

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ПЕДІАТРІЇ,
АКУШЕРСТВА І ГІНЕКОЛОГІЇ ІМЕНІ АКАДЕМІКА О.М.ЛУК'ЯНОВОЇ
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ»**

МИХАЙЛЮК ХРИСТИНА ЗЕНОВІЇВНА

УДК 616.36-002-053.2-036:615.356

**УДОСКОНАЛЕННЯ ДІАГНОСТИКИ ТА ОЦІНКИ КЛІНІЧНОГО ПЕРЕБІГУ
АВТОІМУННОГО ГЕПАТИТУ У ДІТЕЙ**

14.01.10 – педіатрія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Київ – 2019

Дисертація є рукопис.

Робота виконана в ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України» (м. Київ)

Науковий керівник доктор медичних наук, старший науковий співробітник
Березенко Валентина Сергіївна,
ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України»,
завідувачка відділення дитячої гепатології.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
Крючко Тетяна Олександрівна,
Вищий державний навчальний заклад України
«Українська медична стоматологічна академія МОЗ
України» (м.Полтава), завідувачка кафедри госпітальної
педіатрії №2.

доктор медичних наук, професор
Дудник Вероніка Михайлівна,
Вінницький Національний медичний університет
ім. М.І.Пирогова МОЗ України,
завідувачка кафедри педіатрії №2.

Захист дисертації відбудеться « 22 » жовтня 2019 року о 13.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.553.01 при ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України» за адресою: 04050, м. Київ, вул. Платона Майбороди,8

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України» за адресою: 04050, м. Київ, вул. Платона Майбороди,8

Автореферат розісланий « 18 » вересня 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.553.01

Л.В.Квашніна

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Хронічні дифузні захворювання печінки (ХДЗП) у дітей є актуальною проблемою в сучасній гастроентерології та гепатології. Вагоме місце серед ХДЗП посідає автоімунний гепатит (АГ). Пізня діагностика та несвоєчасне лікування цього захворювання призводить до швидкого прогресування із розвитком тяжких інвалідизуючих ускладнень з високою летальністю. АГ у дітей має більш агресивний перебіг ніж у дорослих, а у 50% дітей діагностується вже на стадії цирозу. В країнах Європи та США АГ є причиною трансплантації печінки у 2-3% дітей та 4-6% дорослих (EASL Clinical Practice Guidelines:Autoimmune hepatitis,2015;). За даними ДУ «Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова» АГ мав місце у 15(8,8%) пацієнтів із 170, яким була проведена трансплантація печінки за період 2001-2018рр (О.Г.Котенко,2018). Прогресуючий перебіг АГ спонукає науковців до більш поглибленого вивчення патогенетичних механізмів розвитку та прогресування захворювання, пошуку факторів, які впливають на перебіг захворювання та ефективність лікування. В останні роки все більше уваги приділяється дослідженню порушень обміну вітаміну D на перебіг хронічних гепатитів, як фактору, який може прискорювати прогресування патологічного процесу в печінці та негативно впливати на ефективність терапії. Зокрема, встановлено здатність вітаміну D впливати на функціональну активність клітин імунної системи, таких як моноцити, макрофаги, дендритні клітини (DCs), а також Т- і В-лімфоцити, результатом чого є модуляція як вродженої, так і набутої імунної відповіді (Лук'янова О.М.2009, Антипкін Ю.Г. 2009,Квашніна Л.В.,2015, Омельченко Л.І.,2017). За результатами проведених епідеміологічних досліджень недостатній рівень вітаміну D може бути пов'язаний з високою схильністю до виникнення автоімунних захворювань і хронічних інфекцій, зумовлених порушеннями в імунній системі (Kamen D,2010; Malham M. 2011;Реушева, С. 2013; Sunil. J,2018). За даними літератури низький рівень 25(OH)D у пацієнтів із хронічними захворюваннями печінки (ХЗП) зустрічається в 90% випадків, а у третини з них відмічається тяжкий дефіцит вітаміну D(≤ 5 нг/мл) (D'Aldebert E.2009;Arteh J,2010), який корелює з гістологічними змінами та може впливати на ефективність лікування (Pilz S,2011).

Дані літератури свідчать, що поліморфізм гену рецептора VDR корелює із змінами механізмів реалізації регуляторного впливу вітаміну D в клітинах імунної системи, що призводить до порушення імунної відповіді, розвитку хронічного запалення та автоімунних процесів. Завдяки наявності у більшості клітин імунної системи рецепторів VDR вітамін D є потенційно потужним геномним та не геномним регулятором, здатним нормалізувати процеси імунної відповіді та елімінації антигенів(F. Holick, 2007; MessaP,2011).

В літературі опубліковано невелику кількість досліджень, переважно у дорослих, присвячених вивченню впливу вітаміну D, експресії та значення поліморфних варіантів гену VDR на перебіг АГ. Встановлено, що рівень забезпечення вітаміном D хворих на АГ корелює з тяжкістю перебігу захворювання,

стадією фіброзу та ефективністю лікування (EfeC,2014), а експресія VDR в гепатоцитах, купферовських і зірчастих клітинах корелює з пригніченням та подавленням фіброгенезу (M.Bscheider,2016). За даними А. Kempicska-Podhorecka, (2012р.) зниження експресії VDR у хворих з АГ впливає на прогресування захворювання та корелює із підвищеним ризиком розвитку фіброзу і цирозу печінки.

Діагностика стадії фіброзу печінки у дітей з АГ є необхідною умовою для оцінки перебігу захворювання. Проведення пункційної біопсії з наступним морфологічним дослідженням біоптату, є «золотим стандартом» діагностики АГ, однак інвазивність методики, можливість розвитку ускладнень, обмежує можливість її широкого використання. Особливо актуальною ця проблема є в педіатрії. Еластографія, як неінвазивний ультразвуковий метод оцінки виразності фіброзу в печінці набув широкого впровадження в останні роки. (JongHoChung, 2013; Е.А. Tsochatzis,2011). Цей метод може бути використаний і для моніторингу відповіді на лікування у хворих з АГ (Manjiri Dighe,2016), однак можливість використання еластографії печінки методом зсувної хвилі для визначення стадії фіброзу печінки в дитячій популяції ще не вивчена.

В ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М. Лук'янової НАМН України» протягом багатьох років проводяться дослідження щодо впливу вітаміну D на мінеральний обмін та адаптаційні можливості дитячого організму. Поглиблено вивчалась та продовжує вивчатись забезпеченість вітаміном D окремих категорій дітей, та її вплив на перебіг хронічної соматичної патології в дитячому віці (Е.М Лук'янова.2009, Ю.Г.Антипкін 2009, Л.І. Омельченко, 2017, Л.В.Квашніна 2018). Виконана дисертаційна робота є складовою цієї низки досліджень.

Сьогодні в науковій літературі практично відсутні дослідження щодо забезпеченості вітаміном D та його впливу на перебіг, прогресування та ефективність лікування автоімунного гепатиту у дітей та місця еластографії в діагностиці фіброзу печінки у цих хворих. Вище наведене і визначило напрямок нашого дослідження, що дозволить удосконалити діагностику прогресуючого перебігу АГ у дітей з метою зниження ризику розвитку цирозу печінки у даного контингенту хворих.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертація виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт ДУ «ІПАГ ім.акад. О.М. Лук'янової НАМН України» і є фрагментом НДР «Дослідження ролі вітамін - D - залежних механізмів розвитку адаптаційних можливостей організму в критичні періоди дитинства та патогенезі хронічної соматичної патології у дітей» (№ державної реєстрації 01.16U001202). Здобувач є співвиконавцем вказаної роботи.

Мета дослідження: оптимізація діагностики прогресуючого перебігу автоімунного гепатиту у дітей шляхом дослідження впливу на перебіг хвороби забезпеченості організму дитини вітаміном D, варіантів поліморфізму гена VDR та оцінки результатів еластографії зсувної хвилі в діагностиці фіброзу печінки.

Завдання дослідження:

1. Вивчити клініко - параклінічні особливості перебігу автоімунного гепатиту у дітей залежно від активності гепатиту та стадії фіброзу.

2. Вивчити морфологічні особливості автоімунного гепатиту у дітей та ультразвукові критерії фіброзу методом еластографії зсувної хвилі у даного контингенту хворих до та після призначення імуносупресивної терапії.

3. Дослідити забезпеченість вітаміном D дітей з АГ залежно від активності гепатиту та стадії фіброзу.

4. Вивчити особливості поліморфізму гену VDR (ApaI, BsmI, TagI) у дітей з автоімунним гепатитом.

5. Вивчити взаємозв'язок забезпеченості вітаміном D з варіантом поліморфізму генів VDR (ApaI, BsmI, TagI) та стадією фіброзу печінки у дітей з АГ.

6. Визначити предиктори прогресуючого перебігу автоімунного гепатиту у дітей та розробити спосіб оцінки результатів ультразвукової еластографії зсувної хвилі печінки для діагностики фіброзу у даного контингенту хворих.

Об'єкт дослідження. Прогресуючий перебіг АГ у дітей віком 2 -18 років.

Предмет дослідження: клінічний перебіг, функціональний стан печінки, рівень 25(OH)D в сироватці крові, варіанти поліморфізму VDR (ApaI, BsmI, TagI), жорсткість паренхіми печінки методом еластографії зсувної хвилі паренхіми печінки.

Методи дослідження: клінічні, біохімічні, імунологічні, імуноферментні (ІФА), молекулярно-генетичні, ультразвукові, морфологічні, імуногістохімічні, методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше на основі комплексного обстеження дітей з АГ було встановлено взаємозв'язок ступеня забезпеченості вітаміном D цих хворих, з морфо-функціональними особливостями перебігу хвороби.

Встановлено, що у двох третин дітей з АГ, переважно з помірно- та високоактивним перебігом гепатиту та стадією фіброзу F3 за METAVIR, мав місце дефіцит вітаміну D, а також практично у всіх пацієнтів з цирозом печінки. Оптимальний рівень вітаміну D мали 33,0 % дітей з мінімальною активністю, в той час як при високій гістологічній активності гепатиту оптимальний рівень діагностовано лише в 6,0% випадків, а дефіцит - в 76,0% пацієнтів ($p < 0,05$). У дітей з стадією фіброзу F1 та F2 за METAVIR оптимальний рівень вітаміну D діагностовано в 33,0% хворих відповідно, а з стадією фіброзу F3 лише у 10,0% дітей. Жоден хворий з цирозом печінки (стадія фіброзу F4) не мав оптимального рівня вітаміну D, а дефіцит діагностовано у 90,0% випадків ($p < 0,05$).

Вперше доведено взаємозв'язок генотипу GA за поліморфним варіантом BsmI гена VDR та комбінації генотипів AC/TC/GA за поліморфними варіантами ApaI, TagI, BsmI гена рецептора VDR з рівнем вітаміну D у дітей з АГ. Наявність генотипу CC за поліморфним варіантом TagI гена рецептора VDR та комбінації генотипів AA/CC/AA за дослідженими алельними варіантами гена рецептора VDR були асоційовані із прогресуванням АГ у дітей.

Вперше на основі співставлення морфологічного, біохімічного та ультразвукового дослідження печінки методом еластографії зсувної хвилі в динаміці

лікування запропоновано спосіб оцінки результатів еластографії зсувної хвилі у дітей з АГ до лікування та встановлено оптимальні терміни використання цього методу для оцінки фіброзу печінки у цих хворих.

Вперше за результатами проведеного дослідження встановлені предиктори прогресуючого перебігу автоімунного гепатиту у дітей, серед яких: наявність автоімунних захворювань у родичів першого порядку; встановлення діагнозу після появи перших симптомів більше ніж через 12 місяців; носові кровотечі; наявність малих печінкових знаків (пальмарна еритема, телеангіектазії); підвищення рівня IgG вище норми у дітей які не отримували лікування до встановлення діагнозу; підвищення рівня γ -глобулінів вище 25,0 г/л, дефіцит вітаміну D; наявність С алелі за поліморфним варіантом TagI гена рецептора VDR; капіляризація синусоїдів, проліферація дуктул за результатами морфологічного дослідження біоптату печінки.

Практичне значення одержаних результатів. Для практичної охорони здоров'я запропоновано предиктори прогресуючого перебігу автоімунного гепатиту у дітей, що дозволить виокремити хворих з високим ризиком швидкого формування цирозу печінки. Рекомендовано спосіб оцінки результатів еластографії зсувної хвилі до лікування та оптимальні терміни її проведення для діагностики фіброзу печінки у дітей з АГ.

Впровадження результатів дослідження в практику. Результати проведених досліджень впроваджено в роботу ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М.Лук'янової НАМН України», НДСЛ «ОХМАТДИТ» МОЗ України; КЗ «Рівненська обласна дитяча лікарня» Рівненської обласної ради; Вінницької обласної дитячої клінічної лікарні; Вінницької обласної клінічної дитячої інфекційної лікарні; Хмельницької обласної дитячої лікарні; Інститут ядерної медицини та променевої діагностики НАМН України.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є завершеним науковим дослідженням. Автором особисто проведено інформаційний пошук аналіз наукової літератури за темою дисертації, визначено мету і завдання дисертаційної роботи, сформовані групи спостереження, обрані методи досліджень, що були необхідні для виконання роботи, проведено збір первинного матеріалу. Самостійно проведена систематизація та статистична обробка первинного матеріалу із застосуванням сучасних методів статистичного аналізу. Автором написано текст дисертації, сформульовані висновки та практичні рекомендації, проведено впровадження отриманих результатів у лікувальну практику та підготовлено до друку статті, тези, проведено виступи на науково-практичних конференціях.

Апробація результатів дисертації. Основні положення та результати дисертаційної роботи були представлені та обговорені на: XVIII Всеукраїнській науково-практичній конференції «Актуальні питання педіатрії» (Сидельниковські читання) (м. Львів, 2016р); Науково-практична конференція «Актуальні питання дитячої гепатології» (м. Київ, 2016); II Науковому конгресі з міжнародною участю «Актуальні питання дитячої гастроентерології», (Київ, 2016); 19 Конгрес Словенських і чеських остеологів, (м. Жиліна, Словачія, 2016); Науково-практична конференція «Актуальні питання дитячої гастроентерології» (м.Київ, 2017); Науково-практична конференція «Актуальні питання дитячої гепатології» (м.Київ,

2017); Українсько-Білоруська міжнародна конференція «Дефіцит та недостатність вітаміну D у клінічній практиці», (м.Чернігів, 2017); XII Конгресі Педіатрів України «Актуальні проблеми педіатрії» (м.Київ,2017); Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання дитячої гепатології», (м.Київ, 2018); Науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 25 річчю Національної Академії медичних наук України, (м. Київ, 2018); X конгресі Асоціації патологів України «Перспективи розвитку сучасної патології», (м. Івано-Франківськ – м.Яремче, 2018); Науково-практична конференція з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної ультразвукової діагностики», (м. Київ, 2018), VIII Міжнародного медичного конгресу «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України» (м. Київ, 2019р); Науково-практична конференція з міжнародною участю Актуальні питання сучасної ультразвукової діагностики (м. Одеса,2019).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 12 наукових праць, з них 6 статей у фахових журналах та 4 роботи у матеріалах з'їздів, конгресів, конференцій, отримано 2 патенти України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 161 сторінках тексту і складається зі вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження», 4 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення отриманих результатів дослідження, висновків, практичних рекомендацій, списку використаних джерел який налічує 206 наукових праць і займає 19 сторінок та додатку. Робота ілюстрована 33 таблицями і 27 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Для вирішення поставлених задач проведено комплексне клініко-параклінічне обстеження 60 дітей хворих на автоімунний гепатит віком 2-18 років, які знаходились на лікуванні в відділенні дитячої гепатології ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М.Лук'янової НАМН України» в 2015-2018рр.

Діагноз АГ встановлено відповідно до міжнародних рекомендацій Європейської асоціації з вивчення захворювань печінки (European Association for the Study of Liver (EASL) Clinical Practice Guidelines: Autoimmune hepatitis,2015).

В усіх хворих визначали показники загальноклінічного лабораторного обстеження, біохімічного дослідження крові, які характеризують основні біохімічні синдроми АГ. Про виразність синдрому цитолізу свідчила активність аланін- та аспартатамінотрансферази (АлАТ, АсАТ,), холестазу – активність лужної фосфатази (ЛФ), гамаглутамілтрансферази (ГГТ), концентрації білірубину та його фракцій, холестерину; печінково-клітинної недостатності – вміст альбуміну, протромбіну (ПТІ), холестерину, сечовини, креатініну; мезенхімально-запального – рівень γ -глобулінів, тимолової проби, загального білка, сироваткових Ig G, M та циркулюючих імунних комплексів (ЦІК). За результатами печінкових проб мінімальна активність характеризувалась підвищенням показників трансаміназ до 3 норм, низька - до 5 норм, помірна - підвищення АлАТ та АсАТ до 9 норм, висока –

більше 10 норм [Учайкін,2003]. Всім дітям визначено в сироватці крові автоантитіла: ANA (антинуклеарні антитіла), Anti-LKM-1(антитіла до мікросом печінки та нирок 1 типу), anti-SMA (антитіла до гладких м'язів), які характерні для АГ 1 типу, anti-LC1(антитіла до цитозольних антитіл 1 типу) – для діагностики АГІІ типу. Для виключення вірусної природи захворювання визначали маркери вірусів гепатиту: анти-HAV IgM, HBsAg, анти-HBcIgM, анти-HBcIgG, ПЛР DNA HBV, анти-HCV IgG та ПЛР RNA HCV. У всіх дітей виключено спадкові та набуті метаболічні захворювання печінки.

Концентрацію 25(OH)D у сироватці крові визначили у 60 хворих електрохемилюмінесцентним методом на апараті Elecsys 2010 (RochDiagnostics, Німеччина) тест-системами cobas e 411. У дослідження включено тих осіб, які не приймали препаратів кальцію і вітаміну D протягом 6 місяців.

Молекулярно-генетичне дослідження поліморфних варіантів гена рецептора VDR було проведено методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у 51 дитини. За допомогою комерційної тест-системи «Quick-DNA MiniprepPlusKit» (виробництва ZymoResearch, США) було проведено виділення ДНК із периферичної крові. Для визначення поліморфних варіантів BsmI G/A (rs1544410), TaqI T/C (rs731236) та ApaI A/C (rs7975232) гена рецептора VDR використовували модифіковані протоколи з олігонуклеотидними праймерами та проводили аналіз поліморфізму довжини рестрикційних фрагментів (ПДРФ) (Обухова,2014). Досліджувані ділянки генів ампліфікували за допомогою специфічних праймерів (виробництва «Metabion», Німеччина). Специфічні фрагменти гена VDR ампліфікували із застосуванням комерційного набору DreamTaqGreen PCR MasterMix (виробництва «ThermoScientific»,США).

У 45 дітей виконано пункційну біопсію печінки із морфологічним та імуногістохімічним дослідженням біоптатуна мікроскопі («OLYMPUS BX-51»). Імуногістохімічне дослідження біоптатів здійснено з використанням імуногістохімічного маркера плазмоцитів CD 138 Ab-2 (CloneM15) фірми ThermoScientific. Активність запального процесу характеризували за індексом гістологічної активності (ІГА) по R. Knodell, стадію захворювання оцінювали по гістологічному індексу фіброзу (ГІС) за METAVIR. Хворі, яким проводилась пункційна біопсія печінки, були розділені на дві групи: до I групи увійшли діти, які до моменту проведення пункційної біопсії не отримували глюкокортикостероїди (n=25), II група діти які отримували ГКС на час проведення пункційної біопсії печінки (n=20).

Усім дітям визначено жорсткість паренхіми печінки методом еластографії зсувної хвилі на сканері «Радмир ULTIMA». Виразності фіброзу стадія F0 за METAVIR відповідали показники жорсткості > 5,8 кПа, стадії F1 $\geq 5,8$ - $\leq 7,2$ кПа, стадії F2 - $\geq 7,2$ - $\leq 9,5$ кПа, стадії F3 - $\geq 9,5$ - < 12,5кПа та стадії F4 – від 12,5 кПа (цироз печінки) (L.Castera, 2015). Для оцінки впливу імуносупресивної терапії на активність захворювання та показники жорсткості паренхіми печінки 35 пацієнтам еластографія зсувної хвилі була проведена в динаміці лікування: через 6 місяців та через 12 місяців.

Отримані дані опрацьовано статистично з використанням пакета програм Statistica 6.1 та IBMSPSS Statistic версія 22 № 128 від 01.08.2016. Загально статистичний аналіз передбачав обчислення медіани та інтерквартильних інтервалів Me [UQ—LQ]. Для номінальних змінних взаємозв'язок розраховували за допомогою критерію Пірсона (χ^2) та критерію Фішера (двосторонній), для оцінки різниці між двома незалежними вибірками використовували U-критерій Манна-Уїтні. Для порівняння двох залежних вибірок до та після лікування ми використовували критерій Вілкоксона. Оцінку напряму, сили та значущості кореляційного зв'язку між різними ознаками проведено із використанням непараметричного кореляційного аналізу Тау Кендалла (τ) та Спірмена (R). Проведено аналіз операційної характеристичної кривої (Receiver Operating Characteristic Curve - ROC) з визначенням AUROC та «точки відсічення» яка відповідає найкращим результатам щодо чутливості та специфічності даного діагностичного методу. Для підтвердження діагностичної ефективності проведений математичний аналіз методом розрахунку показників чутливості (Se), та специфічності (Sp), позитивної та негативної прогностичної цінності тестів (PV), точність. Оцінка впливу несприятливих факторів проводилась методом розрахунку відносного ризику (RR) та відношення шансів (OR) для показників, які мали достатньо високу специфічність та чутливість. Різницю вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

Результати власних досліджень та їх обговорення. Серед обстежених дітей, хворих на АГ, превалювали дівчатка 68,0% проти 32,0% хлопців ($p < 0,005$). У більшості (62,0 %) хворих АГ вперше діагностовано у віці 11 – 18 років. Середній вік початку захворювання складав 11[8-15] років. У 80,0% дітей діагностовано АГ I типу, АГ II типу - у однієї дитини, 12,0% дітей мали серонегативний варіант АГ. У 32,0% (n=19) дітей діагноз встановлено на стадії цирозу печінки. У 63,0 % пацієнтів захворювання маніфестувало в весняно-літній період ($p=0,0035$), що може свідчити про роль надмірної інсоляції, як тригерного фактору запуску автоімунних реакцій. У 30,0 % дітей родичі першого порядку мали автоімунні захворювання: автоімунний тиреоїдит - 44,0%, ревматоїдний артрит – 33,0%, бронхіальна астма – 6,0 %, цукровий діабет першого типу – 17,0 %.

У 60,0 % дітей захворювання мало гострий початок, з клінічною картиною гострого гепатиту. Усі хворі мали прояви астено-вегетативного синдрому. В 75,0% хворих, незалежно від активності гепатиту, виявлені різного ступеня виразності малі печінкові знаки: пальмарна еритема, телеангіектазії. Жовтушність шкіри та склер мала місце у 72,5% хворих переважно з високою та помірною активністю гепатиту. Прояви геморагічного синдрому, у вигляді носових кровотеч, мали 50,0% обстежених. У 75,0% дітей з АГ періодичні носові кровотечі були першими клінічними проявами хвороби за декілька років до маніфестації розгорнутої клінічної картини гепатиту. Гепатомегалія, за рахунок збільшення обох часток печінки, діагностовано у 67,0% дітей, переважно у хворих з високою та помірною активністю АГ та виразним фіброзом (F3 за METAVIR).

Синдром цитолізу був представлений у 95,0 % обстежених. У трьох (5,0%) дітей в періоді неповної клініко-лабораторної ремісії, показники трансаміназ знаходились в межах нормативних значень. Мезенхімально-запальний синдром був

діагностований у 83,0% обстежених та характеризувався переважно підвищенням рівня γ -глобулінів, тимолової проби та IgG. Синдром холестазу у вигляді гіпербілірубінемії переважно за рахунок прямої фракції, було діагностовано у 57,0% дітей з АГ, достовірно частіше у хворих з високо- та помірно активним гепатитом ($\chi^2 = 12,5$; $p < 0,005$).

У 32,0% дітей з цирозом печінки мав місце синдром печінково-клітинної недостатності, який характеризувався зниженням концентрації альбуміну в сироватці крові у 21,0% дітей, зниженням ПТТ - 26,0% випадків, гіпокоагуляційним синдромом, що характеризувався подовженням МНО та зростанням АЧТЧ - 84,0% випадків. У частини цих дітей, як прояв гіперспленізму, в загальному аналізі крові мали місце: анемія в 53,0% випадків, лейкопенія в 52,0% та тромбоцитопенія - 68,0% пацієнтів з ЦП.

Середня концентрація 25(OH)D в сироватці крові у всіх дітей з АГ складала 16,3[11,5–22,1] нг/мл та знаходилася в полі дефіциту вітаміну D. Лише 15,0% (n=9) дітей мали оптимальний рівень вітаміну D, недостатність – 17,0% (n=10), дефіцит – 68,0% (n=41) (Рис.1.).



Рис. 1. Забезпеченість вітаміном D дітей з аутоімунним гепатитом (n=60),%.

За результатами проведеного дослідження середня концентрація 25(OH)D в сироватці крові не відрізнялась у представників різної статі і складала у дівчат - 17 [11,2-22,31] нг/мл, у хлопців - 15,6 [12,13-22]нг/мл та знаходились в зоні дефіциту ($p > 0,05$). Найнижчий рівень вітаміну D спостерігався у дівчат 10-18 років, та у хлопців 5-18 років, однак без достовірної відмінності ($p > 0,05$). Ми не встановили статистично значимих відмінностей в забезпеченості вітаміном D залежно від регіону проживання та пори року в яку проводилось дослідження ($p > 0,05$). Однак, незважаючи на відсутність достовірної відмінності, найнижча концентрація 25(OH)D у сироватці крові спостерігалась взимку 12,5[8,2-18,9] нг/мл та навесні 15,5[10,8-30,0] нг/мл, в той час, як влітку вона складала 18,6[14,0-19,3]нг/мл. ($p > 0,05$).

Аналіз добового раціону, обстежених нами дітей показав, що усі діти з АГ на 30-40,0% не отримували рекомендованої вікової норми кількості кальцію із харчуванням. За нашими даними забезпеченість вітаміном D не впливала на представленість та виразність клінічних симптомів АГ у обстежених дітей. Ми не встановили достовірної відмінності в забезпеченості вітаміном D між групами дітей залежно від біохімічної активності гепатиту ($p > 0,05$).

Аналіз забезпеченості вітаміном D у хворих з різною стадією фіброзу за даними морфологічного дослідження показав, що у пацієнтів з стадією фіброзу F2 за

МЕТАVIR частка дітей з дефіцитом вітаміну D складала 67%, з стадією фіброзу F3-75,0%, а у пацієнтів з цирозом печінки – 90,0% ($p > 0,05$).

За нашими даними, забезпеченість вітаміном D залежала від гістологічної активності автоімунного гепатиту. Так у хворих з ІГА < 9 балів частка дітей з дефіцитом вітаміну D складала 25,0% ($n=7$), а у пацієнтів з ІГА > 9 балів - 75,0% ($n=21$) ($\chi^2=5,1$; $p=0,023$) (рис. 2).

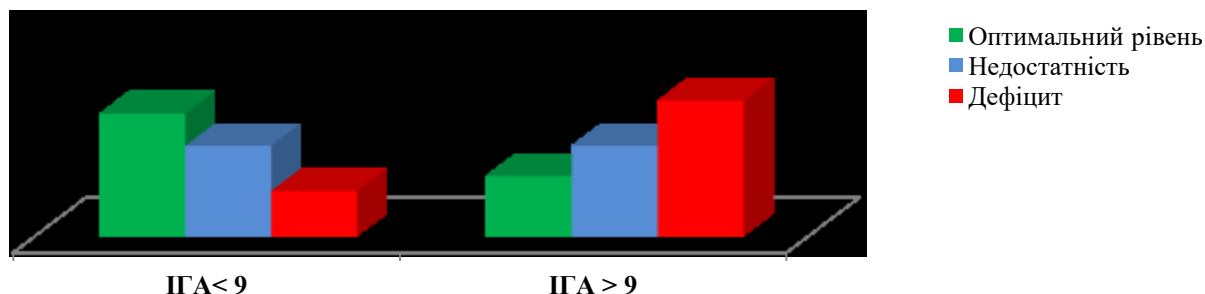


Рис. 2 Забезпеченість вітаміном D дітей з АГ залежно від гістологічної активності за Knodell, $n=45$,%.

Примітка. * - відмінність вірогідна ($p < 0,05$) між групами дітей з ІГА < 9 балів та ІГА > 9 балів

Варто зазначити, що в групі дітей з цирозом печінки ($n=19$) середня концентрація 25(OH)D складала 15,6[10–19,2] нг/мл, в той час як у групі дітей без цирозу печінки - 17[12,1–23,1] нг/мл ($p > 0,05$). У жодної дитини з ЦП не було оптимального рівня вітаміну D, тоді як у пацієнтів без ЦП його частка складала 20,0%. У хворих з ЦП достовірно частіше мав місце дефіцит вітаміну D- 89,0%, на відміну від 63,0% у хворих без ЦП ($\chi^2= 4,74$; $p=0,003$).

За результатами проведеного молекулярно-генетичного дослідження з визначенням частот алелей та поліморфних варіантів гена VDR встановлено, що у дітей з АГ переважає AC TC GG варіанти поліморфізму та алель A T G за поліморфним варіантом ApaI, TagI, BsmI гена VDR (рис.3).

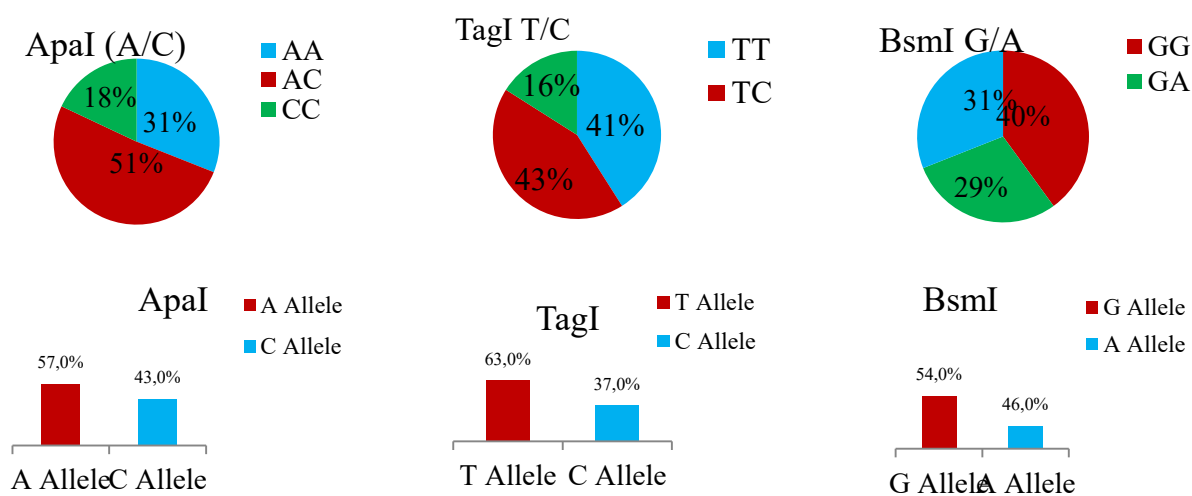


Рис.3. Частота алелей та поліморфних варіантів гена VDR (ApaI, TagI, BsmI) у дітей з АГ.

Аналіз взаємозв'язку між концентрацією 25(OH)D у сироватці крові та поліморфними варіантами гена *VDR* показав, що достовірної відмінності в рівні забезпеченості вітаміном D залежно від досліджених генотипів виявлено не було, за виключенням алельного варіанту *BsmI*. У дітей з генотипом *GA* за поліморфним варіантом *BsmI* відмічалось достовірне зниження концентрації 25(OH)D в сироватці крові ($12,44 \pm 5,51$) порівняно з генотипами *AA* ($18,54 \pm 7,80$) та *GG* ($19,23 \pm 7,05$) ($p < 0,05$) (Таблиця 1).

Таблиця 1

Концентрація 25(OH)D у дітей з АГ з різними варіантами поліморфізму гена *VDR*, $M \pm m$, нг/мл.

Варіанти поліморфізму гену <i>VDR</i> у дітей	Концентрація 25(OH)D у дітей з АГ (n=51)
ApaI:	
а) AA(n=16)	18,54±7,805
б) AC(n=26)	15,46±7,707
в) CC(n=9)	18,75±4,357
TagI:	
а) TT(n=21)	18,83±7,10
б) TC (n=22)	15,19±7,482
в) TC (n=22)	17,24±7,618
BsmI:	
а) GG (n=20)	19,23±7,057*
б) GA (n=15)	12,44±5,515
в) AA (n=16)	18,53±7,805**

Примітки.*- відмінність вірогідна ($p < 0,05$) між поліморфним варіантом *BsmI* генотип *GG* та *GA*;

** - відмінність вірогідна ($p < 0,05$) між поліморфним варіантом *BsmI* генотип *GA* та *AA*.

За нашими даними, діти з стадіями фіброзу F3 та F4 достовірно частіше мали *CC* генотип за поліморфним варіантом *TagI* гена рецептора *VDR* порівняно з дітьми з стадіями фіброзу F1-F2 ($\chi^2=3,953$; $p < 0,05$). У дітей з АГ було виявлено наступні комбінації генотипів: *AA/TC/AA* (n=8), *AA/CC/AA* (n=8), *AC/TT/GG* (n=11), *AC/TT/GA* (n=1), *AC/TC/GA* (n=14), *CC/TT/GG* (n=9). Аналіз впливу комбінації за трьома алельними варіантами гена рецептора *VDR* (*ApaI*, *TagI*, *BsmI*) на 25(OH)D (рис. 4) та виразність фіброзу печінки показав, що хворі із комбінацією генотипів *AA/TC/AA*, *AC/TT/GG*, *CC/TT/GG* достовірно частіше мали вищий рівень вітаміну D в сироватці крові порівняно із дітьми із комбінацією генотипів *AC/TC/GA* за поліморфними варіантами *ApaI*, *TagI*, *BsmI* гена рецептора *VDR* ($p < 0,05$). Діти із комбінацією генотипів *AA/CC/AA* достовірно частіше мали фіброз F 3 та F4 ($\chi^2=3,953$; $p < 0,05$).

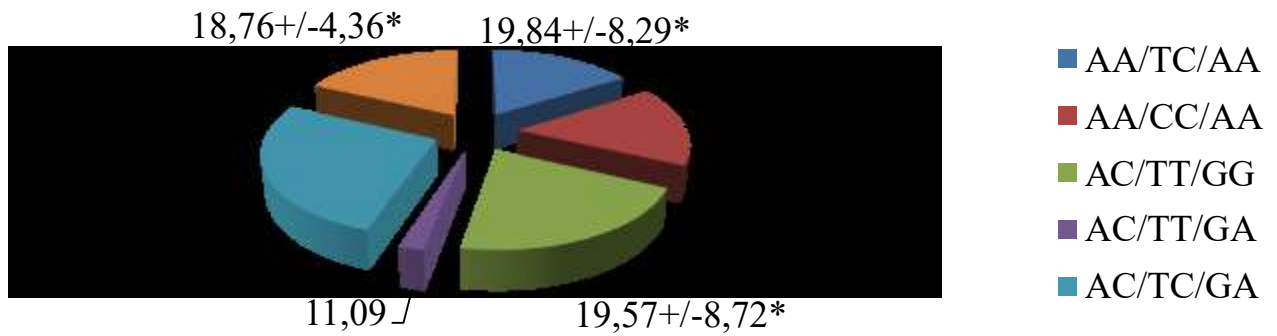


Рис.4. Показники забезпеченості вітаміном D залежно від комбінацій генотипів за варіантами ApaI, TagI, BsmI гена рецептора *VDR*, абс.ч., $M \pm m$, нг/мл. Примітка. *- відмінність вірогідна ($p < 0,05$)

Гістологічне та імуногістохімічне дослідження біоптатів печінки показало, що представленість та виразність гістологічних маркерів АГ залежала від того, чи отримує пацієнт патогенетичне імуносупресивне лікування. Так гепатоцелюлярні розетки мали місце в 80,0% хворих дітей I групи та в 20,0% дітей II групи ($\chi^2=16,07$; $p < 0,01$), ацидофільні тільця Кунсильмена виявлені в 52,0% дітей I групи та у 20,0% II групи ($p < 0,05$), а скупчення лімфоцитів по типу «лімфоїдних фолікулів» мало місце лише в 52,0% дітей I групи. У всіх пацієнтів до призначення лікування мала місце лімфо-плазмоцитарна інфільтрація портального тракту і перипортальної зони, а також виразна позитивна експресія маркера плазматичних клітин CD138, в той час як у хворих, які отримували лікування лімфо-плазмоцитарну інфільтрацію портального тракту і перипортальної зони з поодинокими маркерами CD 138 мали 50,0% обстежених ($\chi^2=16,07$; $p < 0,05$). ІГА >9 балів встановлено у 82,0% дітей I групи та 18,0% дітей II групи ($\chi^2=21,2$; $p < 0,001$). Виразний фіброз ($>F2$ за METAVIR) мали 67,0% хворих. Мультилобулярний цироз, індукований аутоімунним гепатитом, діагностовано у 22,0% дітей.

За нашими даними у дітей з АГ біохімічна та гістологічна активність не є тотожними: У 41,0% дітей з мінімальною та низькою гістологічною активністю в печінці за показниками трансаміназ була висока активність, а у 19,0% дітей з високою гістологічною активністю мало місце підвищення показників трансаміназ лише до 5 норм.

У I групі дітей з АГ встановлено позитивний помірний прямий кореляційний зв'язок між ІГА та показниками мезенхімально-запального синдрому: тимолова проба $R=0,52$ ($p=0,001$), γ -глобуліни $R=0,53$ ($p=0,006$) та IgG $R=0,51$ ($p=0,001$). У хворих II групи встановлено помірний негативний кореляційний зв'язок між ІГА та показниками цитолітичного синдрому – АЛТ $R=-0,39$ ($p=0,032$), АСТ $R=-0,36$ ($p=0,049$), тимолової проби $R=-0,50$ ($p=0,005$) та помірний позитивний прямий зв'язок між ІГА та ГГТ $R=0,4$ ($p=0,02$), що підтверджує факт більш повільного регресу запального процесу в тканині печінці на відміну від біохімічних еквівалентів гепатиту. Порівняння результатів гістологічного дослідження паренхіми печінки у хворих до початку імуносупресивної терапії та на фоні лікування підтверджують, що імуносупресивна терапія призводить до патоморфозу АГ - зниження гістологічної активності, мінімізації проявів або повного зникнення

гістологічних маркерів АГ, що свідчить про доцільність проведення діагностичної пункційної біопсії печінки у цих хворих до початку призначення патогенетичної терапії.

Проведене нами дослідження для визначення місця ультразвукової еластографії зсувної хвилі паренхіми печінки в діагностиці фіброзу у дітей з АГ показало, що лише у 66,0% дітей стадія фіброзу отримана при гістологічному дослідженні співпадала з даними еластографії печінки.

У хворих з АГ I групи ми встановили позитивний значимий зв'язок між ІГА, та жорсткістю паренхіми печінки – $\tau = 0,30$ ($p = 0,003$), в той час, як у пацієнтів II групи мав місце слабкий недостовірний зв'язок між ІГА та жорсткістю паренхіми печінки - $\tau = 0,07$ ($p > 0,05$). Не встановлено кореляційного зв'язку між біохімічною активністю та жорсткістю паренхіми печінки, в пацієнтів обох груп ($p > 0,05$).

Для оцінки впливу імуносупресивного лікування на показники жорсткості печінки ми провели аналіз впливу біохімічної активності автоімунного гепатиту на показники жорсткості паренхіми печінки через 6 та 12 місяців лікування. Узагальнені дані наведені в таблиці 2.

Таблиця 2

Окремі лабораторні показники активності гепатиту та жорсткості паренхіми печінки через 6 та 12 місяців лікування (n=35), Ме [UQ-LQ]

	АЛТ, ОД/л	IgG, г/л	Загальний білірубін, мкмоль/л	γ -глобуліни, %	Жорсткість паренхіми печінки, кПа
До лікування	725[219-1353]*,**	12,6[10,3-20]*,**	28[14,6-49]*,**	28,6[18,5-38]*,**	13,7 [9,2-17,7]*,**
Через 6 міс лікування	27[21-48]	10[7,9-12,6]	17[14,2-21,2]	15,4[13,0-18,2]	9,2 [6,6-12,1]
Через 12 міс лікування	30[20-75]	10,8[10,0-16,8]	18,7[17,2-21,5]	18,7[17,2-21,5]	8,1 [5,9-11,15]

Примітка- * відмінність вірогідна ($p < 0,05$) до та через 6 місяців лікування.

** - відмінність вірогідна ($p < 0,05$) до та через 12 місяців лікування.

Через 6 та 12 місяців лікування, практично в усіх дітей вдалось досягнути нормалізації біохімічних показників та зниження показників жорсткості паренхіми печінки ($p < 0,05$).

Різниця показників жорсткості печінки до лікування та через 6 місяців лікування складала $29,0 \pm 13,58\%$, що відображає вклад частки активності захворювання в показник жорсткості печінки. Даний статистичний аналіз підтверджений відповідно до критерію Вілкоксона ($p < 0,05$).

З метою удосконалення методу оцінки стадії фіброзу печінки у пацієнтів з АГ запропоновано спосіб визначення стадії фіброзу печінки неінвазивним методом до лікування, без урахування активності запального процесу в печінці, з використанням формули $F = F1 - (F1 \cdot 30) / 100$, де F1- показник еластографії печінки до лікування в кПа, 30 % - різниця показників жорсткості до лікування та на фоні лікування, F- показник еластографії печінки в кПа без урахування активності. Проведений

математичний аналіз діагностичної ефективності даного методу підтвердив їх високу діагностичну ефективність у встановленні стадії фіброзу у дітей з АГ (Se75,0% Sp17,0% PV «+»78,26%; PV«-»14,29%; точність 63,3%). Оптимальними термінами проведення еластографії зсувної хвилі для оцінки виразності фіброзу печінки у дітей з АГ є 6 місяців від початку імуносупресивної терапії, за умови досягнення клініко-лабораторної ремісії, з наступним контролем через 12 місяців.

Визначення предикторів прогресування автоімунного гепатиту у дітей, проводилась методом розрахунку відносного ризику та відношення шансів. Проаналізовано дані анамнезу хвороби, особливості клінічного перебігу, лабораторні тести, морфологічні та ультразвукові критерії, а також варіанти поліморфізму гену VDR у дітей з виразним фіброзом (F2 за METAVIR).

Таблиця 3

Предиктори прогресуючого перебігу автоімунного гепатиту у дітей

Фактор	OR	95% CI (min-max)	RR	95% CI (min-max)	Se	Sp
Автоімунні захворювання у родичів першого порядку	3,4	0,85-13,5	1,4	1,01-1,93	0,57	0,85
Несвоєчасно встановлений діагноз АГ (більше ніж через 12 місяців від перших проявів хвороби)	6,0	1,85-20,3	1,9	1,4-3,2	0,78	0,63
Носові кровотечі	7,4	2,07-26,5	1,8	1,2-2,7	0,65	0,80
Малі печінкові знаки (пальмарна еритема, телеангіектазії)	7,3	1,8-28,62	2,4	1,08-5,7	0,90	0,45
Підвищення рівня IgG вище ВМН ,г/л	6,3	0,92-43,62	1,5	0,8-2,5	0,76	0,76
Підвищення рівня γ -глобулінів вище 25,0 г/л	6,3	0,92-43,62	1,5	0,8-2,5	0,76	0,76
Дефіцит вітаміну D, нг/мл	7,5	1,2-46,5	1,5	0,9-2,3	0,75	0,71
Наявність С алелі за поліморфним варіантом TagI гена VDR	1,96	0,77-5,0	1,5	0,81-3,0	0,78	0,34
Капіляризація синусоїдів	6,5	1,2-33,9	1,6	1,12-2,42	0,50	0,86
Проліферація дуктул	21,0	4,0-110	3,5	1,4-8,2	0,84	0,80

За результатами проведеного аналізу ми встановили 10 факторів які мають суттєвий зв'язок з прогресуючим перебігом АГ та є його предикторами (таблиця 3).

ВИСНОВКИ

1. Автоімунний гепатит є швидко прогресуючим автоімунним захворюванням печінки, яке у разі відсутності імуносупресивної терапії призводить до швидкого розвитку цирозу печінки. Темпи прогресування автоімунного гепатиту є індивідуальними, а предиктори недостатньо вивчені. Враховуючи вплив вітаміну D на функціонування імунної системи, дисбаланс якої лежить в основі розвитку даного захворювання та прогресування гепатиту, дослідження його впливу на процеси фіброзу в печінці у дітей з АГ та визначення предикторів прогресуючого перебігу даного захворювання в дитячому віці є актуальним напрямком в дитячій гепатології і дозволить знизити ризик розвитку у них цирозу печінки.

2. Встановлено, що у 80% обстежених дітей мав місце АГ 1 типу, а у 12% - серонегативний варіант. У 32,0 % хворих діагноз встановлено на стадії цирозу печінки. У 30,0 % дітей, за даними анамнезу (родичі першого порядку мали автоімунні захворювання), встановлена спадкова схильність до автоімунних захворювань. У 60,0 % обстежених захворювання маніфестувало з клініки гострого гепатиту, а 40% хворих мали безсимптомний перебіг дебюту хвороби ($p > 0,05$). Основними клінічними симптомами АГ у дітей є інтоксикаційний синдром (100,0%), гепатоспленомегалія (67,0%) та позапечінкові прояви (63,0%), а біохімічними синдромами – цитолізу (95,0%) та мезенхімально-запальний (83,0%) .

3. Встановлено, що дефіцит вітаміну D мав місце у двох третин (68,0%) дітей з АГ, а недостатність - у 17,0%. Доведено, що гістологічна активність АГ асоційована з рівнем забезпеченості вітаміном D в сироватці крові, так у дітей з ІГА < 9 балів за Knodell частка дітей з дефіцитом вітаміну D складала 25,0% ($n=7$), а у пацієнтів з ІГА > 9 балів - 75,0% ($n=21$) ($\chi^2=5,1$; $p=0,023$). У хворих з ЦП на ґрунті АГ частка пацієнтів з дефіцитом була максимальною і складала 89,0%, на відміну від 63% у хворих без ЦП ($\chi^2= 4,74$; $p=0,003$).

4. Доведено, що діти з АГ та генотипом GA за поліморфним варіантом BsmI мають достовірно нижчу концентрацію 25(OH)D ($12,44 \pm 5,52$ нг/мл) в сироватці крові порівняно з генотипами AA ($18,54 \pm 7,81$ нг/мл) та GG ($19,23 \pm 7,06$ нг/мл) ($p < 0,05$). Діти з комбінаціями генотипів AC/TC/GA за поліморфними варіантами ApaI, TagI, BsmI гена рецептора VDR мали достовірно нижчу концентрацію 25(OH)D в сироватці крові ($12,54 \pm 5,71$) нг/мл ніж діти із комбінацією генотипів AA/TC/AA ($19,84 \pm 8,29$ нг/мл), AC/TT/GG ($19,57 \pm 8,72$ нг/мл), CC/TT/GG ($18,76 \pm 4,36$ нг/мл) ($p < 0,05$). Генотип CC за поліморфним варіантом TagI гена рецептора VDR ($\chi^2=3,953$; $p < 0,05$) та комбінації генотипів AA/CC/AA за поліморфними варіантами ApaI, TagI, BsmI гена були асоційовані із виразним фіброзом F3 та F4 за METAVIR ($\chi^2=3,953$; $p < 0,05$).

5. Автоімунний гепатит у переважної більшості (67,0%) дітей характеризується виразним фіброзом >F2 за METAVIR з високою гістологічною активністю гепатиту (у 62,0% дітей ІГА > 9 балів за Knodell). Встановлено, що у дітей, які отримували лікування на момент проведення пункційної біопсії печінки ІГА був нижчим порівняно з хворими, які не отримували лікування ($\chi^2=21,2$; $p < 0,001$). На фоні лікування відбувається патоморфоз АГ - зниження гістологічної

активності із мінімальним виявленням позитивної експресії маркера плазмоцитів CD138, зменшення кількості ацидофільних тілець Каунсильмена, зниження здатності лімфоцитів до скупчення та утворення «лімфоїдних фолікулів», відсутність розеткоутворення ($p < 0,05$).

6. Встановлено, що у хворих з автоімунним гепатитом гістологічна активність впливає на показники жорсткості паренхіми печінки. У 66,0% дітей стадія фіброзу за гістологічними даними співпадала з даними еластографії печінки. У дітей з АГ поряд із зменшенням біохімічної активності гепатиту спостерігалось зниження показників жорсткості паренхіми печінки через 6 місяців 9,2 [6,6-12,1] та 12 місяців лікування 8,1 [5,9-11,15] ($p < 0,05$). Для визначення стадії фіброзу печінки у дітей з АГ еластографію зсувної хвилі печінки доцільно проводити не раніше ніж через 6 міс від початку імуносупресивної терапії, за умови досягнення клініко-лабораторної ремісії, а оцінку жорсткості паренхіми печінки до лікування у цих хворих проводити з використанням розробленої формули.

7. Предикторами прогресуючого перебігу АГ у дітей є: наявність автоімунних захворювань у родичів першого порядку (OR=3,4; 95% CI 0,85-13,5; RR=1,4; 95% CI 1,01-1,93; Se 57%, Sp 85%); встановлення діагнозу після появи перших симптомів більше ніж через 12 місяців (OR=6,09; 95% CI 1,85-20,3; RR=1,91; 95% CI 1,4-3,2; Se 78%, Sp 63%); носові кровотечі (OR=7,4; 95% CI 2,07-26,5; RR=1,85; 95% CI 1,2-2,7; Se 65%, Sp 80%); наявність малих печінкових знаків (пальмарна еритема, телеангіектазії) (OR=7,3; 95% CI 1,8-28,62; RR=2,48; 95% CI 1,08-5,7; Se 90%, Sp 45%); , підвищення рівня IgG вище норми у дітей які не отримували лікування до встановлення діагнозу (OR=6,3; 95% CI 0,92-43,62; RR=1,5; 95% CI 0,8-2,5; Se 76%, Sp 76%); підвищення рівня γ -глобулінів вище 25,0 г/л (OR=6,3; 95% CI 0,92-43,62; RR=1,5; 95% CI 0,8-2,5; Se 76%, Sp 76%); дефіцит вітаміну D (OR=7,5; 95% CI 1,2-46,5; RR=1,5; 95% CI 0,9-2,3; Se 75%, Sp 71%); наявність C алелі за поліморфним варіантом TagI (OR=1,96; 95% CI 0,77-5,0; RR=1,56; 95% CI 0,81-3,0; Se 78%, Sp 34%); за результатами морфологічного дослідження біоптату печінки у хворої дитини капіляризація синусоїдів (OR=6,5; 95% CI 1,2-33,9; RR=1,6; 95% CI 1,12-2,42; Se 50%, Sp 86,7%); проліферація дуктул (OR=21,0; 95% CI 4,0-110; RR=3,5; 95% CI 1,4-8,2; Se 84%, Sp 80%).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Предикторами прогресуючого перебігу АГ є: наявність автоімунних захворювань у родичів першого порядку; встановлення діагнозу після появи перших симптомів більше ніж через 12 місяців; носові кровотечі; наявність малих печінкових знаків (пальмарна еритема, телеангіектазії); підвищення рівня IgG вище норми до початку лікування; підвищення рівня γ -глобулінів вище 25,0 г/л; дефіцит вітаміну D; наявність C алелі за поліморфним варіантом TagI; капіляризація синусоїдів, проліферація дуктул за результатами морфологічного дослідження біоптату печінки.

2. Для попереднього визначення стадії фіброзу печінки методом еластографії зсувної хвилі у дітей з АГ до лікування необхідно використовувати наступну формулу $F=F1-(F1\cdot 30)/100$,

де F1- показник еластографії печінки до лікування в кПа, 30 % - різниця показників жорсткості до лікування та на фоні лікування, F- показник еластографії печінки в кПа без урахування активності.

Оптимальним терміном виконання еластографії печінки методом зсувної хвилі для визначення стадії фіброзу у дітей з АГ є проведення дослідження через 6 місяців від початку імуносупресивної терапії, за умови досягнення клініко-лабораторної ремісії, із наступним моніторингом кожні 6 місяців для оцінки перебігу хвороби.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Березенко В.С., Михайлюк Х.З. Особливості маніфестації автоімунного гепатиту у дітей. Сучасна педіатрія.2017; 6(86):80-87. *(Здобувач здійснила пошук літературних даних, самостійно забезпечила відбір, обстеження та лікування хворих; обробку, аналіз та узагальнення отриманих результаті та підготовку матеріалу до друку).*
2. Березенко В.С., Михайлюк Х.З., Шадрін В.О., Крат В.В. Особливості забезпеченості вітаміном D дітей з автоімунним гепатитом. Перинатологія і педіатрія. 2018;1(73):92-98.*(Здобувач провела огляд літератури, відбір пацієнтів; обробку, аналіз та узагальнення отриманих результатів та підготовку матеріалу до друку).*
3. Березенко В.С., Михайлюк Х.З., Келихевич С.М. Лікувальний патоморфоз автоімунного гепатиту у дітей. «Art of medicine». 2018;3(7): 54-59.*(Здобувач самостійно забезпечила відбір, обстеження та спостереження за хворих; обробку, аналіз та узагальнення отриманих результатів).*
4. Березенко В. С., Задорожна Т. Д., Михайлюк Х. З., Тарасюк Б. А., Коробко В. Ф., Келихевич С. М. Морфологічні та ультразвукові особливості фіброзу печінки в дітей з автоімунним гепатитом. Патологія. 2018. Т. 15, 3(44): 330–336 DOI: 10.14739/2310-1237. 2018.3.1518155. *(Здобувач здійснила пошук та обробку літературних даних, самостійно провела відбір хворих; обробку, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовку матеріалів до друку).*
5. Березенко В.С. Можливості поєднання неінвазивних методів для оцінки стадії фіброзу печінки у дітей із хронічним гепатитом С. Березенко В.С., Диба М.Б., Михайлюк Х.З., Ткалик О.М., Крат В.В., Тарасюк Б.А. Коробко В.Ф. Сучасна педіатрія. 6(94)/2018- С. 14-22- *(Дисертант провела збір матеріалу, обробку отриманих даних, аналіз та узагальнення отриманих результатів підготувала статтю до друку).*
6. Berezenko V. S. Correlation of polymorphous variants (ApaI, TagI, BsmI) of the VDR receptor gene with the vitamin D level and liver fibrosis in children with autoimmune hepatitis/V. S. Berezenko, H. Z. Mykhailiuk, Z. I. Rossokha, S. P. Kyriachenko // Zaporozhyemedicaljournal 2019; 21 (4), 458–465 DOI: 10.14739/2310-1210.2019.4.173196 *(Здобувач збрала, проаналізувала матеріал, самостійно*

- забезпечила підбір пацієнтів, обробку статистичних даних, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовку до друку).
7. Березенко В.С. Михайлюк Х.З. Диба М.Б. Палкін А.Ю. Особливості забезпеченості вітаміном D дітей хворих на автоімунний гепатит. Актуальні проблеми педіатрії. Матеріали XIII з'їзду педіатрів України (11-13 жовтня 2016 р., м. Київ). Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології 2016 Том 10 №1:25-26. *(Дисертантом зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлено тези до друку)*
 8. Березенко В.С., Михайлюк Х.З., Диба М.Б., Крат В.В. Особливості забезпеченості вітаміном D дітей, хворих на автоімунний гепатит. Vol', sustavy, rozvoपोčnik. 2017;7(4):200-205. doi: 10.22141/2224-1507.7.4.2017.121233.- *Дисертантом зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлено тези до друку.*
 9. Михайлюк Х.З. Морфологічні особливості автоімунного гепатиту у дітей. Науково-практична конференція молодих вчених, присвячена 25 річчю Національної Академії медичних наук України, (м. Київ, 2018). «Журнал НАМН України», Спеціальний випуск, 2018, ст.163. *(Дисертантом зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлені тези до друку)*.
 10. Березенко В.С. Михайлюк Х.З., Диба М.Б., Крат В.В., Ткалик О.М. / Зв'язок забезпеченості вітаміном D у дітей з автоімунним гепатитом з поліморфними варіантами (ApaI, TagI, BsmI) гена рецептора вітаміну D (VDR)/ Матеріали VIII Міжнародного медичного конгресу «Впровадження сучасних досягнень медичної науки у практику охорони здоров'я України» м.Київ, 17-19 квітня 2019р С.148. *(Дисертантом зібрано, систематизовано та проаналізовано матеріал, підготовлені тези до друку)*.
 11. Дикан І.М., Тарасюк Б.А., Березенко В.С., Михайлюк Х.З., Коробко В.Ф. Винахідники; Державна установа «Інститут ядерної медицини та променевої діагностики НАМН України», Державна установа «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М.Лук'янової НАМН України» патентовласники. Спосіб діагностики автоімунних захворювань печінки у дітей. Патент на корисну модель № 130181; № u201806393; Заявка 07.06.2018; опубл. 26.11.2018. Бюл. № 22.- Розділ 6. *(Здобувач провела підбір хворих та аналіз отриманих результатів)*.
 12. Березенко В.С., Михайлюк Х.З., Задорожна Т.Д., Тарасюк Б.А., Коробко В.Ф. Винахідники. Державна установа «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М.Лук'янової НАМН України» патентовласник. Спосіб оцінки фіброзу печінки у дітей з автоімунним гепатитом Патент на корисну модель 131392; № u201808143; Заявка 23.07.2018; опубл. 10.01.2019. Бюл. № 1.- Розділ 6. *(Здобувачу належить ідея корисної моделі, ним було проведено статистичну обробку матеріалу, аналіз отриманих результатів, оформила заявку на корисну модель)*.

АНОТАЦІЯ

Михайлюк Х.З. Удосконалення діагностики та клінічного перебігу автоімунного гепатиту у дітей. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.10 - «Педіатрія» - Державна установа «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології імені академіка О.М.Лук'янової Національної академії медичних наук України» - Київ, 2019.

Дисертація присвячена проблемі підвищення ефективності діагностики прогресуючого перебігу автоімунного гепатиту у дітей шляхом дослідження впливу на перебіг хвороби забезпеченості організму дитини вітаміном D, варіантів поліморфізму гена VDR та оцінки результатів еластографії зсувної хвилі в діагностиці фіброзу печінки у цих хворих. Встановлено залежність між рівнем концентрації 25(OH)D у дітей з АГ з морфо-функціональними особливостями перебігу хвороби. У двох третин пацієнтів мав місце дефіцит вітаміну D. Встановлено, що гістологічна активність АГ та стадія фіброзу пов'язані з концентрацією 25(OH)D в сироватці крові. Доведено взаємозв'язок певних генотипів поліморфних варіантів гену VDR (ApaI, BsmI, TagI) з рівнем вітаміну D та прогресуванням АГ у дітей. Встановлено, що дефіцит вітаміну D асоційований із наявністю генотипу GA за поліморфним варіантом BsmI та комбінації генотипів AC/TC/GA за поліморфними варіантами ApaI, TagI, BsmI гена рецептора VDR. Генотип CC за поліморфним варіантом TagI гена рецептора VDR та комбінації генотипів AA/CC/AA за поліморфними варіантами ApaI, TagI, BsmI гена були асоційовані із виразним фіброзом F3-F4 за METAVIR у дітей з АГ. Доведено, що імуносупресивна терапія призводить до лікувального патоморфозу АГ. У 66,0% дітей стадія фіброзу за гістологічними даними співпадала з даними еластографії печінки. Запропоновано спосіб визначення стадії фіброзу печінки неінвазивним методом до лікування, без урахування активності запального процесу в печінці з використанням розробленої формули та оптимальні терміни проведення цього дослідження. Встановлені діагностичні предиктори прогресуючого перебігу АГ у дітей.

Ключові слова: автоімунний гепатит, діти, фіброз печінки, 25(OH)D в сироватці крові, поліморфізм VDR (ApaI, BsmI, TagI), жорсткість паренхіми печінки методом еластографії зсувної хвилі, морфологічне дослідження біоптату печінки.

АННОТАЦИЯ

Михайлюк К.З. Усовершенствование диагностики и клинического течения аутоиммунного гепатита у детей. - Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.01.10 - «Педиатрия» - ГУ «Институт педиатрии, акушерства и гинекологии имени академика Е.М. Лукьяновой Национальной академии медицинских наук Украины» - Киев, 2019.

Диссертация посвящена проблеме повышения эффективности диагностики прогрессирующего течения аутоиммунного гепатита у детей путем исследования влияния на течение болезни обеспеченности организма ребенка витамином D, вариантов полиморфизма гена VDR и оценки результатов эластографии сдвиговой волны в диагностике фиброза печени у этих больных. Установлена зависимость между концентрацией 25(OH)D у детей с АГ с морфо-функциональными особенностями течения болезни. У двух третей пациентов имел место дефицит витамина D. Установлено, что гистологическая активность АГ и стадия фиброза связаны с концентрацией 25(OH)D в сыворотке крови. Доказана взаимосвязь определенных генотипов полиморфных вариантов гена VDR (ApaI, BsmI, TagI) с уровнем витамина D и прогрессированием АГ у детей. Установлено, что дефицит витамина D ассоциирован с наличием генотипа GA по полиморфным вариантам BsmI и комбинации генотипов AC/TC/GA с полиморфными вариантами ApaI, TagI, BsmI гена рецептора VDR. Генотип CC по полиморфным вариантам TagI гена рецептора VDR и комбинацией генотипов AA/CC/AA по полиморфным вариантам ApaI, TagI, BsmI гена были ассоциированы с выразительным (это слово не подходит, выразительные черты лица) фиброзом F3- F4 по METAVIR у детей с АГ. Доказано, что иммуносупрессивная терапия приводит к лечебному патоморфозу АГ. У 66,0% детей стадия фиброза по гистологическим данным совпадала с данными эластографии печени. Предложен способ определения стадии фиброза печени неинвазивным методом к лечению, без учета активности воспалительного процесса в печени с использованием разработанной формулы и оптимальные сроки проведения этого исследования. Установлены диагностические предикторы прогрессирующего течения АГ у детей.

Ключевые слова: аутоиммунный гепатит, дети, фиброз печени, 25 (OH) D в сыворотке крови, полиморфизм VDR (ApaI,BsmI,TagI), жесткость паренхимы печени методом эластографии сдвиговой волны, морфологическое исследование биоптата печени.

SUMMARY

Mykhailiuk Khrystyna Zenoviivna. Improvement of diagnosis and evaluation of clinical course of autoimmune hepatitis in children. - Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for the degree of Candidate of Medical sciences in specialty 14.01.10 "Pediatrics". – GE "Academic O.M. Lukyanova's Institute of pediatrics, obstetrics and gynecology of NAMS of Ukraine", Kyiv, 2019.

Dissertation is devoted to the problem of increasing of the diagnostic efficiency of the autoimmune hepatitis progressive course in children by studying the influence of vitamin D supply on the disease course, variants of the VDR gene polymorphism and evaluation of the results of shear wave elastography in the diagnosis of liver fibrosis in these patients.

It is known that AH is predominantly spread among girls of prepubertal and pubertal age and this quantity makes 68,0% against 32,0% among boys ($p < 0,005$).

Autoimmune pathology was high enough in the families of patients with AH reaching 30% among first line relatives. AH I type predominates in children and makes 80,0%; AH II type was detected in one patient and seronegative type of AH was found in 12%. Clinical manifestations of the diseases were found nonspecific and similar to the same in acute hepatitis. Histological activity (Knodell) degree and inflammation biochemical activity in the liver, according to our data, are not identical but significantly complement each other what can be proved by the fact of 5 times transaminases level increase in 19,0% of children with high histological activity.

According to the results of liver's biopsy morphology it was detected that prevailing majority of children with AH had marked fibrosis and initial signs of cirrhosis (F3-4 METAVIR) - 67,0%. Morphological signs of cirrhosis were found in 22,0% of children. Moderate and high histological activity was diagnosed in 62,0% patients. 68,0% of children with AH have vitamin D deficiency, which doesn't depend on the season and region of residence. Histological activity and stage of fibrosis affect the level of 25(OH)D in serum. In patients with IHA <9 points, the proportion of children with vitamin D deficiency was 25,0%, and in patients with IHA > 9 points - 75,0%. Analysis of vitamin D availability in patients with different stages of fibrosis according to morphological study showed that in children with stage F2 METAVIR the proportion of children with vitamin D deficiency was 67,0%, with fibrosis stage F3- 75,0% and in patients with liver cirrhosis -90,0% ($p>0,05$).

Vitamin D deficiency in children with autoimmune hepatitis is associated with genetic peculiarities of patients such as GA genotype VDR gene BsmI polymorphic variant and AC/TC/GA genotypes combinations of VDR receptor's gene ApaI, TagI and BsmI variants ($p<0,05$). CC genotype of VDR receptor's gene TagI polymorphic type and combination of AA/CC/AA genotypes of ApaI, TagI, BsmI gene's polymorphic variants were associated with remarkable fibrosis F3 and F4 METAVIR ($p<0,05$).

Immunosuppressive therapy has been shown to lead to curative pathomorphosis of AH. In 66,0% of patients fibrosis stage detected in histological investigation coincided with liver elastography results. The use of shear wave ultrasound elastography for fibrosis stage detection in children with AH during period of thriving clinical manifestations is not reasonable as far as hepatitis activity influences the indexes of liver's parenchyma density. A method of determining the stage of liver fibrosis by a non-invasive method for treatment without taking into account the activity of the inflammatory process in the liver using the developed formula is proposed and the optimal timing of this study. Diagnostic predictors of the progressive course of AH in children have been as well established.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

АГ - автоімунний гепатит

ХДЗП - хронічні дифузні захворювання печінки

ГІС - гістологічний індекс фіброзу

ІГА - індекс гістологічної активності

УЗД – ультразвукове дослідження

ЦП – цироз печінки

VDR- рецептори вітамінуD

Me - в статистиці величина ознаки, що розташована в середині ряду вибірки

OR - відношення шансів

RR - відносний ризик

Se - чутливість

Sp - специфічність

LQ-UQ - інтерквартильний інтервал

ПТІ - протромбіновий індекс

МНО - міжнародне нормалізаційне відношення

АЧТЧ - активний частковий тромбопластиновий час

АлАТ - аланінамінотрансфераза

АсАТ - аспартатамінотрансфераза

ЛФ - лужна фосфатаза

ГГТ- гамма глутамілтранспептидаза