» - 79,2%, «С» - 90,9% больных против 15,1% по протоколу «В». Летальные исходы зафиксированы в группах «А» в 20,8%, «АВ» - 4,2%, «С» - 10,0% случаев в сравнении с протоколом «В», в котором не зарегистрировано ни одного случая гибели детей. В катамнезе у детей, получивших терапию по протоколу «В» и «АВ», уровень трансаминаз остается в пределах нормы, а в группах «А» и «С» сохраняется гиперферментемия ($p < 0,007$). На фоне комплексной и длительной ПВТ происходит иммунопосредованный ответ: снижается уровень CD4+, CD8+ и CD3-CD16+CD56+ лимфоцитов, увеличивается продукция IL2, IL10, IgA, повышается количество CD19+клеток, уменьшается концентрация IL1 β и TGF-

β_1 . Зарегистрировано повышение показателей ЦИК, подавление моноцитоза и снижение функциональной активности моноцитов. Выявлена зависимость нормализации размеров печени, уровня щелочной фосфатазы, достижения непосредственного биохимического и вирусологического ответа с динамикой повышения уровня IL2, снижения продукции гиалуроновой кислоты, уменьшения абсолютного количества моноцитов и их функциональной активности.

7. Прогностическими критериями определения этиологии гепатитов у младенцев при наличии активного микоплазмоза/уреаплазмоза в анамнезе у матери являются: ППМ во время беременности, у детей – дебют синдрома цитолиза, увеличение размеров левой доли печени и селезёнки, анемия и конъюнктивит. Курс макролидов в комплексе с УДХК и интерфероном- α устраняет проявления гепатолиенального синдрома, нормализует уровень ферментов, показатели билирубина и щелочной фосфатазы. На фоне комплексной терапии снижается титр антител в 4,4 раза. Рецидив микоплазмоза у ребёнка возможен в результате суперинфицирования в семье (11,1%).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Индекс APRI следует применять в клинической практике педиатра в качестве суррогатного маркера для определения более тяжелого варианта течения гепатитов: у здоровых детей он принимает значение 0,3 (95%ДИ:0,2-0,3), при ВГ – 0,5 (0,4-0,6), ГГ – 2,2 (1,4-3,0), КГ – 1,1 (0,7-1,5), микоплазмозе – 0,4 (0,2-0,6). При гепатитах EBV-этиологии индекс APRI достигает уровня 2,0 (95%ДИ:1,6-2,5) в сравнении с герпесвирусными гепатитами другой этиологии. При микст-гепатите ВГС и ГГ индекс APRI повышается до 1,2 (95%ДИ:0,8-1,6) в сравнении с моно-ВГС – 0,7 (0,5-0,8). Высокая информативность показателя в совокупности с простотой и доступностью выполнения исследования позволяет рекомендовать индекс APRI для контроля эффективности лечения.

2. В протоколах противовирусной либо антибактериальной терапии следует придерживаться принципов: а) раннего назначения этиотропного лечения; б) длительного проведения противовирусной либо антибактериальной терапии, а не только до нормализации клинико-лабораторных показателей; в) лечение должно быть патогенетически обоснованным, в частности, длительно назначается УДХК, интерферон- α ; г) рецидив гепатита отмечается при суперинфицировании, поэтому алгоритм обследования следует повторять на предмет обнаружения иных маркеров; д) при сохранении гиперферментемии у пациента следует возобновить поиск наследственных факторов риска.

3. После завершения лечения и достижения стойкой клинико-лабораторной ремиссии, детей следует иммунизировать по индивидуальной программе, стартовать можно вакциной против гепатита В. Иммунизацию против вирусов кори, краснухи, паротита, ветряной оспы, клещевого энцефалита, ротавирусной инфекции, полиомиелита (оральная форма) и гепатита А можно запланировать в более поздние сроки. Перед вакцинацией необходимо провести контроль уровня трансаминаз, анализов крови и мочи.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Дифференциальная диагностика «затяжных желтух» у детей раннего возраста / **Р. А. Ушакова** // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Инфекционные заболевания у детей: проблемы, поиски, решения. - Санкт-Петербург, 18-20 мая 2004 года. - С.146.
2. О влиянии TORCH-ассоциированных инфекций на затяжное течение желтух у новорожденных и детей раннего возраста / **Р. А. Ушакова** // Уральский медицинский журнал. - 2004. - № 5 (6). - С.9-12.
3. О роли выявления маркеров TORCH-комплекса при затяжном течении желтух у новорожденных и детей раннего возраста / **Р. А. Ушакова**, С. Н. Козлова // Специализированная помощь детям в Екатеринбурге и Свердловской области. Материалы городской научно-практической конференции. - 2004. - С.20-23.
4. Острые вирусные гепатиты у детей. Диагностика. Лечение. Профилактика (Обзорная лекция) / **Р. А. Ушакова** // Уральский медицинский журнал. - 2005. - № 5 (15). - С.7-13.
5. **Затяжное течение желтухи у новорожденных и детей раннего возраста и роль TORCH-инфекций** / **Р. А. Ушакова** // **Лечебное дело. - 2006. - № 2. - С.14-21.**
6. Случай гигантоклеточного гепатита с трансформацией в билиарный цирроз печени у ребёнка первого года жизни / **Р. А. Ушакова**, Н. Б. Крохина, С. Н. Козлова, Н. А. Цап, О. П. Шеина, М. В. Цыпленкова // Детская гастроэнтерология. - 2007. - №2 (12). - С.16-18.
7. Гигантоклеточный гепатит у ребёнка первого года жизни с неблагоприятным исходом в билиарный цирроз печени / **Р. А. Ушакова**, С. Н. Козлова, Н. Б. Крохина, О. П. Шеина // Уральский медицинский журнал. - 2007. - № 5. - С.20-23.
8. Цирроз печени у ребёнка, сформировавшийся после дебюта аутоиммунного гепатита микст-герпес и HBV- вирусной этиологии / **Р. А. Ушакова**, Н. Б. Крохина, Л. Н. Малямова, О. П. Шеина, Л. В. Переплетчикова, А. А. Созинов // Вестник уральской медицинской академической науки. - 2007. - № 2 (16). - С.138-141.
9. **Современные аспекты поражения гепатобилиарной системы у детей** / **Р. А. Ушакова**, Н. Б. Крохина, Н. В. Никитина, Я. М. Кобелева // **Вестник уральской медицинской академической науки. - 2008. - № 2 (20). - С.135-139.**
10. Случай обратимости цирроза печени у ребёнка с хроническим диффузным заболеванием печени / **Р. А. Ушакова**, Н. Б. Крохина // Уральский медицинский журнал. - 2008. - № 6 (46). - С.55-56.
11. Неонатальный гигантоклеточный гепатит с трансформацией в билиарный цирроз печени у ребёнка первого года жизни / **Р. А. Ушакова**, Н. Б. Крохина, С. Н. Козлова, Н. А. Цап // Клиническая гепатология. - 2008. - №4 (4). - С.45-46.
12. **Морфологическая характеристика патологии печени у детей первого года жизни (по материалу гепатобиопсий)** / **Н. Б. Крохина**, **Р. А. Ушакова**, **Я. М. Кобелева** // **Морфологические ведомости. - №3 (4). - 2008. - С.170-173.**

13. **Желтухи периода новорождённости. Роль инфекций в формировании затяжного варианта течения желтухи у детей раннего возраста / Р. А. Ушакова // Уральский медицинский журнал. - 2009. - №7 (61). - С.5-13.**

14. Неонатальный холестаз и морфологическая характеристика печени у детей первого года жизни / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун, Н. Б. Крохина, Е. С. Беликов, Я. М. Кобелева, Л. М. Зигулева, С. Н. Тупоногов, М. А. Шварц // Вестник Уральской государственной медицинской академии. - 2009. - Вып. 20. - С.154-162.

15. **Значение гепатобиопсии в диагностике патологии печени у детей первого года жизни / Н. Б. Крохина, Я. М. Кобелева, Р. А. Ушакова // Архив патологии. - 2010. - № 1. - С.19-23.**

16. **Клинико-морфологические особенности поражения гепатобилиарной системы у детей первого года жизни / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун, Н. Б. Крохина // Уральский медицинский журнал. - 2010. - № 6 (71). - С.44-49.**

17. **Современные аспекты формирования затяжной желтухи у новорождённых детей / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун // Вестник уральской медицинской академической науки. - 2010. - № 2 (30). - С.33-36.**

18. Клинико-эпидемиологические и морфологические особенности повреждения гепатобилиарной системы у детей раннего возраста / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун, Н. Б. Крохина // Материалы V Ежегодного Конгресса специалистов перинатальной медицины «Современная перинатология: организация, технологии и качество». - Москва, 27-29 сентября 2010. - Вопросы практической педиатрии. - 2010. - Т. 5.- прилож. № 1. - С.87.

19. Ультрасруктурные нарушения гепатоцитов при поражении печени у детей раннего возраста / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун, С. В. Пичугова, Л. Г. Тулакина, Л. М. Зигулева, М. А. Шварц, С. Н. Тупоногов // Лабораторная диагностика в клинике инфекционной и соматической патологии: сб. науч. трудов под ред. Я. Б. Бейкина, В. В. Фомина, В. А. Шалаева. - Екатеринбург, издат. АМБ. - 2010. - С.100-104.

20. **Актуальные проблемы поражения гепатобилиарной системы у детей раннего возраста / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун, М. М. Фадеева, Ю. Г. Лагерева, С. Н. Боярский, Н. Б. Крохина // там же. - 2010. - С.105-112.**

21. **Современный алгоритм обследования новорождённых и детей первого года жизни при затяжном варианте течения желтухи / Р. А. Ушакова // там же. - 2010. - С.113-120.**

22. Особенности акушерского анамнеза у детей с проявлениями гепатита, рождённых в группе риска перинатального инфицирования / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун // Материалы I Международного конгресса по перинатальной медицине и VI Ежегодного Конгресса специалистов перинатальной медицины. - Москва, 16-18 июня 2011. - С.161.

23. **Прогностическое значение клинико-лабораторных маркёров поражения печени у детей первого года жизни с перинатальными инфекциями / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун // там же. - С.161.**

24. **Клинико-морфологические варианты нарушения структуры печени при цитомегаловирусной инфекции у детей первого года жизни (2 случая**

из практики) / **Р. А. Ушакова, Н. Б. Крохина, Я. М. Кобелева, М. А. Шварц, С. Н. Тупоногов** // **Вестник уральской медицинской академической науки. - 2011. - № 2 (34). - С.37-40.**

25. Акушерский анамнез у детей, рождённых в семьях по перинатальному контакту с вирусными гепатитами и TORCH-ассоциированными заболеваниями / **Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун** // **Материалы Всероссийского ежегодного конгресса «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика».** - Санкт-Петербург, 5-6 октября 2011. - Т. 3, № 3. - С.98.

26. Особенности течения гепатита у детей первого года жизни, рождённых в группе риска перинатального инфицирования / **Р. А. Ушакова, М. А. Шварц, С. Н. Тупоногов** // там же. - С.98.

27. Особенности течения гепатитов у детей первого года жизни / **Р. А. Ушакова** // **Уральский медицинский журнал. - 2012. - № 1 (93). - С.128-133.**

28. Современные подходы к диагностике гепатитов у детей первого года жизни / **Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун** // **Материалы XVI Конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии».** - Москва, 24-27 февраля 2012. - С.783.

29. Common Hepatitis Features In First Life Year Children / **R. A. Ushakova** // там же. - С.1040.

30. Особенности течения и диагностики гепатитов у детей первого года жизни при врождённом гепатите С и уреоплазмозе / **Р. А. Ушакова** // **Материалы IV Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням.** - Москва, 26-28 марта 2012. - **Инфекционные болезни.** - Т. 10, прилож. № 1. - 2012. - С.397.

31. Сравнительная характеристика гепатитов у детей раннего возраста при врождённом гепатите С и цитомегаловирусной инфекции / **Р. А. Ушакова** // там же. - С.98.

32. Comparative analysis of hepatitis in infants with congenital hepatitis C and cytomegalovirus infection / **R. A. Ushakova** // **Материалы IV Конгресса педиатров стран СНГ «Ребёнок и общество: проблемы здоровья, развития и питания».** – Львов, 25-26 апреля 2012. - С.17.

33. Hepatitis course patterns and diagnosis in infants with congenital hepatitis C and ureaplasmosis / **R. A. Ushakova** // там же. - С.18.

34. Гепатиты у детей первого года жизни / **Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун** // **Материалы Второго Конгресса педиатров Урала с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии».** - Вестник Уральской государственной медицинской академии, вып. № 24. - 2012. - С.181.

35. Clinical and morphological features of liver disease in first life year children with congenital hepatitis C and cytomegalovirus infection / **R. A. Ushakova, O. P. Kovtun, I. E. Valamina, N. B. Krokhina, A. M. Nikolaeva, L. M. Ziguleva, M. A. Schwartz, S. N. Tuponogov** // **Prague Hepatology meeting 2012, 20-22 sept.** - P.137-138.

36. Гепатиты у детей первого года жизни при цитомегаловирусной и герпесвирусной инфекции V1 типа / **Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун** // **Материалы VII Ежегодного Конгресса специалистов перинатальной медицины**

«Современная перинатология: организация, технологии, качество». - Москва, 24-25 сентября 2012. - С.45-46.

37. Современная этиология гепатитов у детей раннего возраста / **Р. А. Ушакова**, О. П. Ковтун // Материалы IV Российского форума «Педиатрия Санкт-Петербурга: опыт, инновации, достижения». - 27-28 сентября 2012. - С.238-242.

38. Ультразвуковые изменения гепатоцитов при воспалении печени у детей раннего возраста / **Р. А. Ушакова**, Я. Б. Бейкин, С. В. Пичугова, М. А. Шварц, С. Н. Тупоногов // там же. - С.242-244.

39. Сравнительная характеристика гепатитов у детей первого года жизни при цитомегаловирусной инфекции и герпесвирусной инфекции 6 типа / **Р. А. Ушакова**, О. П. Ковтун // Материалы Всероссийского ежегодного конгресса «Инфекционные болезни у детей: диагностика, лечение и профилактика». - Санкт-Петербург, 17-18 октября 2012. - С.117.

40. Клинико-морфологические особенности поражения печени у детей первого года жизни при врожденном гепатите С и цитомегаловирусной инфекции / **Р. А. Ушакова**, Н. Б. Крохина, И. Е. Валамина, Е. Ю. Мещерякова, А. М. Николаева, Л. М. Зигулева, М. А. Шварц, С. Н. Тупоногов // там же. - С.117-118.

41. Особенности течения гепатитов у детей первого года жизни при герпесвирусных инфекциях / **Р. А. Ушакова**, О. П. Ковтун // Материалы XI Российского конгресса «Инновационные технологии в педиатрии и детской хирургии». – Прилож. к журналу «Российский вестник перинатологии и педиатрии». - Раздел 2: Педиатрия. - Москва, 23-25 октября 2012. - С.64.

42. Особенности клиники и структурных нарушений печени у детей первого года жизни при врожденном гепатите С и цитомегаловирусной инфекции / **Р. А. Ушакова**, Н. Б. Крохина, И. Е. Валамина, Е. Ю. Мещерякова, А. М. Николаева, Л. М. Зигулева, М. А. Шварц, С. Н. Тупоногов // там же. - С.64-65.

43. Comparative analysis of hepatitis in infants with congenital hepatitis C and cytomegalovirus infection / **R. A. Ushakova**, O. P. Kovtun // там же. - С.42.

44. Отличительные особенности дебюта гепатита у детей первого года жизни при врожденной цитомегаловирусной инфекции и гепатите С / **Р. А. Ушакова**, О. П. Ковтун, И. Е. Валамина, Н. Б. Крохина, Е. С. Беликов, Я. М. Крохалева, Л. М. Зигулева, М. А. Шварц, С. Н. Тупоногов, А. М. Николаева // Сб. материалов к IX Российской конференции с международным участием «Педиатрия и детская хирургия в Приволжском федеральном округе». - Практическая медицина. - Казань, 20-21 ноября 2012. - № 7 (63). - С.108.

45. Цитомегаловирусные гепатиты у детей первого года жизни и персонифицированный протокол противовирусной терапии / **Р. А. Ушакова**, О. П. Ковтун // Материалы V Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням. - Москва, 25-27 марта 2013. - С.411.

46. Клинико-морфологические варианты дебюта гепатитов при врожденной цитомегаловирусной инфекции и гепатите С / **Р. А. Ушакова**, О. П. Ковтун, И. Е. Валамина, Н. Б. Блинкова, Я. М. Крохалева, Л. М.

Зигулева, М. А. Шварц, С. Н. Тупоногов, А. М. Николаева // Журнал инфектологии. - 2013. - Т. 5, № 1. - С.28-34.

47. Клинические проявления и оптимизация лечения цитомегаловирусных гепатитов у детей первого года жизни / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун, О. П. Шеина, С. В. Пустынникова // Вестник уральской медицинской академической науки. - 2013. - № 4 (46). - С.71-74.

48. Клинические проявления и персонифицированный протокол лечения цитомегаловирусных гепатитов у детей первого года жизни / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун // Практическая медицина. - 2014. - № 2 (78). - С.130-135.

49. Иммунный статус детей с герпесвирусными гепатитами / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун // Медицинская наука и образование Урала. - 2014. - № 4 (80). - с.29-33.

50. Гепатиты у детей первого года жизни / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун // Вопросы практической педиатрии. - 2014. - Т. 9, № 6. - С.17-23.

51. Ушакова Р.А. Способ лечения врождённого гепатита С у детей первого года жизни. Патент № 2424794, приоритет от 30.12.2009, регистрация 27.07.2011.

52. Ушакова Р.А. Способ лечения детей с проявлениями затяжной желтухи в периоде новорождённости. Патент № 2432938, приоритет от 12.10.2009, регистрация 10.11.2011.

53. Ушакова Р.А. Способ диагностики затяжного варианта течения желтухи у новорождённых и детей первого года жизни. Патент № 2440579, приоритет от 28.10.2009, регистрация 20.01.2012.

54. Ушакова Р.А. Способ лечения герпесгепатитов. Патент № 2441646, приоритет от 30.12.2009, регистрация 10.02.2012.

55. Ушакова Р.А. Способ лечения врождённого гепатита В у детей первого года жизни. Патент № 2478397, приоритет от 30.12.2009, регистрация 10.04.2013.

56. Ушакова Р.А. Способ лечения парвовирусной инфекции В19 у детей раннего возраста. Патент №2487708, приоритет от 12.03.2012, регистрация от 20.07.2013.

57. Ушакова Р.А., Ковтун О.П. Способ оценки степени фиброза печени у детей раннего возраста с помощью индекса APRI. Заявка №2015100919/15(001237), приоритет от 13.01.2015. Решение о выдаче патента принято, регистрация от 15.02.2016.

58. Особенность течения врождённого гепатита С, ассоциированного с герпесвирусными инфекциями / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун, С. В. Пустынникова, О. П. Шеина // Вестник Уральского государственного медицинского университета. - 2015. - № 4 (31). - С.86-88.

59. Состояние иммунитета у детей первого года жизни, страдающих герпесвирусными гепатитами / Р. А. Ушакова, О. П. Ковтун, С. В. Пустынникова, Я. Б. Бейкин, Ю. Г. Лагерёва // там же. - С.89-93.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АлАТ	Аланинаминотрансфераза
АПК	Антигенпрезентирующая клетка (макрофаг)
АсАТ	Аспартатаминотрансфераза
ВГВ (ВГС)	Врождённый гепатит В (С)
ВЖК	Внутрижелудочковые кровоизлияния
ГВ	Гестационный возраст
ГВИ	Герпесвирусные инфекции
ГГТП	Гамма-глутамилтранспептидаза
ГИС	Гистологический индекс склероза (фиброза)
ГК	Гиалуриновая кислота
ДХЛЖ	Дополнительная хорда левого желудочка
ЗППП	Заболевания, передаваемые половым путём
ИГА	Индекс гистологической активности
КК	Клетки Купфера
МФН	Морфофункциональная незрелость (плода)
ОАА	Отягощённый акушерский анамнез
ОБ	Общий билирубин
ПБ	Прямой билирубин
ПВТ	Противовирусная терапия
ПК	Перинатальный контакт
ППМ	Патологическая прибавка массы у беременной
ПП ЦНС	Перинатальное поражение ЦНС
РФП	Радиофармпрепарат
СВВД	Синдром вегето-висцеральных дисфункций
СЗВУР	Синдром задержки внутриутробного развития (плода)
УДХК	Урсоде(з)оксихолевая кислота
ФПН	Фетоплацентарная недостаточность
ХГВ (ХГС)	Хронический гепатит В (С)
ХДЗП	Хронические диффузные заболевания печени
ЦИК	Циркулирующие иммунные комплексы
ЦМВИ	Цитомегаловирусная инфекция
ЭБВИ	Эпштейн-Барр вирусная инфекция
CMV	Цитомегаловирус
DNA HBV	ДНК вируса гепатита В
EBV	Вирус Эпштейна-Барр
Ig A, M, G	Иммуноглобулины А, М, G
IL	Интерлейкины
IFN α , γ	Интерфероны α , γ
RNA HCV	РНК вируса гепатита С
TGF- β_1	Трансформирующий фактор роста (ТФР- β_1)
TNF α	Фактор некроза опухоли (ФНО α)
Treg	T-клетки регуляторные

УШАКОВА
РИМА АСХАТОВНА

ГЕПАТИТЫ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА, РОЖДЕННЫХ
В ГРУППЕ РИСКА ПЕРИНАТАЛЬНОГО ИНФИЦИРОВАНИЯ.
ОПТИМИЗАЦИЯ ЛЕЧЕНИЯ И ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ИСХОДОВ

14.01.08 – педиатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Автореферат напечатан по решению профильной комиссии
ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России
от 9 июня 2016 г.

Подписано в печать 10.06. 2016 г. Формат 60x84 1/16 Усл. печ. л. 1,0. Тираж 130 экз.
Заказ № . Отпечатано в типографии ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России,
г. Екатеринбург, ул. Репина, 3.