

В І Д Г У К

офіційного опонента доктора медичних наук, професора Шостакович-Корецької Людмили Романівни на дисертаційну роботу Царєвої Олени Вікторівни на тему: «Клініко-діагностичні критерії прогресування хронічних вірусних гепатитів В та С у дітей», поданої до спеціалізованої вченої ради Д 26.553.01 при ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України» на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.10 - педіатрія.

Актуальність теми дисертації.

Хронічні вірусні гепатити (ХВГ) є однією з актуальних проблем сучасної гепатології. За ступенем негативного впливу на здоров'я населення та масштабами захворюваності вірусні гепатити С і В в Україні займають домінуюче місце в структурі інфекційної патології. Розповсюдженість хронічних вірусних гепатитів в дитячій популяції, за даними деяких авторів, складає 0,5 %. За даними CDC, в Скандинавії і Франції рівень інфікування вірусом гепатиту В є найнижчим в Європі і коливається від 0,1 до 0,4%. Інфіковані в ранньому дитинстві мають 25% ризик передчасної смерті від ЦП та ГЦК (EASL, 2006). Ризик хронізації гепатиту В у дітей при інфікуванні у віці <1 року складає 70–90 %, 2–3 роки — 40–70 %, 4–6 років — 10–40 %, > 7 років — 6–10 %. Кількість інфікованих ХГВ та ХГС дітей точно невідома у зв'язку з переважно безсимптомним або малосимптомним перебігом цієї інфекції в дитячому віці. Дані окремих досліджень свідчать, що вже в дитячому віці ХГС та ХГВ інфекція може призводити до значних фіброзних змін в печінці та розвитку цирозу. В останні роки значно розширились уявлення щодо патогенезу фіброзування печінки, факторів, які впливають на хронізацію та темпи прогресування фіброзу печінки. Однак на теперішній час існують лише поодинокі роботи які присвячені особливостям розвитку фіброгенезу печінки та вивченню механізмів його прогресування в дитячому віці. В останній час значна увага приділяється вивченню інформативності неінвазивних маркерів фіброзу печінки. Значимість прямих (визначення в сироватці крові гіалуронової кислоти, колагенів I і IV типу, проколагену III типу, тканьового інгібітору

металопротеаз 1 і II типу, тканьової металопротеази II і III типу) та непрямих (Фібро Тест, Фібро Метр, Фібро Макс, APRI, FIB-4, MELD) методів оцінки фіброзу печінки зараз активно вивчається, але переважно у дорослих. В дитячому віці такі дані поодинокі і потребують подальшого дослідження. Враховуючи той факт, що відповідно до сучасних протоколів, питання про проведення противірусної терапії у дітей з ХВГ вирішується з урахуванням стадії фіброзу печінки, своєчасна діагностика стадії фіброзу є особливо актуальною у педіатричній практиці.

В останні роки з'явилися публікації присвячені ролі генетичних факторів хазяїна в перебігу ХВГ. Є публікації, які підтверджують зв'язок варіантів поліморфізму гену ІЛ-28В з відповіддю на ПВТ, з активністю хронічного вірусного гепатиту С. Але ці дослідження проводились у когорті переважно дорослих пацієнтів. Що стосується робіт присвячених ролі варіантів поліморфізму гену ІЛ-28В у прогресуванні ХГВ то таких робіт надзвичайно мало. В дитячій гепатології такі дослідження не проводились.

Викладена вище ситуація визначає актуальність дисертаційної роботи Царьової О.В, мета якої - підвищити ефективність діагностики фіброзу печінки у дітей з хронічним вірусним гепатитом С та хронічним вірусним гепатитом В шляхом дослідження прямих та непрямих маркерів фіброзу з урахуванням етіології, вірусного навантаження, активності гепатиту, тривалості захворювання та варіанту поліморфізму гену ІЛ-28В.

Для досягнення мети автором сформульовано конкретні завдання, в яких передбачено дослідити перебіг захворювання, особливості фіброзу печінки у дітей з ХГС та ХГВ за прямими (ГК, трансформуючий фактор росту ($TGF-\beta_1$)) та непрямыми (індекс APRI) маркерами залежно від генотипу вірусу, вірусного навантаження, тривалості хвороби, активності гепатиту, а також вивчити особливості генного поліморфізму ІЛ-28В (rs12979860 і rs8099917) у дітей з ХГВ та ХГС та їх вплив на перебіг хвороби і фіброгенез в печінці.

В дисертаційній роботі також передбачено розробка діагностичних та прогностичних критеріїв оцінки прогресуючого перебігу ХГВ та ХГС у дітей.

Завдання дисертаційної роботи логічно пов'язані з їх метою. Як позитивний факт можна відмітити адекватно побудований дизайн дослідження та вибір відповідних клінічних та сучасних молекулярно-генетичних, біохімічних, імуноферментних, морфологічних методів обстеження пацієнтів і методів математичного аналізу.

Зв'язок теми дисертації з державними чи галузевими науковими програмами та планами.

Дисертація виконана згідно з планом науково-дослідних робіт ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології НАМН України» і є фрагментом НДР «Дослідити окремі предиктори фіброгенезу та їх роль в прогресуванні хронічних гепатитів у дітей» (№ держреєстрації 01.11.U002150) та «Розробити діагностичний комплекс та лікувальні заходи попередження прогресування хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей» (№ держреєстрації 01.12.U002129), співвиконавцем якої є дисертант.

Наукова новизна результатів

Наукова новизна дослідження полягає в тому, що вперше в Україні проведено комплексне сучасне дослідження дітей з ХГВ та ХГС та вивчено особливості перебігу захворювання залежно від генотипу вірусу, активності гепатиту, тривалості хвороби та вірусного навантаження.

Вперше на підставі дослідження прямих (ГК, TGF- β_1) та непрямих (індекс APRI) маркерів фіброзу у дітей встановлено, що на прогресування фіброзу у хворих на ХГС впливають 1 генотип вірусу та тривалість хвороби. Доведено, що у дітей з ХГВ прогресування фіброзу є більшим у хворих з активним запальним процесом в печінці та з HBeAg негативним гепатитом.

Вперше у дітей з ХГС та ХГВ вивчено особливості поліморфізму гену ІЛ-28В та встановлено їх вплив на перебіг хвороби та процеси фіброзу у даного контингенту хворих. Не виявлено відмінностей в клінічному перебігу хвороби залежно від варіантів поліморфізму гену ІЛ-28В. Встановлено, що у дітей з ХГС несприятливими в плані прогресування фіброзу є генотипи ТТ й СТ (rs12979860) та TG/GG (rs8099917) гену ІЛ-28В, а у хворих на ХГВ - генотипи

СТ/ТТ (rs12979860) гену ІЛ-28В.

Вперше на основі проведеного математичного аналізу отриманих результатів дослідження встановлено інформативна значимість предикторів прогресування гепатиту та діагностичні критерії виразного фіброзу (\geq F2 по METAVIR) для ХГС та ХГВ у дітей. Розроблено алгоритм діагностичних заходів, що має не тільки теоретичне значення, але також дозволить у клінічній практиці визначати ризик прогресування гепатиту та диференційовано підходити до призначення противірусної терапії.

Теоретичні положення дослідження включені у навчальний процес на кафедрі інфекційних хвороб ДЗ «Запорізька медична академія післядипломної освіти МОЗ України».

Практичне значення одержаних результатів полягає у визначенні предикторів прогресування та розробки діагностичних критеріїв прогресуючого перебігу ХГВ та ХГС у дітей, а також розробці на цій основі алгоритму діагностики виразного фіброзу і тактики ведення пацієнтів дитячого віку з ХГС та ХГВ. Розроблені та впроваджені у практику нові підходи до діагностики прогресуючого перебігу ХГВ та ХГС у дітей дадуть можливість динамічного спостереження за хворими та дозволять неінвазивним методом виявити прогресуючий перебіг гепатиту - виразний фіброз (\geq F2 по METAVIR) з метою диференційованого відбору хворих для проведення пункційної біопсії печінки та визначення тактики їх лікування.

Практичні рекомендації впроваджені в роботу дитячих лікувально-профілактичних закладів міст: Київ, Одеса, Вінниця, Івано-Франківськ, Запоріжжя.

Ступінь обґрунтованості наукових положень, висновків і рекомендацій, сформульованих в дисертації

Достовірність і обґрунтованість наукових положень дисертації забезпечені в першу чергу достатнім обсягом клінічних спостережень.

Автором проведене комплексне клініко-параклінічне обстеження 181

дитини (92 дітей хворих на ХГВ, 89 дітей хворих на ХГС) віком 4-18 років, які склали основну групу та 20 здорових дітей того ж віку та статі. Всім хворим було проведено загальноклінічне та біохімічне дослідження крові для визначення основних біохімічних синдромів ХГ (цитолізу, холестазу, печінково-клітинної недостатності, мезенхімально-запального). Активність гепатиту визначалась за показниками трансаміназ або за індексом гістологічної активності по R. Knodell при морфологічному дослідженні біоптатів печінки. Фіброгенез в печінці оцінювали за вмістом гіалуронової кислоти (ГК) і профіброгенного цитокіну TGF- β_1 в сироватці крові та за розрахунковим індексом APRI у 131 дитини (70 - з ХГВ, 61 - з ХГС). Біопсію печінки з морфологічним дослідженням біоптатів проведено у 40 хворих (25 - з ХГВ, 15 - з ХГС). Оцінка фіброзу за результатами Фібро Тесту була проведена у 92 дітей (46 - з ХГВ, 46 - з ХГС). Генетичне дослідження з визначення генотипів простих нуклеотидних поліморфізмів в локусах rs8099917 і rs12979860 гену IL-28B людини проведено у 127 дітей (66 - з ХГВ, 61 - з ХГС).

Співставлення груп дослідження було адекватним, групування дітей відповідало поставленій меті. Для досягнення поставленої мети автором використані сучасні методи дослідження, а саме молекулярно-генетичні, біохімічні, імуноферментні, морфологічні. Усе це, а також сучасна статистична обробка цифрового матеріалу дозволяють вважати одержані результати та основні наукові положення, дисертаційної роботи достовірними і обґрунтованими. Висновки та практичні рекомендації науково аргументовані, логічно пов'язані зі змістом дисертації, повністю відповідають меті і поставленим завданням.

Оцінка змісту та завершеності дисертації.

Дисертацію викладено державною мовою на 170 сторінках машинописного тексту. Робота складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів дослідження, 4-х розділів власних досліджень, аналізу та обговорення одержаних результатів, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел. Дисертацію ілюстровано 7 рисунками, 44

таблицями.

У вступі обґрунтовано актуальність дослідження, визначено предмет, об'єкт і мету, сформульовано завдання, охарактеризовано методи дослідження, розкрито суть наукової новизни дослідження, практичне та теоретичне значення отриманих результатів, викладено дані щодо апробації роботи та висвітлення матеріалів дослідження у фахових виданнях.

Розділ 1 присвячено детальному аналітичному огляду джерел вітчизняної та зарубіжної літератури з проблеми, що вивчалася. Висвітлені питання щодо особливостей перебігу HBV- та HCV-інфекції в дитячому віці. Ретельно проаналізовані дані щодо діагностики фіброзу печінки у хворих на хронічний гепатит В та С. Охарактеризовано роль молекулярно-генетичних факторів в прогресуванні хронічних гепатитів, особливу увагу приділено впливу варіантів поліморфізму гену ІЛ-28В на клінічний перебіг, процеси фіброзування в печінці та ефективність противірусної терапії.

Як позитивний факт можна відмітити, що огляд літератури написано цікаво, він свідчить про високий рівень ерудиції автора та вміння аналізувати і узагальнювати розмаїту інформацію з проблеми та предмету дослідження.

У розділі 2 представлені матеріали та методи дослідження, охарактеризовано його дизайн. Надано клінічну характеристику обстежених дітей (основної та контрольної групи).

При викладенні результатів власних досліджень дисертантом у розділі 3 наведено дані щодо клініко-параклінічної характеристики хронічних гепатитів С та В у дітей залежно від генотипу вірусу, активності гепатиту, тривалості хвороби та вірусного навантаження. Важливим є те, що автором роботи проведено детальний аналіз клінічного перебігу ХГВ залежно від фази інфекційного процесу.

У розділі 4 «Характеристика фіброзу печінки за окремими прямими та непрямими маркерами у дітей з хронічним вірусним гепатитом С та В» визначені нові діагностичні показники концентрації ГК, TGF- β_1 в сироватці крові та індексу APRI, які характеризують фіброз \geq F2 у дітей з ХГС та ХГВ

сучасним методом статистичного аналізу (ROC аналіз). В розділі представлені особливості фіброзу печінки у дітей з ХГС та ХГВ за прямими (ГК, трансформуючий фактор росту (TGF- β_1)) та непрямими маркерами (індекс APRI) залежно від генотипу вірусу, вірусного навантаження, тривалості хвороби, активності гепатиту. Теоретичне та практичне значення мають дані, що наведені в розділі 4.2, в якому визначено особливості фіброзу печінки у дітей з ХГВ залежно від фази інфекційного процесу. Представлені дані переконливо демонструють, що найбільш несприятливим в плані прогресування ХГВ є HBeAg негативний гепатит (фаза уникнення імунної відповіді) та імуноактивна фаза ХГВ. Важливими є отримані автором дані, що в обох фазах захворювання : імунотолерантній фазі і в фазі імунного контролю окремі маркери фіброзу є достовірно підвищеними, порівняно з контролем , що підтверджує наявність індукуючого впливу вірусу на процеси фіброзу в печінці навіть в клінічно сприятливих фазах інфекційного процесу. Автором також встановлено, що діти з ХГВ та ХГС, які не отримували протівірусне лікування мають вищі показники сироваткових маркерів фіброзу, ніж діти, яким проведено протівірусне лікування. Результати дослідження маркерів фіброзу у дітей до і після протівірусного лікування могли бути більш переконливими, якби це була окрема група дослідження.

Розділ 5 присвячений вивченню впливу різних варіантів поліморфізму гену ІЛ-28В на особливості перебігу і прогресування хронічного вірусного гепатиту С та В. Отримані автором результати показали, що фіброгенез в печінці у хворих на ХГС та ХГВ дітей залежить від варіантів поліморфізму гену ІЛ-28В, а саме, доведено, що діти як з ХГС, так і з ХГВ ,які мають варіант поліморфізму СТ та ТТ (rs12979860) гену ІЛ-28В демонструють більш несприятливий, прогресуючий перебіг захворювання з виразним фіброзом печінки.

Важливим є те, що автором роботи детально аргументована доцільність дослідження варіантів поліморфізму гену ІЛ-28В для визначення ризику прогресування ХГС та ХГВ у дітей.

У розділі 6 «Діагностичні критерії та предиктори прогресуючого перебігу ХГС та ХГВ у дітей» проведено аналіз діагностичної ефективності прямих серологічних маркерів фіброзу (гіалуронова кислота, трансформуючий фактор росту) та непрямого маркера фіброзу (індекс APRI) у дітей з ХГС та ХГВ. Автором показано, що використання двох неінвазивних маркерів фіброзу (індекс APRI 0,42 та ГК 32,6 нг/мл) значно покращує точність діагностики фіброзу печінки \geq F2 по METAVIR у дітей з ХГС та ХГВ, однак у хворих з ХГВ показники ефективності діагностичних тестів нижчі, ніж при ХГС, тому автор пропонує для діагностики фіброзу печінки \geq F2 по METAVIR у дітей з ХГВ продовжувати пошук неінвазивних маркерів фіброзу, які б мали достатню діагностичну ефективність. Дисертантом також встановлені предиктори прогресуючого перебігу ХГС та ХГВ у дітей. Отримані результати дали можливість розробити алгоритми діагностики фіброзу печінки \geq F2 по METAVIR у дітей з ХГВ та ХГС, які дозволяють визначити тактику ведення хворих з ХГВ та ХГС і вчасно запропонувати поглиблене обстеження і проведення противірусної терапії хворим, що дозволить запобігти прогресуванню захворювання.

На особливу увагу заслуговує розділ, присвячений аналізу і обговоренню одержаних результатів. Він містить елементи полеміки, дискусії і є вдалим підсумком роботи.

Результати дисертаційної роботи відтворені у 8 висновках, які є логічними та змістовними, добре обґрунтовані, відповідають меті, завданням і змісту дисертаційного дослідження. Практичні рекомендації змістовні. В простій і доступній формі представлені алгоритми діагностики фіброзу печінки \geq F2 по METAVIR у дітей з ХГВ та ХГС; чітко сформульовані рекомендації щодо обстеження та моніторингу дітей з ХГВ та ХГС.

Список використаних джерел складений правильно, згідно сучасних вимог і стандартів, містить 170 літературних джерел, серед яких кирилицею - 37, латиницею – 133.

Автореферат за змістом та структурою повністю відповідає дисертації,

зауважень до оформлення автореферату немає.

Повнота викладу основних результатів дисертації в наукових і фахових виданнях.

За матеріалами дисертації опубліковано 9 наукових праць, з них 6 статей у фахових журналах та 3 роботи у матеріалах з'їздів, конгресів, конференцій. Отримано 1 патент на корисну модель.

Недоліки дисертації та автореферату щодо їх змісту й оформлення.

Аналіз дисертаційної роботи і автореферату дає підставу вважати, що задачі дослідження вирішені, а мета наукової роботи досягнута.

Принципових зауважень щодо дисертаційної роботи немає, проте є окремі недоліки, які не впливають на позитивну оцінку роботи:

1. У розділі «Матеріали та методи дослідження» доцільно було дати більше інформації стосовно противірусної терапії, яку отримували діти з ВГС і ВГВ
2. Викладення матеріалу в розділі 6 трохи перевантажено за рахунок докладного аналізу статистичних даних і клінічних прикладів.
3. В розділі «Практичні рекомендації» у пунктах з назвою «Алгоритм діагностики фіброзу печінки \geq F2 по METAVIR у дітей з ХГВ і ХГС більш деталізувати показання до противірусної терапії, та відобразити це в назві алгоритму.

Вказані побажання та зауваження носять рекомендаційний характер, не зменшують теоретичного значення та науково-практичної цінності дисертації і не впливають на загальну позитивну оцінку дисертаційної роботи.

Під час захисту дисертації бажано обговорити такі питання:

1. Чим можна пояснити меншу діагностичну ефективність вибраних неінвазивних маркерів фіброзу у хворих з ХГВ
2. Як пояснити підвищенні показники TGF- β_1 в сироватці крові у дітей з ХГВ в імунотолерантній фазі?
3. Яким чином варіант поліморфізму гену ІІІ 28-В може впливати на прогресування ХВГ, і чи є відмінності впливу цього гену у хворих на ВГВ і ВГС?

4. Чи були в ваших спостереженнях випадки спонтанної елімінації вірусу гепатиту С і вірусу гепатиту В та сероконверсії його маркерів і як це впливало на динаміку фіброзу печінки ?

5. З урахуванням отриманих даних, у яких випадках ХГВ і ХГС показано обов'язкове проведення біопсії печінки?

ВИСНОВОК

Дисертаційна робота Царевої Олени Вікторівни на тему: «Клініко-діагностичні критерії прогресування хронічних вірусних гепатитів в та с у дітей» представлена на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, є завершеним науковим дослідженням, в якому вирішена актуальна задача сучасної педіатрії щодо підвищення ефективності діагностики фіброзу печінки у дітей з хронічним вірусним гепатитом С та хронічним вірусним гепатитом В шляхом дослідження прямих та непрямих маркерів фіброзу з урахуванням етіології, вірусного навантаження, активності гепатиту, тривалості захворювання та варіанту поліморфізму гену ІЛ-28В. За актуальністю, науковою новизною отриманих результатів, практичною значущістю дисертаційна робота повністю відповідає п. 11 «Порядку присудження наукових ступенів і присвоєння вченого звання старшого наукового співробітника», затвердженого Постановою Кабінету Міністрів України від 24.07.2013 р. № 567 щодо дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук, а її автор за рівнем клінічних і теоретичних знань заслуговує на присудження наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.10 - «Педіатрія».

Доктор медичних наук, професор,
завідувач кафедри інфекційних хвороб
ДЗ «Дніпропетровська медична академія
МОЗ України»

