

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД  
«ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
імені І.Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО»

**РИКАЛО НАДІЯ АНАТОЛІВНА**

УДК 616-092:616.36-002:614.253.81:616-085

**ПАТОГЕНЕЗ ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТІВ В І С У ДІТЕЙ:  
ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ, ПАТОГЕНЕТИЧНА ТЕРАПІЯ  
(експериментально - клінічне дослідження)**

14.03.04 – патологічна фізіологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
доктора медичних наук

Тернопіль – 2011

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вінницькому національному медичному університеті ім. М.І. Пирогова МОЗ України.

**Науковий консультант:** академік НАМН України, доктор медичних наук, професор **Мороз Василь Максимович**, Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України, завідувач кафедри нормальної фізіології, ректор.

**Офіційні опоненти:**

член-кореспондент НАН і НАМН України, заслужений діяч науки і техніки України, доктор медичних наук, професор **Резніков Олександр Григорович**, Державна установа «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», м. Київ, завідувач відділу ендокринології репродукції та адаптації;

доктор медичних наук, професор **Ткачук Світлана Сергіївна**, Буковинський державний медичний університет МОЗ України, завідувач кафедри фізіології;

доктор медичних наук, професор, **Гудима Арсен Арсенович**, державний вищий навчальний заклад «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського», завідувач кафедри екстреної медичної допомоги і медицини катастроф з курсом військової підготовки.

Захист відбудеться 27 травня 2011 р. об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 58.601.01 у державному вищому навчальному закладі “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” МОЗ України за адресою: 46001, м. Тернопіль, майдан Волі, 1.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці державного вищого навчального закладу “Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського” за адресою: 46001, м. Тернопіль, вул. Січових Стрільців, 8.

Автореферат розісланий “ 21 ” квітня 2011 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради

доктор біологічних наук, професор

І.М. Кліщ

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Проблема з'ясування вікових особливостей патогенезу хронічних вірусних гепатитів у дітей та вдосконалення їх патогенетичної терапії залишається одним із актуальних питань патофізіології і медицини з огляду на те, що дана патологія найбільш розповсюджена на земній кулі і характеризується прогресивним перебігом, розвитком цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми (Rosenthal P., 2006; Поеже U.H. et al., 2007; Brenner D.A., 2009; Учайкин В.Ф., 2008; Шахгильдян И.В., 2008; Ильянкова А.А., 2009).

В Україні теж вкрай несприятлива епідемічна ситуація з вірусними гепатитами В і С (Крамарев С.А., 2007; Андрейчин М.А., 2008; Гураль А.Л., 2008; Марієвський В.Ф., 2008; Губергриц Н.Б., 2010; Федорченко С.В., 2010). Особливу небезпеку складають інфіковані вагітні, через можливість реалізації вертикального шляху передачі вірусів (Мороз Л.В., 2002; Андрейчин М.А., 2006). Інфікування дітей першого року життя головним чином відбувається перинатально. У 38-90 % із них розвивається первиннохронічний вірусний гепатит із прогресивним перебігом, високою загрозою розвитку ускладнень (Учайкин В.Ф., 2003; Чуелов С.Б. и др., 2008; Pembrey L. et al., 2008; Bortolotti F., 2009). У дітей старшого віку ХВГ можуть маскуватися під патологію інших органів та систем, оскільки на перший план виступають позапечінкові прояви (Гунякова В.К., 2005; Muratori L. et al., 2008; Марієвський В.Ф., 2008), що зумовлює пізню діагностику на стадії формування цирозу печінки та проявів печінкової недостатності.

Відомо, що порушення цитокинової регуляції при вірусних гепатитах є одним із механізмів хронізації, формування цирозу та гепатоцелюлярної карциноми (Филимонов П.Н. и др., 2002; Нейко Є.М. та ін., 2003; Бударина Н.А. 2004; Нікітін Є.В. та ін., 2007; Douglass A. et al., 2008). Перебіг хронічних вірусних гепатитів В та С у дітей, особливо інфікованих перинатально, має певні особливості, які пов'язані з імунною відповіддю, багато механізмів реалізації якої ще не розкриті, а літературні дані стосовно цитокинового профілю та імунного статусу нечисленні, неоднозначні й неостаточні. Визначення цитокинового профілю крові з диференційованою оцінкою цитокінів різних імунокомпетентних клітин при даній патології в дітей у віковому аспекті є актуальним із метою з'ясування механізмів імунологічної та цитокинової відповіді, які необхідні для розробки діагностичних критеріїв несприятливого перебігу даної патології та попередження ускладнень.

Збільшення кількості інфікованих вірусами гепатитів В та С, пізня діагностика й неефективність лікування ведуть до збільшення летальності (Белозеров Е.С., 2004; Hughes С.А., 2006). Поряд зі знанням етіології й молекулярно-біологічних аспектів патогенезу вірусних гепатитів необхідно мати чіткі уявлення про безпосередні причини летальних наслідків. Відтак є актуальними дослідження морфологічних проявів вірусних гепатитів у дітей із летальним наслідком (Комарова Д.В., Цинзерлинг В.А., 1999; Березенко В.С., 2007). Важливо з'ясувати патогенетичну роль поза-

печінкових морфологічних змін у таких випадках.

Проблема адекватного і ефективного лікування хронічних вірусних гепатитів В та С у дітей залишається актуальною (Лук'янова О.М. та ін., 2006-2008; Крамарев С.О., 2007; Учайкин В.Ф., 2007). Фармакотерапія даної патології в дітей у наш час регламентується Наказом МОЗ України (№ 471 від 10 вересня 2007 року) та базується на етіологічному і патогенетичному принципах, спрямованих на корекцію порушень, пов'язаних зі зміною функції печінки, та на профілактику ускладнень. При етіологічному лікуванні перевага надається рекомбінантним формам інтерферону- $\alpha$  (Майер К.П., 2004; Мороз Л.В., 2007; Davidson M.S., 2008). Оскільки інтерферонотерапія в дітей має ряд протипоказань і призначається лише після дворічного віку (Денисова М.Ф., 2006; Крамарев С.А., 2007; Лук'янова О.М. та ін., 2008), більшість дітей із хронічними вірусними гепатитами В та С отримує лише патогенетичну терапію, основне місце серед цих засобів посідають гепатопротектори (Дроговоз С.М., 2005, 2006; Лук'янова О.М., 2007).

Відомі механізми дії та фармакологічні ефекти гепатопротекторів вивчені в доклінічних і клінічних дослідженнях переважно біохімічними та морфологічними методами (Дроговоз С.М., 2003, 2006; Харченко Н.В., 2004), тоді як вплив гепатопротекторів на клітинні механізми репаративного відновлення печінки на сьогоднішній день не відомий. Разом із тим, різні препарати можуть мати окремі відмінності у впливі на активність проліферативних, поліплоїдизаційних та гіпертрофічних процесів у печінці, що, безсумнівно, може відобразитися на ступені регенерації патологічно зміненого органу та прогнозі захворювання. Це обґрунтовує необхідність проведення експериментальних досліджень з вивчення дії гепатопротекторів на клітинні механізми регенерації з урахуванням впливу на лімфо- та кровообіг, антиапоптичних, антитоксичних, антиоксидантних, протизапальних, антифіброзних, антихолестатичних та антицитолітичних ефектів.

Таким чином, хронічні вірусні гепатити В та С у дітей є актуальною медико-соціальною проблемою сьогодення, яка потребує дослідження, через наявність несприятливих для життя наслідків. Зростання кількості інфікованих дітей, у тому числі новонароджених, потребує детального вивчення вікових особливостей патогенезу даної патології, розробки нових принципів патогенетичного лікування, спрямованих на збереження та підвищення репаративної регенерації тканини печінки для відновлення функцій ушкодженого органу.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова "Морфогенез та медикаментозний патоморфоз захворювань шлунково-кишкового тракту" (номер державної реєстрації 0104U010146). Дисертант є співвиконавцем названої НДР. Тема дисертації затверджена проблемною комісією МОЗ і АМН "Патологічна фізіологія та імунологія" (протокол № 72 від 14 травня 2009 року).

**Мета дослідження:** встановити вікові особливості патогенезу хронічних вірусних гепати-

тів В і С у дітей та розробити нові підходи до патогенетичного лікування.

**Завдання дослідження:**

1. Встановити патогенетичні особливості основних клініко-лабораторних синдромів і симптомів у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С залежно від фази реплікації вірусу та віку.

2. Дослідити цитокіновий профіль сироватки крові з урахуванням фази інфекційного процесу, запальної активності та віку дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С, для з'ясування його ролі в механізмах прогресування захворювання.

3. Проаналізувати зміни показників гуморального та клітинного імунітету при хронічних вірусних гепатитах В і С у дітей різного віку з урахуванням вікових особливостей стану імунної системи, фази реплікації вірусу та активності запального процесу.

4. Встановити характер змін біохімічних показників та ступінь їх кореляції з показниками цитокінового профілю та імунного статусу дітей різного віку, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С.

5. Вивчити патоморфологічні зміни у внутрішніх органах при летальних випадках вірусних гепатитів та уточнити їх патогенез з урахуванням вікових особливостей дитячого організму.

6. Розробити діагностичні критерії несприятливого прогнозу при хронічних вірусних гепатитах В і С у дітей різного віку.

7. Дослідити зміни фаз клітинного циклу, плоідності набору та фрагментації ДНК в ядрах клітин печінки статевонезрілих щурів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті та його патогенетичному лікуванні з метою виявлення особливостей впливу різних гепатопротекторів на процеси, що відбуваються в ядрі.

8. Визначити в експерименті найбільш ефективні серед широко уживаних гепатопротекторів, використовуючи біохімічні, цитофлуориметричні та морфологічні критерії.

9. Розробити та обґрунтувати нові підходи до патогенетичної терапії хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей різного віку.

*Об'єкт дослідження:* хронічні вірусні гепатити В і С у дітей, хронічний токсичний гепатит у статевонезрілих щурів.

*Предмет дослідження:* патогенетичні особливості перебігу, функціонального стану печінки, цитокінового профілю та імунологічного статусу при хронічних вірусних гепатитах В і С у дітей різного віку, патоморфологія летальних випадків вірусних гепатитів у дітей, патогенетичне лікування.

*Методи дослідження:* експериментальні – для дослідження ефективності гепатопротекторів; біохімічні – для вивчення функціонального стану печінки; імунологічні – для дослідження клітинної та гуморальної ланок імунітету; імуноферментні – для визначення вмісту цитокінів, іму-

ноглобулінів, маркерів вірусних гепатитів та  $\alpha$ -фетопротеїну в сироватці крові; цитофлуориметричні – для вивчення фаз клітинного циклу, фрагментації та плоідності ядерної ДНК гепатоцитів щурів; клінічні – для з'ясування вікових особливостей маніфестації хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей; молекулярно-біологічні – для визначення ДНК вірусу гепатиту В та РНК вірусу гепатиту С; морфологічні – для аналізу ступеня ушкодження печінки, нирок, підшлункової залози, кишок, легень, головного мозку, наднирників та тимуса, математичні – для статистичної обробки х результатів.

**Наукова новизна одержаних результатів.** У дисертаційній роботі на основі теоретичного підходу, експериментального та клінічного досліджень розкрито нові, невідомі раніше, вікові особливості патогенезу хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей залежно від стану цитокинової регуляції та функціонування клітинної і гуморальної ланок імунітету. Встановлено вплив найбільш уживаних гепатопротекторів на процеси репаративної регенерації гепатоцитів, фрагментацію та плоідність набору ядерної ДНК, біохімічні параметри та морфологічні прояви при експериментальному хронічному токсичному гепатиті, що є необхідним для пізнання механізмів розвитку та розробки нових напрямків патогенетичної терапії хронічних вірусних гепатитів у дітей.

Уперше доведена детермінованість патогенетичних особливостей клініко-лабораторних показників при хронічних вірусних гепатитах у дітей залежно від віку, фази реплікації вірусу та активності запального процесу. Уперше в дітей у віковому аспекті проведено дослідження цитокинового профілю та імунного статусу при хронічних вірусних гепатитах В і С, на основі чого розкриті вікові особливості патогенезу та встановлені предиктори несприятливого перебігу даної патології в дітей першого року життя та підлітків. У дітей першого року життя констатовано зменшення рівня інсуліноподібного фактору росту-1, інтерферонів- $\alpha$  та  $\gamma$ , збільшення вмісту трансформуючого фактору росту- $\beta$ 1, інтерлейкіну-10, що сприяє первинній хронізації вірусних гепатитів В і С, а збільшення рівня інсуліноподібного фактору росту-1 та пептидно-зв'язаного гідроксипроліну з віком має важливу роль у розвитку і прогресуванні фіброзу печінки й пояснює швидкі темпи формування цирозу печінки в підлітків та юнаків.

Уточнено вікові аспекти патогенезу хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей різного віку на основі комплексного дослідження кореляційних взаємозв'язків та співставлення клінічних, біохімічних і морфологічних даних, показників цитокинового профілю, гуморального та клітинного імунітету.

Встановлені вікові особливості печінкових та позапечінкових гістологічних змін органів і тканин в організмі дітей при летальних наслідках вірусних гепатитів поглибили розуміння механізмів розвитку даної патології та дозволили вперше інтегровано оцінити глибину і небезпеку ускладнень. У дітей першого року життя, як правило на тлі акцидентальної інволюції тимуса 3-5 ступеня, розвивається гігантоклітинний вірусний гепатит В і С, характерними особливостями яко-

го є фюльмінантний перебіг, що призводить до гострої печінкової та поліорганної недостатності. Для підлітків характерним є формування цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми, що спричиняє розвиток хронічної печінкової недостатності, типовим проявом якої є геморагічний синдром.

Уперше в експерименті досліджені ядерні механізми ушкодження та регенерації гепатоцитів на основі змін фаз клітинного циклу, плідності набору та фрагментації ядерної ДНК у статевонезрілих щурів при хронічному токсичному гепатиті, а також вивчено вплив гепатопротекторів на вказані процеси. Визначені найбільш ефективні препарати, які володіють регенераційною та антиапоптичною фармакологічною активністю.

Патогенетично обгрунтована доцільність вибору і застосування окремих гепатопротекторів при хронічних вірусних гепатитах В і С у дітей залежно від домінуючих клініко-біохімічних синдромів та віку. Розроблені і запропоновані нові, патогенетично обгрунтовані та експериментально доведені підходи до лікування хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей з урахуванням віку, спрямовані на регуляцію репаративної регенерації ушкодженої печінки.

Уперше цитофлуориметрично встановлено новий фармакологічний ефект гепатопротекторів біциклолу, антралю та тіотриазоліну, який полягає в підсиленні синтезу ядерної ДНК гепатоцитів, що значно збільшує їх потенціал до проліферації. Більш помірно впливають на клітинний цикл гепатоцитів есенціалє, урсохол, дарсіл, незначно посилюючи синтетичні та мітотичні процеси в ядрах гепатоцитів, що можна використовувати для попередження неконтрольованого збільшення маси органу. Уперше встановлено, що зменшення фрагментації ядерної ДНК відбувається при застосуванні артишоку та галстени. Доведено, що потужним антифіброзним ефектом володіють препарати біциклол та антраль, дещо меншою мірою – урсохол, есенціалє та глутаргін.

**Практичне значення одержаних результатів.** За результатами наукового дослідження виявлені особливості патогенезу хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей різного віку, що допоможе практикуючим лікарям результативно контролювати перебіг захворювання, попереджувати прогресування та розвиток небезпечних ускладнень. Запропонований спосіб неінвазивної діагностики фіброзу та цирозу печінки на основі кількісного визначення  $\alpha$ -фетопротеїну в сироватці крові (Пат. 53526 України) допоможе у скринінговому виявленні даних ускладнень хронічних вірусних гепатитів. Розроблено і патогенетично обгрунтовано діагностичний алгоритм виявлення хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей різного віку, який допоможе практикуючим лікарям проводити вчасну діагностику та адекватне диспансерне спостереження за даним контингентом хворих із метою своєчасного лікування та профілактики ускладнень. Встановлені предиктори несприятливого перебігу даної патології, які зумовлюють розвиток первиннохронічного вірусного гепатиту та швидке формування цирозу печінки в дітей першого року життя та підлітків, якими є: дисбаланс прозапальних (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8), протизапальних (IL-4, IL-10) та профіброгенних (IGF-

1, TGF- $\beta$ ) цитокінів, дефіцит інтерферогенезу, збільшення вмісту пептидно-зв'язаного гідрокси-проліну, що дозволить практикуючим лікарям удосконалити проведення моніторингу перебігу хронічних вірусних гепатитів у дітей та ефективності терапії. На основі аналізу вікових особливостей морфофункціонального стану печінки дітей із вірусним гепатитом, який закінчився летально, визначені структурні основи прогресивності (хронізації і розвитку цирозу печінки) й оцінена їх роль у виникненні системних розладів у дитячому організмі.

Розроблена і запатентована експериментальна модель хронічного токсичного гепатиту в статевонезрілих щурів (Пат. 43704 України).

Розроблені нові принципи індивідуальної патогенетичної терапії хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей різного віку залежно від потреби активації процесів регенерації печінки чи зменшення виразності біохімічних синдромів цитолізу, холестазу, мезенхімального запалення, покращення загального функціонального стану органу, сповільнення темпів фіброзування, що дозволить підвищити ефективність лікування даної патології. За матеріалами дисертації видано інформаційний лист № 60 про нововведення в системі охорони здоров'я “Діагностичні критерії виявлення хронічних вірусних гепатитів В та С у дітей” (К., 2008).

Результати дослідження впроваджено в науковий та навчальний процеси на кафедрах патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, Івано-Франківського національного медичного університету, Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця, Донецького національного медичного університету ім. М. Горького, Харківського національного медичного університету, ДВНЗ “Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського”, Сумського державного університету, ВДНЗУ “Українська стоматологічна академія”, на кафедрах дитячих інфекційних хвороб, педіатрії № 1, фармакології, біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, у науковий процес науково-дослідної клініко-діагностичної лабораторії та відділу біохімічних досліджень НДІ реабілітації інвалідів Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова, у практичну діяльність Обласної дитячої клінічної інфекційної лікарні м. Вінниці, Вінницької Обласної дитячої клінічної лікарні, Вінницького Обласного клінічного ендокринологічного диспансеру, Хмельницької міської дитячої лікарні.

**Особистий внесок здобувача.** Автором самостійно здійснено розробку основних теоретичних положень роботи, проведено аналіз вітчизняних і зарубіжних наукових джерел відповідно до теми дослідження, опановано методи запланованих досліджень. Дисертантом розроблена експериментальна модель хронічного токсичного гепатиту в статевонезрілих щурів та самостійно проведено всі експериментальні дослідження. Здійснено набір і обробку фактичного матеріалу, статистичний та науковий аналіз отриманих результатів. Морфологічні дослідження проведені на кафедрі патологічної анатомії ВНМУ ім. М. І. Пирогова за участю к.мед.н., доц. Рауцкієне В. Т., цито-



флуориметричні – у НДЦ ВНМУ ім. М. І. Пирогова під керівництвом д.мед.н., проф. Гунаса І. В., біохімічні – у Науково-дослідній клініко-діагностичній лабораторії на базі ВНМУ ім. М. І. Пирогова під керівництвом д.мед.н., проф. Луцюка М. Б., імунологічні дослідження виконані під керівництвом д.мед.н., професора Пухлика Б. М. на базі акредитованої лабораторії “Імунолог” м. Вінниця. Дисертантом самостійно написано та проілюстровано всі розділи дисертації, проведено аналіз та узагальнення результатів дослідження, сформульовано усі положення і висновки, підготовлено до друку результати власних досліджень. Автором за темою дисертації самостійно написано 15 статей у фахових виданнях і 12 – у співавторстві з науковим консультантом та колегами, де дисертанту належать основні ідеї та розробки стосовно вікових особливостей патогенезу та нових підходів до лікування хронічних вірусних гепатитів у дітей, результати експериментальних досліджень, їх статистичний і науковий аналіз, теоретичне узагальнення фактичного матеріалу. Запозичення ідей та розробок співавторів публікацій не було. В актах впровадження викладено дані, отримані автором при виконанні дисертаційного дослідження. Матеріали кандидатської дисертації у написанні докторської дисертації не використовувалися.

**Апробація результатів дисертації.** Основні результати дослідження оприлюднені на V Національному Конгресі патофізіологів України з міжнародною участю “Сучасні проблеми патофізіології: від молекулярно-генетичних до інтегративних аспектів” (Запоріжжя, 2008); XIV Університетській науково-практичній конференції молодих вчених та фахівців (Вінниця, 2008); науково-практичній конференції “Біохімічні маркери діагностики, вибору лікування та прогнозу серцево-судинних хвороб і хвороб органів травлення”, присвяченій 90-річчю з дня народження професора Олійника С.Ф. та пам’яті професора Панчишин М.В. (Львів, 2008); I Міжнародному конгресі “Сучасні досягнення інфузійної терапії” (Черкаси, 2008); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю “Питання експериментального використання лабораторних тварин у медицині, біології, ветеринарії” (Полтава, 2009); науково-практичній конференції з міжнародною участю “Хвороби печінки в клінічній практиці” (Харків, 2009); 27<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases (Brussels, Belgium, 2009); науково-практичній конференції і пленумі Асоціації інфекціоністів України “Інфекційні хвороби у клінічній та епідеміологічній практиці” (Львів, 2009); I та II науково-практичних конференціях “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм” (Тернопіль, 2008, 2009); III науково-практичній конференції “Актуальні питання патології за умов дії надзвичайних факторів на організм”, присвяченої 100-річчю з дня народження проф. Е. Н. Бергера (Тернопіль, 2010); науковому конгресі “VI Міжнародні Пироговські читання”, присвяченому 200-річчю М.І. Пирогова та V з’їзді анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України (Вінниця, 2010); VI Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю з клінічної фармакології “Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина”,

присвяченій 90-річчю професора О. О. Столярчука (Вінниця, 2010); VIII з'їзді інфекціоністів України “Інфекційні хвороби: досягнення і проблеми в діагностиці та терапії” (Вінниця, 2010); 28<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases (Nica, France, 2010); IX читаннях ім. В. В. Підвисоцького, присвячених 110 річниці заснування університету (Одеса, 2010); V Пленумі товариства патофізіологів України з міжнародною участю “Сучасні аспекти типових патологічних процесів” (Луганськ, 2010).

**Публікації.** Основні наукові положення, висновки і практичні рекомендації викладені в 41 опублікованій праці, із них 27 статей (одноосібних – 15) у фахових наукових виданнях, рекомендованих ВАК України, де можуть публікуватися матеріали докторських та кандидатських дисертацій. Отримано 2 патенти України на корисну модель.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертація викладена на 532 сторінках машинописного тексту (основний обсяг становить 298 сторінок) і складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалу і методів дослідження, семи розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел (545 найменувань, з яких 269 викладено кирилицею, 276 – латиницею), додатків (56 актів впровадження).

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

**Матеріали і методи дослідження.** *Клінічні дослідження.* Проведено аналіз медичної документації 124 дітей, хворих на вірусні гепатити (ВГ). Зокрема, проаналізовано дані клінічного та параклінічного обстеження з карт диспансерного спостереження та історій розвитку 98 дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити (ХВГ) В і С, віком від 8 місяців до 18 років, які перебували на диспансерному спостереженні при кафедрі дитячих інфекційних хвороб ВНМУ ім. М. І. Пирогова на базі Вінницької обласної дитячої клінічної інфекційної лікарні, а також в Обласних спеціалізованих будинках дитини м. Вінниці та м. Хмельницького “Берізка” з 2003 по 2010 рік. Розподіл хворих за віком (Капітан Т. В., 2006): 1-ша група – від 8 місяців до 1 року (грудний вік, n=10; 10,2 %), 2-га група – від 1 до 4 років (переддошкільний вік, n=16; 16,3 %), 3-тя група – від 4 до 7 років (дошкільний вік, n=10; 10,2 %), 4-та група – від 7 до 12 років (молодший шкільний вік, n=18; 18,4 %), 5-та група – від 12 до 18 років (старший шкільний вік або підлітки, n=44; 44,9 %). Переважали діти шкільного віку (n=62; 63,3 %) та особи чоловічої статі (n=58; 59,2 %). Контрольна група – 63 практично здорових HBsAg- та анти-HCV- негативних дитини відповідного віку : від 8 місяців до 1 року (n=10; 15,9 %), від 1 до 4 років (n=18; 28,6 %), від 4 до 7 років (n=14; 22,2 %), від 7 до 12 років (n=12; 19,0 %), від 12 до 18 років (n=9; 14,3 %).

**Характеристика летальних випадків у дітей із ВГ.** Для ретроспективного (з 1998 по 2010 рік) дослідження відібрано 26 протоколів розтину померлих дітей з діагнозом “ВГ” та “фетальний гепатит” у Вінницькій та Хмельницькій областях. Клінічний діагноз ВГ прижиттєво

підтверджений у 7 померлих дітей (26,9 %) за допомогою виявлення специфічних маркерів, у решти випадків (71,1 %) – посмертно на основі анамнестичних, лабораторних та морфологічних даних. Розподіл за патологоанатомічними діагнозом: вроджений ВГ В (n=4; 15,4 %), ВГ В+С (n=1; 3,8 %), ВГ С – (n=2; 7,8 %), ВГ неуточненої етіології (n=2; 7,8 %), хронічна печінкова недостатність (ПН) з цирозом печінки (ЦП) (n=3; 11,5 %), фетальний ВГ з невиявленим збудником (виключена цитомегаловірусна, герпетична та токсоплазмозна етіологія, n=14; 53,8 %). Розподіл померлих за віком: новонароджені (n=17; 65,4 %), діти від 1 місяця до 1 року (n=5; 19,2 %), від 12 до 18 років (n=4; 15,4 %). Найчастіше помирали діти 1-го року життя (84,6 %) та особи чоловічої статі (57,7 %). Анамнестичні дані, показники клініко-параклінічних методів дослідження аналізували за даними, вказаними в протоколах розтину.

**Клінічні та загальноприйняті параклінічні методи досліджень.** Етіологія ВГ та фаза інфекційного процесу визначалися за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) та з використанням полімеразної ланцюгової реакції. ХВГ В діагностували за наявністю в сироватці крові HBsAg, HBeAg, анти-HBc IgM, анти-HBc IgG, анти-HBe, ДНК HBV; ХВГ С – анти-HCV IgG та IgM, анти-тіл до неструктурних білків (NS3, NS4, NS5), РНК HCV. Фазу реплікації (ФР) HBV встановлювали за HBeAg, анти-HBc IgM, ДНК HBV; HCV – анти-HCV IgM, РНК HCV. Стандартні біохімічні дослідження сироватки крові проводились уніфікованими методами. Цитолітичний синдром (ЦС) оцінювали за активністю аланін- і аспартатамінотрансфераз (відповідно АЛТ та АСТ) з підрахуванням коефіцієнту Де Рітіса (КДР) – АСТ/АЛТ (Нейко Є.М., 2003). Активність запального процесу встановлювали за АЛТ (Учайкин В.Ф. и др., 2003). Мезенхімально-запальний синдром (МЗС) оцінювали за тимоловою пробою (ТП), вмістом загального білка, Ig A, Ig M, Ig G. Холестатичний синдром (ХС) – за активністю лужної фосфатази (ЛФ),  $\gamma$ -глутамілтранспептидази (ГГТП), рівнем загального (ЗБ) та прямого білірубину (ПБ), холестеролу,  $\beta$ -ліпопротеїнів. Гепатопривний синдром (ГС) – за вмістом загального білка, співвідношенням альбумінів до глобулінів (А/Г), глюкози, сечовини, креатиніну, фібриногену, протромбінового індексу. Дослідження сироватки крові проводили на біохімічному аналізаторі “Vital Microlab 300” (США), використовували реактиви фірми “Pointe Scientific Inc” (США).

Визначення кількості Т-лімфоцитів (CD3+), регуляторних субпопуляцій Т-хелперів(Th)/індукторів (CD4+), В-лімфоцитів (CD22+), Т-ефекторів (CD8+), натуральних кілерів (CD16+) та Т-лімфоцитів, що експресують рецептор для ІЛ-2 (CD25+) проводилось методом непрямої імунофлюоресценції з використанням моноклональних антитіл фірми “Діаєм” (РФ-Москва). Вираховували імунорегуляторний індекс (ІРІ) – CD4+/CD8+ та CD3+/CD22+. Уміст сироваткових Ig A, M, G та  $\alpha$ -ФПН визначали на імуноферментному аналізаторі Numareader 2106 (США) з використанням реактивів фірми “Гранум” (Україна).

Цитокіновий статус оцінювали за рівнем сироваткових інтерлейкінів (ІЛ-1 $\beta$ , ІЛ-2, ІЛ-4, ІЛ-6,

IL-8, IL-10), фактору некрозу пухлин- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), інтерферонів (ІФН)  $\alpha$  і  $\gamma$  методом ІФА з використанням наборів “Вектор-Бест” (РФ-Новосибирск), вміст трансформуючого фактору росту- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) та інсуліноподібного фактору росту-1 (IGF-1) – з використанням наборів “DRG” (Німеччина). Оцінку процесів метаболізму сполучної тканини (СТ) проводили за концентрацією вільного (ВГОП) та пептидно-зв’язаного гідроксипроліну (ПЗГОП) у сироватці крові (Шараєв П. Н., 2009).

**Експериментальні дослідження** проведені на 385 білих статевонезрілих щурах самцях з початковою масою тіла 50-70 г. Вибір статевонезрілих тварин обумовлений необхідністю максимального наближення експериментальної моделі до патології, яка вивчається в дітей (Стефанов О.В., 2001). Усі експерименти проводили з дотриманням “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та узгоджених із положенням “Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1986). Тварин поділили на три експериментальних групи, кожна з яких складалася з декількох підгруп. *У I серії розроблена власна експериментальна модель хронічного токсичного гепатиту (ХТГ) та ЦП у статевонезрілих щурів* шляхом інтрагастрального введення 20 % олійного розчину  $CCl_4$  в дозі 0,1 мл/100 г маси двічі на тиждень у комбінації з 5 % розчином етанолу в якості пиття протягом двох місяців для подальшого доклінічного вивчення ефективності гепатопротекторів (Пат. 43704 України). Експериментально доведено, що при ЦП, підтверженому морфологічно, у сироватці крові зростає вміст  $\alpha$ -фетопроतेїну ( $\alpha$ -ФПН) від 12 до 44,2 Од/мл (середнє значення –  $19,47 \pm 1,84$  Од/мл,  $p < 0,001$ ). Суттєве та достовірне зростання рівня  $\alpha$ -ФПН в усіх щурів із фіброзом та ЦП при відсутності даного білка в сироватці крові тварин контрольної групи доводить чутливість даного тесту, що запатентовано нами (Пат. 53526 України) як неінвазивний спосіб діагностики ЦП. *У II серії досліджена ефективність гепатопротекторів (лікувально-профілактичний режим уведення) у порівняльному аспекті на моделі ХТГ.* Для експериментального дослідження відібрано дев’яти найбільш уживаних гепатопротекторів: “Антраль” ВАТ “Фармак”, “Артишока екстракт – Здоров’я” ТОВ “Фармацевтична компанія “Здоров’я””, “Глутаргін” ТОВ “Фармацевтична компанія “Здоров’я””, “Дарсіл” ЗАТ “Фармацевтична фірма “Дарниця””, “Тіотриазолін” АТ “Галичфарм”, “Урсохол” ЗАТ “Фармацевтична фірма “Дарниця”” та зарубіжні: “Галстена” – “Біттнер” Австрія, “Ессенціалє форте Н” – “Авентіс Фарма Дойчланд ГмбХ” Німеччина, “Біцикллол” “Бейджінг Юніон Фармасьютікал Фекторі” Китай, які дозволені Державним фармакологічним центром МОЗ України для застосування в дітей (Дроговоз С.М., 2003; Денисова М.Ф., 2006; Лук’янова О.М., Родіонов В.П., 2007). Гепатопротекторну дію оцінювали візуально за зовнішнім станом, динамікою маси тіла, щоденною реєстрацією загибелі тварин у ході експерименту, а також за біохімічними та гістологічними показниками (Стефанов О.В., 2001). Перерахунок середньотерапевтичної лікувальної дози ( $ED_{50}$ ) рекомендованої для людини на 1 кг маси тіла на масу щура проводився за конс-

тантою біологічної активності (Риболовлев Ю.Р., 1979). Використано 210 статевонезрілих щурів, яких поділили на 11 груп: перша – інтактні тварини (контроль); друга (порівняння) – щури, яким упродовж 6 тижнів моделювали ХТГ (Рикало Н.А. та ін., 2009); тваринам наступних груп паралельно з гепатотоксинами щодня протягом 6 тижнів вводили 1 раз на добу один із наступних препаратів (Стефанов О.В., 2001; Дроговоз С.М., Журавель Е.В., 1998): антраль; артишок; біциклол; глютаргін; дарсил; есенціале; урсохол; тіотриазолін; галстену.

У III серії дослідів вивчена антифіброзна ефективність гепатопротекторів у порівняльному аспекті на моделі ХТГ та ЦП (Рикало Н.А. та ін., 2009) при лікувальному режимі введення, який передбачає введення препаратів після моделювання ХТГ та ЦП. Використано 130 щурів, яких поділили на 11 груп: перша – інтактні тварини (контроль); друга (порівняння) – щури, яким упродовж 8 тижнів моделювали ХТГ та ЦП (Рикало Н.А. та ін., 2009) із наступним “відпочинком” протягом 6 тижнів. Піддослідним тваринам 3-11 груп після припинення введення  $\text{CCl}_4$  та етанолу протягом наступних шести тижнів вводили гепатопротектори в лікувальному режимі, що передбачає пероральне введення ліків щодня 1 раз на добу з розрахунку  $\text{ED}_{50}$  (аналогічно до II серії експериментів). Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Для біохімічного та імуноферментного дослідження здійснювався забір крові. Печінку тварин негайно вилучали. У стерильних умовах під капсулою з лівої великої частки зі свіжого матеріалу вирізали шматочок тканини розміром  $0,5 \text{ см}^3$ , який промивали стерильним 0,9 % розчином  $\text{NaCl}$  і занурювали у фосфатно-сольовий буфер рН 7,4 (Sigma) в переносний холодильник з температурою  $4-8 \text{ }^\circ\text{C}$  для подальшого дослідження вмісту ДНК в ядрах клітин печінки методом проточної цитометрії. Решту тканини печінки фіксували в 10 % розчині нейтрального формаліну для морфологічного дослідження. Гепатопротекторну ефективність оцінювали за біохімічними показниками сироватки крові (вмістом загального білка, альбумінів, ЗБ, ПБ, ТП,  $\beta$ -ліпопротеїдів, активністю ГГТП, АЛТ, АСТ, ЛФ). Рівень кінцевого продукту перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – малонового діальдегіду (МДА) визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою (Владимиров Ю.В., Арчаков А.И., 1972). Біохімічне та імуноферментне дослідження сироватки крові експериментальних тварин (уміст Ig A, Ig M, Ig G,  $\alpha$ -ФПН) проводилося за тими ж методами, що й у хворих дітей.

**Морфологічні методи дослідження** тканини печінки експериментальних тварин проводили за загальноприйнятою методикою. Шматочки фіксованої у 10 % розчині нейтрального формаліну тканини проводили через батарею спиртів та заключали в парафін. Зрізи тканин фарбували гематоксилином і еозином та за ван Гізон. Аргірофільні волокна виявляли при посрібленні зрізів азотнокислим сріблом за Гоморі, активність сукцинатдегідрогенази – при обробці заморожених зрізів печінки за Нахласом. Гістологічне дослідження *секційних препаратів*, забарвлених гематоксилином і еозином та за Ван Гізон, проведено з використанням мікроскопу “OLYMPUS BN-2” зі

збільшенням від 100 до 400 разів. Активність запального процесу та ступінь фіброзу печінки оцінювали за METAVIR.

**Матеріал і методи для визначення вмісту ДНК** (клітинний цикл (КЦ), плоідність, фрагментація ДНК) в ядрах клітин печінки щурів. Уміст ДНК в ізольованих ядрах клітин печінки досліджували цитофлуориметрично. Суспензії ядер одержували за допомогою набору CyStain DNA фірми Partec (Німеччина) відповідно до протоколу-інструкції виробника. Екстракцію ядер і мічення ядерної ДНК проводили за допомогою діамідинофеніліндолу (Krishan A., Dandekar P.D., 2005). Усі дослідження виконані на свіжому матеріалі тканини печінки. Проточний аналіз проводили на багатофункціональному науково-дослідному проточному цитометрі "Partec PAS" фірми Partec (Німеччина) з програмним забезпеченням FloMax (фірма Partec, Німеччина), реєстрували не менше 20 тисяч подій. Фрагментацію ядерної ДНК досліджували шляхом виділення Sub-G1 % ділянки на ДНК-гістограмах (інтервал RN1). Рівень апоптозу клітин печінки оцінювали за фрагментацією ядерної ДНК (Мушкамбаров Н.Н., и др., 2007).

Комісією з біоетики ВНМУ ім. М.І. Пирогова порушень біоетичних принципів при проведенні досліджень не виявлено (протокол № 13 від 7.10.2010 р.).

**Статистичний аналіз** отриманих при виконання дисертаційної роботи цифрових результатів проведений в пакеті "STATISTICA 5.5" (належить ЦНІТ ВНМУ ім. М.І. Пирогова, ліцензійний № AXXR910A374605FA) з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки одержаних даних. Оцінювали правильність розподілу ознак за кожним з отриманих варіаційних рядів, середні значення за кожною ознакою, що вивчається, стандартні помилки та відхилення. Достовірність різниці значень між незалежними кількісними величинами визначали при нормальному розподілі за критерієм Стьюдента, в інших випадках – за допомогою U-критерію Мана-Уїтні. Аналіз кореляційних зв'язків отриманих результатів проводили з використанням статистики Спірмена.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Проаналізовано клініко-параклінічні дані з карт диспансерного обліку 39,8 % дітей, хворих на ХВГ В, та 60,2 % – на ХВГ С. У більшості хворих (68,4 %) віруси перебували у ФР, у 31,6 % HBV перебував у фазі інтеграції (ФІ), а HCV – у латентній стадії (ЛС). Переважали діти шкільного віку (63,27 %), зокрема кількість хворих підлітків склала 44,9 %. На ХВГ хворіли переважно хлопчики (n=58; 59,2 %), а дівчатка – рідше (n=40; 40,8 %), що, можливо, пов'язано з імуносупресивним впливом андрогенів.

Проведений патогенетичний аналіз основних клініко-біохімічних синдромів ХВГ у дітей у віковому аспекті дозволив встановити ряд особливостей. Усі хворі 1-го року життя та 50 % дітей від 1 до 4 років були інфіковані HBV та HCV перинатально, що характеризувалося розвитком первиннохронічного ВГ (ПХВГ). У **дітей 1-ї групи** ФР констатована в 100 % на тлі низької (50,0 %) чи помірної (30,0 %) активності запального процесу. Клінічний перебіг ХВГ характеризувався ди-

спептичним (80,0 %), рідше – абдомінальним (20,0 %) синдромом, гепато- і/або спленомегалією (50,0 %), анемією (100 %) (табл. 1).

Таблиця 1

## Вікові особливості клініко-параклінічних симптомів у дітей із ХВГ

Показники	1-ша група, n=10	2-га група, n=16	3-тя група, n=10	4-та група, n=18	5-та група, n=44	Загалом, n=98
ХВГ В	5 (50,0 %)	6 (37,5 %)	2 (20,0 %)	9 (50,0 %)	17 (38,6 %)	39 (39,8 %)
ХВГ С	5 (50,0 %)	10 (62,5 %)	8 (80,0 %)	9 (50,0 %)	27 (61,4 %)	59 (60,2 %)
ФР	10 (100 %)	12 (75,0 %)	5 (50,0 %) p1,3<0,05	13 (72,2 %)	28 (63,6 %) p1,5<0,05	68 (69,4 %)
ФІ/ЛС	0 (0 %)	4 (25,0 %)	5 (50,0 %)	5 (27,8 %)	16 (36,4 %)	30 (30,6 %)
Активність : мінімальна	2 (20,0 %)	12 (75,0 %) p1,2<0,05	4 (40,0 %)	12 (66,7 %) p1,4<0,05	22 (50,0 %)	52 (53,2 %)
низька	5 (50,0 %)	2 (12,5 %) p1,2<0,05	1 (10,0 %)	2 (11,1 %) p1,4<0,05	2 (4,5 %) p1,5<0,001	12 (12,2 %)
помірна	3 (30,0 %)	2 (12,5 %)	0 (0 %)	1 (5,55 %)	4 (9,1 %)	10 (10,2 %)
висока	0 (0 %)	0 (0 %)	2 (20,0 %)	1 (5,55 %)	4 (9,1 %)	7 (7,1 %)
відсутня	0 (0 %)	0 (0 %)	3 (30,0 %)	2 (11,1 %)	12 (27,3 %)	17 (17,3 %)
Інфікування : перинатальне	10 (100 %)	8 (50,0 %) p1,2<0,05	2 (20,0 %) p1,3<0,01	2 (11,1 %) p1,4<0,001 p2,4<0,05	1 (2,3 %) p1,5<0,001	23 (23,5 %) p2,5<0,001
парентеральне	0 (0 %)	5 (31,25 %)	3 (30,0%)	10 (55,6 %)	24 (54,5 %)	42 (42,9 %)
невідомий шлях	0 (0 %)	3 (18,75 %) p2,5<0,05	5 (50,0 %) p3,5<0,01	6 (33,3 %) p4,5<0,001	19 (43,0 %)	33 (33,7 %)
Астеновегетативний синдр.	–	8 (50,0 %)	10 (100 %) p2,4<0,05	14 (77,8 %)	31 (70,5 %)	63 (64,3 %)
Диспептичний синдром	8 (80,0 %)	16 (100 %) p2,5<0,05	7 (70,0 %) p2,3<0,05	12 (66,7 %) p2,4<0,05	32 (72,7 %)	75 (76,5 %)
Холемія	0 (0 %)	0 (0%)	0 (0 %)	3 (16,7 %)	14 (31,8 %)	17 (17,3 %)
Абдомінальний синдром	2 (20,0 %)	9 (56,25 %) p2,5<0,01	7 (70,0 %) p1,3<0,05	12 (66,7 %) p1,4<0,05	39 (88,6 %) p1,5<0,001	69 (70,4 %) p4,5<0,05
Геморагічний синдром	0 (0 %)	2 (12,5%)	4 (40,0 %)	8 (44,4 %)	18 (40,9 %) p2,5<0,05	28 (28,6 %)
Гепатомегалія	6 (60,0 %)	14 (87,5 %)	5 (50,0 %)	16 (88,9 %)	29 (65,9 %)	70 (71,4 %)

/спленомегаля						
Анемія	10 (100 %)	18 (100 %) p2,5<0,05	8 (80,0 %)	16 (88,9 %)	31 (70,5 %) p1,5<0,001	83 (84,7 %)
Тромбоцитопенія	2 (20,0 %)	2 (12,5 %) p2,5<0,01	6 (60,0 %) p2,3<0,05	9 (50,0 %) p2,4<0,05	26 (59,1 %) p1,5<0,05	45 (45,9 %)

Примітка. (Тут і в наступних таблицях) p1,2 ... p4,5 – достовірність відмінностей між відповідними групами порівняння.

Про ХС у дітей 1-ї групи свідчило зростання активності ЛФ у 2,7 раза (p<0,001), ГГТП – у 2 рази (p<0,001), збільшення вмісту холестеролу на 24 % (p<0,05). Активність АЛТ підвищувалася в 1,6 раза (p<0,001), АСТ – у 2 рази (p<0,001). При обчисленні КДР встановлено, що даний показник у 40,0 % був  $\geq 1$ , що вказує на некротичний тип цитолізу. Збільшення ТП в 1,5 раза (p<0,05) свідчило про МЗС. ГС підтверджувався достовірним зниженням А/Г індексу, кількості фібриногену в 1,7 раза та протромбінового індексу на 23,0 % (табл. 2).

Таблиця 2

#### Характеристика біохімічних показників у хворих на ХВГ дітей різного віку (M±m)

Біохімічні показники	Контроль, n=63	1-ша група, n=10	2-га група, n=16	3-тя група, n=10	4-та група, n=18	5-та група, n=44
ЗБ, мкмоль/л	14,10±1,32	18,87±2,98	20,91±2,77*	13,31±1,56	20,13±2,43*	20,05±1,72*
ПБ, мкмоль/л	1,21±0,54	4,49±1,87*	3,55±0,78	3,95±0,32**	5,17±1,30**	6,18±0,80***
НБ, мкмоль/л	12,98±1,07	13,58±2,04	16,88±2,30	9,39±0,99 p2,3<0,05	14,93±1,85 p3,4<0,05	13,27±1,02
АЛТ, У/л	24,68±2,12	39,58±1,82***	37,53±3,21***	39,58±2,12*** p3,4<0,05 p3,5<0,05	48,61±1,96*** p1,4<0,01 p2,4<0,01	48,74±2,18*** p1,5<0,01 p2,5<0,01
АСТ, У/л	18,51±1,71	36,22±2,08***	24,68±2,94 p2,5<0,001	29,16±1,82** p3,5<0,01	35,55±2,15*** p2,4<0,01	45,24±2,29*** p4,5<0,05
КДР	0,75±0,03	0,91±0,12 $\geq 1$ у 40,0%	0,64±0,06 $\geq 1$ у 12,5%	0,76±0,13 $\geq 1$ у 30,0%	0,73±0,08 $\geq 1$ у 16,7%	0,95±0,08* $\geq 1$ у 45,5%
ТП, од	2,19±0,22	3,35±0,68* $\uparrow$ у 40%	3,28±0,37** $\uparrow$ у 43,75%	2,93±0,56 $\uparrow$ у 20,0%	3,61±0,15*** $\uparrow$ у 44,4%	4,38±0,32*** $\uparrow$ у 54,5%
ЛФ, У/л	59,6±3,38	157,7±12,1*** p1,5<0,001	164,4±11,3*** p2,5<0,001	172,5±8,1*** p3,5<0,001	181,3±9,6***	245,7±8,9*** p4,5<0,001
ГГТП, У/л	6,54±0,76	12,26±0,78***	15,59±1,64***	14,29±2,36***	19,17±1,76***	23,07±2,05***



		p1,5<0,001			p1,4<0,01	p2,5<0,05
Холестерол, ммоль/л	3,90±0,23	4,82±0,31*	3,74±0,28	3,59±0,19	3,04±0,21*	4,55±0,14*
				p3,5<0,01	p1,4<0,001	p4,5<0,001
Глюкоза, ммоль/л	4,52±0,16	3,91±0,20	4,98±0,32	4,51±0,14	4,18±0,24	3,8±0,17**
						p2,5=0,001
Сечовина, ммоль/л	2,13±0,21	2,54±0,33	6,17±0,29***	3,65±0,41**	3,76±0,58**	4,33±0,56**
			p1,2<0,001	p2,3<0,001	p2,4<0,01	
Креатинін, ммоль/л	0,039±0,01	0,050±0,02	0,077±0,02	0,039±0,02	0,071±0,01*	0,040±0,01
β-ліпопро- теїни, у. од.	31,32±0,24	25,45±2,80***	41,27±1,73***	37,09±2,22***	39,13±1,96***	42,17±3,48***
			p1,2<0,001			p1,5<0,001
Загальний білок, г/л	69,2±4,3	72,23±1,61	71,72±1,17	66,95±1,80	71,75±1,44	68,15±0,99
				p1,3<0,05		
А/Г	1,54±0,08	0,92±0,13***	1,31±0,07	1,23±0,14	1,42±0,11	1,26±0,12
					p1,4<0,01	
Фібриноген, г/л	3,62±0,24	2,18±0,11**	2,78±0,19*	3,24±0,14	2,03±0,20***	1,82±0,21***
		p1,3<0,001	p2,5<0,05	p3,4<0,001	p2,4<0,05	p3,5<0,001
Протромбіно- вий індекс, %	94,86±0,2	73,1±2,22***	89,6±2,17**	75,7±4,02***	88,4±1,65***	71,25±5,3***
		p1,4<0,001	p1,2<0,001	p2,3<0,001	p3,4<0,01	p4,5<0,001

Примітка. \* – p < 0,05, \*\* – p < 0,01, \*\*\* – < 0,001 порівняно з контрольною групою.

**Діти 2-ї групи** частіше хворіли на ХВГ С (62,5 %), рідше – на ХВГ В (37,5%). У 75,0 % діагностувалась ФР із мінімальною активністю запалення. У всіх хворих були прояви диспептичного синдрому (100 %) та гепатоспленомегалія (81,25 %). Серед біохімічних синдромів переважав ХС (достовірно зростала активність ЛФ у 2,76 раза, ГГПТ – у 2,38 раза). Менш виразним був ЦС, МЗС, ГС. Запальний тип цитолізу (87,5 %) переважав над некротичним (12,5 %). У **3-ій групі** переважав ХВГ С (80,0 %) із мінімальною (40,0 %) чи відсутньою (30,0 %) активністю запалення, лише у 20,0 % – із високою. З одноковою частотою віруси знаходились у ФР та ФІ при ХВГ В чи латентній стадії – ХВГ С. Клінічна картина характеризувалась астеновегетативним (100 %), диспептичним (70,0 %) та абдомінальним (70,0 %) синдромами. Гепато- і/або спленомегалія реєструвалися рідше. Анемія (80,0 %) та тромбоцитопенія (60,0 %) вказували на наявність гіперспленізму. Свідченням виразного ХС було зростання ПБ (p<0,01), активності ЛФ майже в 3 рази (p<0,001), ГГПТ – більше, ніж у 2 рази (p<0,001). Як і в дітей 1 та 2 груп менш виразними були індикатори ГС, ЦС та МЗС. Переважав запальний тип цитолізу (70,0 %). У **4-й та 5-й групах** переважала ФР (72,3 % та 63,6 % відповідно) з мінімальною (66,7 % та 50,0 %) або відсутньою (11,1 % та 27,3 %)

активністю запального процесу. Відсоток осіб із ФІ/ЛС збільшувався. Переважна кількість дітей була інфікована парентерально (55,6 % та 54,7 %). На тлі домінування астеновегетативного, диспептичного та абдомінального синдромів, на відміну від молодших дітей, зареєстровані скарги на геморагічний (44,4 % та 40,9 %) та ХС (16,7 % та 31,8 %). У 88,8 % та 65,9 % відповідно зареєстровано гепато-і/або спленомегалію з ознаками гіперспленізму (анемія – у 88,9 % та 70,5 %, тромбоцитопенія – у 50,0 % та 59,1 % відповідно). Результати біохімічних досліджень у всіх дітей 7-18 років засвідчують прогресування ознак ПН. Наростають ознаки ЦС, про що свідчило достовірне ( $p < 0,05-0,01$ ) зростання активності АЛТ порівняно з дітьми 1-3 груп (див. табл. 2). Особливістю патогенезу ХВГ у *підлітків* є посилення ГС та МЗС, а також переважання в них та хворих першого року життя некротичного типу цитолізу над запальним. У підлітків відбувається зрушення більшості біохімічних параметрів, які вказують на наявність у них виразних ознак ПН з тенденцією до прогресування. У 40,9 % зареєстровано клінічні ознаки геморагічного синдрому, у 31,8 % – холемії. На посилення явищ гіперспленізму вказувала анемія (70,5 %) та тромбоцитопенія (59,1 %) (див. табл. 1). Посилення ХС підтверджувалось достовірним збільшенням вмісту ЗБ, ПБ, холестеролу та  $\beta$ -ліпопротеїнів. Зростала активність ЛФ у 4 рази ( $p < 0,001$ ), що опосередковано засвідчує інтенсивність загибелі гепатоцитів (Давыдов В.Г., 2007). На основі проведених досліджень встановлено, що цитоліз печінкових клітин найбільш інтенсивно відбувається саме в підлітків, на що вказувала активність ЛФ, яка достовірно перевищувала таку в 1-4-й групах ( $p < 0,001$ ). У підлітків збільшувалась активність ГГТП у 3,5 рази ( $p < 0,001$ ), що, за даними Mohan P. et al., 2007, засвідчує посилення фіброзу печінки. Прогресував МЗС та ГС, оскільки достовірно зростала ТП, зменшувався вміст фібриногену на 50 %, протромбіновий індекс – на 25 % (див. табл. 2). Отже, зі збільшенням віку дітей і тривалості захворювання, виразність клініко-біохімічних показників ХВГ прогресує.

Встановлено, що в практично здорових дітей  $\alpha$ -ФПН у сироватці крові не визначався, тоді як у дітей, хворих на ХВГ, його вміст коливався від 0 до 13 пг/л. Найбільші показники вмісту  $\alpha$ -ФПН зареєстровані у хворих 1-ї групи ( $6,33 \pm 2,01$ ) пг/л ( $p < 0,05$ ), 3-ї ( $7,25 \pm 1,04$ ) пг/л ( $p < 0,01$ ) та 5-ї груп ( $3,95 \pm 0,94$ ) пг/л ( $p < 0,001$ ). Постійне та тривале збільшення понад допустимі нормативи вмісту даного білка, який є онкомаркером (Назаренко Г.И., 2006) і, за нашими даними, непрямим показником фіброзу печінки, є несприятливою прогностичною ознакою і може вказувати на прогресивність перебігу ХВГ, небезпеку прогресування фіброзу печінки.

При аналізі вікової динаміки вмісту продуктів метаболізму СТ встановлено, що зі збільшенням віку хворих дітей прогресує зростання вмісту ПЗГОП. У 1-й групі вміст ПЗГОП зростав на 23 % ( $17,43 \pm 0,97$ ) ( $p < 0,05$ ), у 2-й – на 32 % ( $23,91 \pm 1,67$ ) ( $p < 0,01$ ), у 4-й – на 75 % ( $39,06 \pm 1,07$ ) ( $p < 0,001$ ), та найбільше – у 5-й групі, що склало 98 % ( $42,28 \pm 0,64$ ) ( $p < 0,001$ ) (рис. 1) і свідчить про дисбаланс між процесами синтезу і деструкції СТ в бік посилення її синтезу зі збільшенням віку

дитини й тривалості захворювання та опосередковано доводить формування ЦП.

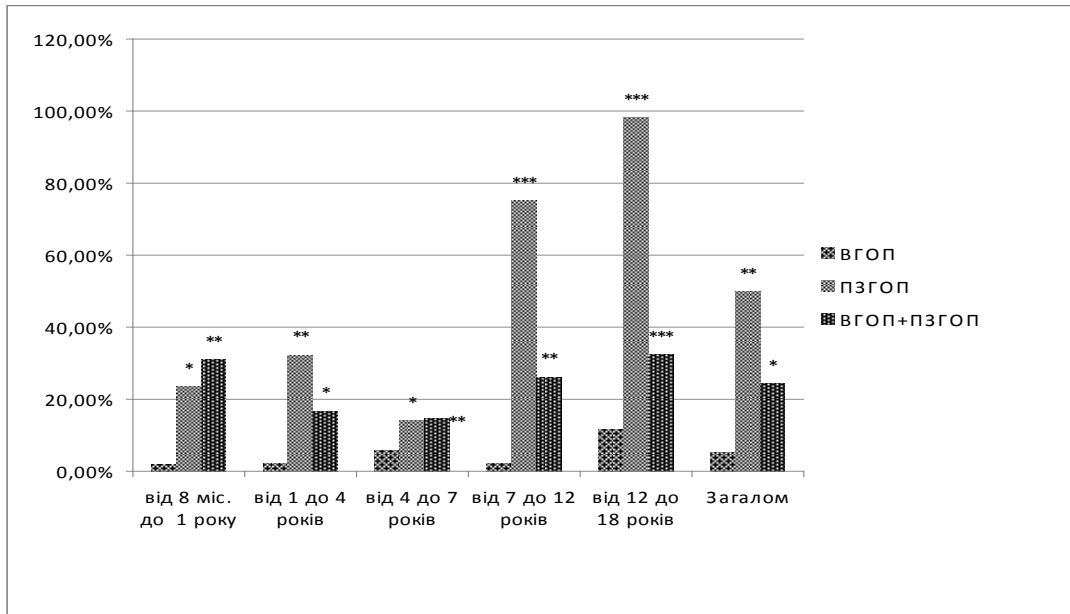


Рис. 1. Вікова динаміка вмісту вільного, пептидно-зв'язаного та сумарного гідроксипроліну (мкмоль/л) у сироватці крові дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити.

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  порівняно з ідентичною за віком контрольною групою

Враховуючи важливу роль порушень імунорегуляторних механізмів та дисбалансу в системі прозапальних і протизапальних цитокінів у формуванні та прогресуванні ХГ, нами досліджено концентрацію ряду прозапальних та профіброгенного цитокінів у сироватці крові при ХВГ у дітей. Значне та достовірне зростання концентрації прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8) відбувалось у ФР порівняно з ФІ/ЛС. Збільшення вмісту IL-10 у 2,7 раза у ФІ/ЛС ( $p < 0,05$  проти ФР) вказує на його важливу роль у пригніченні запалення. Зменшення продукції ІФН- $\alpha$  та збільшення – ІФН- $\gamma$  відбувалося незалежно від фази реплікації вірусу. Збільшений вміст IL-2 у дітей з ФІ/ЛС свідчить про активацію Th 1 типу та їх участь у прогресивності патологічного процесу в печінці навіть при безсимптомному перебігу та відсутньої активної реплікації вірусу. Значне та достовірне збільшення вмісту TGF- $\beta$ 1 у ФР порівняно з аналогічним показником у ФІ/ЛС пов'язане з прогресуванням фіброзу в печінці. Активація запального процесу в печінці відбувалася за рахунок збільшення концентрації основних прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-6, IL-8), а також зменшення продукції протизапального IL-4 та ІФН- $\gamma$ . Пригнічення активності запалення при ХВГ може спричинятись безпосереднім впливом IGF-1, що підтверджується прямою кореляцією між IGF-1 і маркером МЗС – ТП ( $r=0,32$ ;  $p < 0,05$ ).

Оскільки в науковій літературі практично відсутні дані про вікові особливості цитокінового профілю та імунопатогенезу ХВГ у дітей, то одним із завдань стало дослідити та провести патогне-

нетичний аналіз вікової динаміки концентрації основних про- і протизапальних та профіброгенних цитокінів за даної патології.

У **1-й групі** виявлена гіперпродукція прозапальних цитокінів, які синтезуються Th 1 типу. Кількість основного прозапального цитокіну TNF- $\alpha$  збільшувалася в 11 разів ( $p < 0,001$ ), IL-2 – у 6 разів ( $p < 0,05$ ), IL-6 – у 4 рази ( $p < 0,001$ ), IL-8 – у 15 разів ( $p < 0,001$ ). Уміст протизапального IL-4 знижувався у 2,5 раза ( $p < 0,05$ ), тоді як IL-10 – підвищувався в 4 рази ( $p < 0,01$ ) та прямо корелював зі збільшенням IL-8 ( $r = 0,31$ ,  $p < 0,05$ ). Синтез ІФН- $\alpha$  зменшувався в 6 разів ( $p < 0,01$ ), тоді як ІФН- $\gamma$ , навпаки, зростав у 4 рази ( $p < 0,01$ ) (табл. 3), що могло створювати умови для опосередкованого ушкодження гепатоцитів через активацію Купферівських клітин (Giannandrea M. et al., 2009). Зменшення синтезу ІФН- $\alpha$ , який відіграє ключову роль в елімінації вірусів, хоча і прямо корелює з рівнем протизапального IL-4 ( $r = 0,45$ ), все ж не визначає достатній захист гепатоцитів та має не останню роль у формуванні ПХВГ. У **2-й групі** порушення цитокінового балансу були схожими, проте менш глибокими. Так, уміст TNF- $\alpha$  збільшувався лише у 6,7 раза ( $p < 0,01$ ), IL-2 – у 2 рази ( $p < 0,01$ ), IL-8 – у 5,5 раза ( $p < 0,05$ ). Виявлено суттєве зменшення продукції ІФН- $\alpha$  ( $p < 0,05$ ) та ІФН- $\gamma$ . У **3-ій групі** хворих реєструвався надмірний синтез цитокінів Th 1 типу, які є регуляторами клітинної імунної відповіді. Уміст TNF- $\alpha$  збільшувався в 16 разів ( $p < 0,05$ ), IL-2 – у 8 ( $p < 0,01$ ), ІФН- $\gamma$  – у 3 ( $p < 0,05$ ). На відміну від пацієнтів перших двох груп, відбувалося збільшення IL-1 у 2 рази ( $p < 0,01$ ). У **4-ій групі** зареєстровано менш виразне збільшення вмісту прозапальних цитокінів Th 1, зокрема, вміст TNF- $\alpha$  зростав лише у 3 рази ( $p < 0,01$ ), IL-2 – у 8 разів ( $p < 0,05$ ), що вказує на пригнічення активності Th 1 типу та клітинної ланки імунітету, яка має важливе значення в елімінації вірусів. У **5-й групі** дисбаланс прозапальних цитокінів був найменшим. Достовірно зростав лише рівень протизапального IL-10 у 3 рази (табл. 3), що вказує на активацію Th 2 типу і гуморальної ланки та пояснює механізми хронізації ВГ у підлітків на тлі активної реплікації вірусу.

Таблиця 3

**Вікові особливості вмісту цитокінів у сироватці крові дітей із ХВГ (M $\pm$ m)**

Показники		1-ша група, n=10	2-га група, n=16	3-тя група, n=10	4-та група, n=7	5-та група, n=18
TNF- $\alpha$ , пг/л	х	12,0 $\pm$ 5,61***	3,42 $\pm$ 0,93**	3,14 $\pm$ 1,42 *	1,29 $\pm$ 0,32 **	2,11 $\pm$ 0,55
	к	1,08 $\pm$ 0,12	0,51 $\pm$ 0,06	0,20 $\pm$ 0,05	0,42 $\pm$ 0,08	1,31 $\pm$ 0,65
IL-1, пг/л	х	2,74 $\pm$ 0,63	2,28 $\pm$ 0,36	1,90 $\pm$ 0,28**	5,68 $\pm$ 3,20	2,63 $\pm$ 0,94
	к	2,79 $\pm$ 0,53	2,05 $\pm$ 0,29	0,82 $\pm$ 0,24	1,19 $\pm$ 0,25	2,00 $\pm$ 0,85
IL-2, пг/л	х	23,33 $\pm$ 6,87*	30,27 $\pm$ 6,12**	31,73 $\pm$ 9,46**	27,85 $\pm$ 13,39*	24,87 $\pm$ 7,54
	к	3,88 $\pm$ 0,80	13,94 $\pm$ 1,13	4,07 $\pm$ 0,67	3,50 $\pm$ 1,03	17,03 $\pm$ 6,94

ІЛ-4, пг/л	х	0,95±0,30*	1,19±0,12	1,77±0,26	0,94±0,15	1,12±0,19
	к	2,37±0,44	1,09±0,05	1,12±0,27	1,30±0,24	1,04±0,25
ІЛ-6, пг/л	х	64,57±9,17***	9,73±4,17 p1,2<0,001	4,21±0,85 p1,3<0,001	7,52±5,49 p1,4<0,001	7,01±2,57 p1,5<0,001
	к	14,6±4,77	11,09±2,72	10,6±3,51	10,59±3,43	11,44±5,27
ІЛ-8, пг/л	х	156±28,01***	62,44±22,97* p1,2<0,05	14,75±6,21 p1,3<0,01	9,25±1,60 p1,4<0,01 p2,4<0,05	17,86±6,13 p1,5<0,001 p2,5<0,05
	к	10,32±3,24	11,23±2,61	6,39±0,81	17,55±3,75	15,21±2,33
ІЛ-10, пг/л	х	10,38±5,41**	3,56±0,24	3,64±0,91	3,02±0,26	4,34±1,87*
	к	2,38±0,33	3,75±0,29	2,04±0,48	2,68±1,95	1,46±0,27
ІФН-α, пг/л	х	8,12±0,37**	17,64±0,93* p1,2<0,001	16,1±6,67	26,23±10,09 p1,5<0,05	13,65±3,11
	к	48,22±13,76	41,27±9,28	55,35±18,04	39,29±14,38	34,27±18,56
ІФН-γ, пг/л	х	8,45±0,43**	11,91±2,49	19,6±4,72*	14,65±3,95	18,94±2,66
	к	2,26±0,86	14,37±2,60	7,24±2,75	15,14±3,68	13,06±1,01
TGF-β1, пг/л	х	454,7±12,95***	390,5±8,75 *** p1,2<0,001	398,4±16,73 p1,3<0,05	406,8±18,28* p1,4<0,05	389,9±9,66* p1,5<0,001
	к	371,9±13,17	347,3±4,99	380,3±11,81	332,4±20,21	355,8±10,67
IGF-1, пг/л	х	90,65±22,86 p1,4<0,01 p1,5<0,001	134,8±14,7 p2,4<0,05 p2,5<0,01	129,1±15,25* p3,4<0,05 p3,5<0,01	211,3±27,1 p4,5=0,056	262,2±12,02
	к	113,4±17,05	114,6±11,18	93,33±8,22	204,2±13,27	104,1±9,93***

Примітки: 1. \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  порівняно з ідентичною за віком контрольною групою.

2. х – діти, хворі на ХВГ В і С.

3. к – контрольна група.

**У 5-й групі** вміст IGF-1 у сироватці крові виявився достовірно найвищим порівняно з таким у решти груп. Враховуючи, що IGF-1 у процесі фіброгенезу стимулює проліферацію міофібробластів, які відіграють основну роль у розвитку і прогресуванні фіброзу печінки шляхом синтезу компонентів позаклітинного матриксу (Ивкова А.Н. и др., 2006; Saile B. et al., 2006; Sukhanov S. et al., 2007), зростання його вмісту зі збільшенням віку дітей розкриває деякі механізми швидкого формування ЦП, розвитку гепатоцелюлярної карциноми в підлітків.

Одним із найбільш вагомих і постійних імунних порушень у дітей із ХВГ В і С є дефіцит

CD4+, що може бути пов'язано з їх апоптозом або перерозподілом чи виснаженням пулу Th. У ФР реєструвалась абсолютна лімфопенія, яка полягала в зменшенні кількості CD3+, CD4+ та CD16+. Проте відбувалося збільшення вмісту CD8+, що опосередковано вказує на активацію цитотоксичних реакцій у ФР. Зростання CD25+ прямо корелювало з умістом ІЛ-2 ( $r=0,32$ ;  $p<0,01$ ). У ФІ/ЛС пригнічення цитотоксичних реакцій проявлялося зменшенням кількості CD16+, що доповнює механізми хронізації ВГ у дітей. Зі зростанням активності запалення вміст CD16+ нормалізувався, але збільшувалася кількість CD8+ як в абсолютних (на 33,0 %;  $p<0,05$ ), так й у відносних (на 22,1 %;  $p<0,01$ ) показниках ( $r=0,86$ ;  $p<0,001$ ). Це, з одного боку, сприяло елімінації вірусу з макроорганізму, а з іншого – спричиняло прогресуюче ураження гепатоцитів унаслідок посилення ЦС.

Встановлено, що імунний статус дітей, хворих на ХВГ, теж залежить від віку. У *дітей 1-ї групи* реєстрували зменшення абсолютної кількості CD3+ на 28,3 % ( $p<0,001$ ), CD4+ – на 40,6 % ( $p<0,001$ ), між якими існує пряма кореляція як в абсолютних ( $r=0,99$ ;  $p<0,001$ ), так і у відносних ( $r=0,98$ ;  $p<0,001$ ) величинах. На тлі достовірного зменшення відсотка CD4+ мало місце збільшення CD8+, CD16+, CD22+ та CD25+ (рис. 2). У *2-й групі* на тлі зменшення загальної кількості лімфоцитів (до  $40,1\pm 1,5$  %,  $p<0,001$ ) реєструвалося суттєве достовірне зменшення абсолютної кількості CD3+ на 21,5 % ( $p<0,01$ ), CD4+ – на 34,2 % ( $p<0,05$ ), достовірно зростав відсоток CD8+, CD22+, CD25+ (див. рис. 2) та IgG у сироватці крові ( $20,06\pm 0,55$ ) г/л ( $p<0,01$ ). Тобто, дітям 2 групи із ХВГ притаманні стійкі порушення імунної системи. У *3-й групі* на тлі дефіциту CD3+ та CD4+, який, з одного боку, пов'язаний із незрілістю імунної системи, а з іншого – з її виснаженням внаслідок тривалої антигенної стимуляції HBV та HCV, зареєстроване компенсаторне достовірне збільшення CD25+. На відміну від дітей 1-ї та 2-ї груп достовірно зростав вміст CD16+ на 35,9 % в абсолютних величинах ( $p<0,01$ ), та в відсотках (рис. 2). Значно та достовірно підвищувався рівень сироваткових Ig M та Ig G (відповідно  $1,16\pm 0,08$ ) г/л,  $p<0,05$  та  $18,44\pm 1,61$ ) г/л,  $p<0,05$ ). У *4-й групі* реєстрували ще більше зростання в абсолютних величинах кількості CD16+ (у 2 рази,  $p<0,05$ ) та CD25+ (у 2,2 рази,  $p<0,01$ ), а також їх відсотка, що відбувалося на тлі достовірного зниження CD3+ та CD4+ (рис. 2). У *5-й групі*, як і в дітей 3-ї та 4-ї груп, утримувався високий рівень CD16+ та CD25+ в абсолютних (у 1,8 ( $p<0,05$ ) та у 1,7 рази ( $p<0,05$ ) відповідно) та відносних показниках на тлі дефіциту CD4+ (рис. 2). Зареєстровано більший відсоток CD8+ порівняно з дітьми 4-ї групи ( $29,25\pm 1,27$  % проти  $24,8\pm 1,34$  %,  $p<0,05$ ), що відображає морфологічну активність при ХВГ та прогресування фіброзу печінки в підлітків. Лише у *хворих 1-ї, 2-ї та 5-ї груп* відбувалося достовірне збільшення відсотка цитотоксичних CD8+ (рис. 2), що могло призводити до активації імунного цитолізу в дітей даного віку. Незалежно від віку дітей, хворих на ХВГ В та С, типовим є дефіцит Th та збільшення В-лімфоцитів (CD22+) (рис. 2), що вказує на стійкий дисбаланс імунної системи, який полягає в переважанні активності Th 2 типу та гуморальної ланки імунітету над клітинною. Свідченням цього є достовірне зменшення співвідношення CD3+/CD22+ в обох вікових групах (в 1,5 рази – у 1-й групі,

в 1,8 раза – у 5-й групі) за рахунок зменшення вмісту CD3+ та збільшення – CD22+, що прямо корелює з умістом ІЛ-6 ( $r=0,52$ ;  $p<0,01$ ). Домінування гуморальної ланки імунітету, яка неспроможна елімінувати віруси, пояснює механізми хронізації, зокрема формування ПХВГ у перинатально інфікованих дітей.

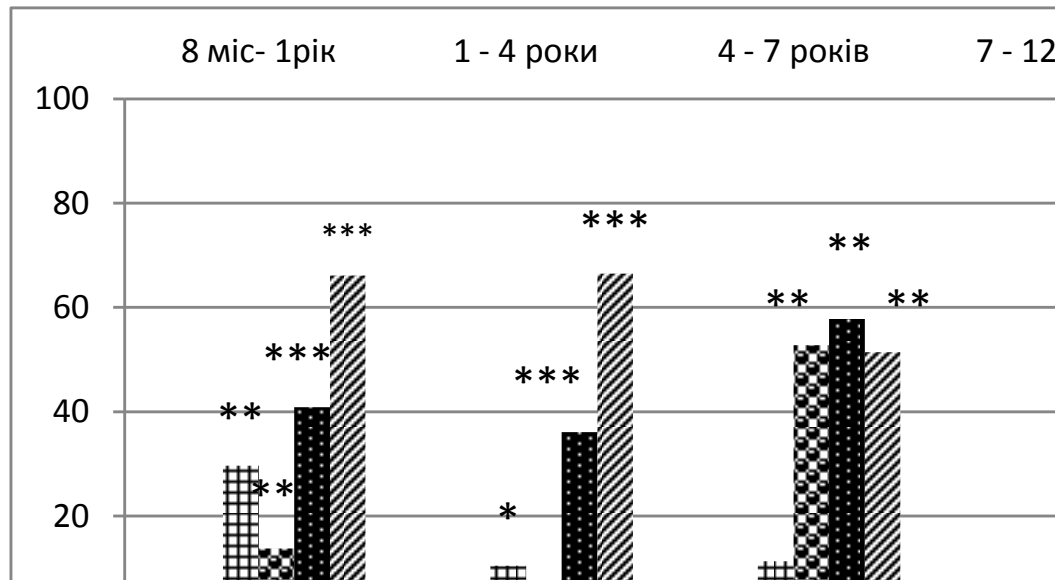


Рис. 2. Вікова динаміка субпопуляцій лімфоцитів (%) периферичної крові дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В та С.

Примітка. \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  порівняно з ідентичною за віком контрольною групою.

Виявлене зменшення відсотка CD4+ із одночасним збільшенням CD8+ відобразилося на зниженні ІРІ в 1,7 раза ( $p<0,001$ ) у дітей першого року та підлітків, прямо корелювало з CD4+ ( $r=0,38$ ;  $p<0,05$ ), зворотно – з CD8+ ( $r=-0,45$ ;  $p<0,05$ ), що створювало умови для посилення цитотоксичних реакцій і пояснює швидке прогресування захворювання та формування цирозу печінки у дітей першого року життя і підлітків та вимагає індивідуального підходу до патогенетичної терапії ХВГ у дітей різного віку. Кореляційний зв'язок між показниками цитокінового профілю та імунного статусу у хворих на ХВГ дітей показав, що гіперпродукція TGF- $\beta$ 1 спричиняє зменшення проліферації та диференціювання CD3+ ( $r= -0,45$ ;  $p<0,05$ ), CD4+ ( $r=-0,46$ ;  $p<0,05$ ) та CD8+ ( $r=-0,49$ ;  $p<0,01$ ), що забезпечує стихання виразності запалення.

Отже, цитокінова регуляція в першу чергу визначається віковою індивідуальною специфічною реактивністю хворого організму, зокрема, станом клітинної та гуморальної ланки імунної системи. Вікові особливості імунопатогенезу ХВГ обумовлюють певні особливості клінічної маніфестації, тяжкості перебігу та наслідки.

**Характеристика летальних випадків.** Клінічна картина ВГ у померлих дітей залежала від віку. У дітей 1-го року життя симптоми були неспецифічними, тому діагностика відбувалася пізно.

Для всіх померлих були характерні клінічні ознаки виразного холемічного та ахолічного синдромів, зокрема розлади з боку ЦНС, жовтяниця, інтенсивність якої зменшувалась із наростанням ПН і переходом у кому, геморагічний синдром (69,3 %), гепатоспленомегалія (69,2 %), гіпо- (57,7%) чи ахолічні (42,3 %) випорожнення, потемніння сечі (100 %). Результати гемограми та біохімічного дослідження сироватки крові померлих засвідчують гіпербілірубінемію ( $(244,2 \pm 19,7)$  мкмоль/л), підвищення активності трансаміназ більше, ніж у 5 разів, збільшення ТП ( $(4,30 \pm 0,36)$  од.), гіпоглікемію ( $(2,21-1,63)$  ммоль/л), анемію, виразну тромбоцитопенію ( $88,13-34,93 \cdot 10^9$ /л), зменшення протромбінового індексу – ( $(55,64 \pm 3,31)$  %), фібриногену ( $(0,78 \pm 0,14)$  г/л), збільшення часу рекальцифікації плазми ( $(136,19 \pm 3,86)$  с). Безсумнівно, що вказані прояви геморагічного синдрому мають істотне значення в танатогенезі при ПН.

Оскільки біопсійне дослідження печінки в педіатричній практиці в Україні використовується досить обмежено, то встановлення патоморфологічних особливостей ВГ у дітей різного віку є необхідним для розуміння їх патогенезу. За результатами проведеного аналізу даних патологоанатомічного дослідження, безпосередньою причиною смерті дітей при ВГ у більшості випадків (61,5 %) є прогресуюча ПН із розвитком геморагічного синдрому та ендогенна інтоксикація (38,5 %). ХВГ В гістологічно підтверджувався наявністю загальноприйнятих морфологічних критеріїв, таких як запальна інфільтрація лімфоцитами, що захоплювала порталні тракти чи виходила за їх межі, реакція клітин Купфера, дистрофічні зміни гепатоцитів різного ступеня, “матово-склоподібні” гепатоцити з “пісочними ядрами”, вогнища перипортальних та централобулярних некрозів. У померлих дітей від ХВГ С та ХВГ В+С характерним було поєднання гідропічної, дрібно- або крупновакуольної жирової дистрофії та утворення тілець Каунсільмена. У просвіті синусоїдів траплялися скупчення лімфоцитів у вигляді ланцюжків, а в порталних шляхах у деяких випадках – лімфоїдні фолікули.

*У перинатально інфікованих дітей 1 року* на тлі незрілості печінки відслідковувався ряд морфологічних особливостей: розвиток значного набряку, гігантоклітинна трансформація гепатоцитів, яка часто спричиняла фульмінантний перебіг. Гігантоклітинна трансформація гепатоцитів виявлялась і при більш тривалому та хронічному перебігу ВГ. Особливістю таких варіантів ВГ був розвиток перичелюлярного фіброзу. Іноді спостерігалось значне заміщення паренхіматозних структурних елементів на СТ. Характерним було переважання альтеративних змін (дистрофії та поширеного некрозу); можливі крововиливи та виразна запальна інфільтрація імунокомпетентними клітинами, що відповідало активності  $A_3$ . Незважаючи на нетривалий перебіг захворювання, формувалась ЦП, предикторами якого були: колапс строми, активна запальна інфільтрація, крововиливи з гемосидерозом, зміна структури й ущільнення позаклітинного матриксу та інші. Траплялися холестатичні варіанти ВГ, у тому числі – з фульмінантним перебігом, коли поряд із гігантоклітинною трансформацією гепатоцитів спостерігається нерівномірний холестаза у жовчних капілярах та між-



часточкових жовчних дуктулах та накопичення білірубіну в цитоплазмі гепатоцитів.

Ретроспективне гістологічне дослідження печінки *підлітків, що померли від ХВГ*, дозволило виявити надзвичайне різноманіття морфофункціональних змін. Морфологічні особливості : розвиток нерівномірного лімфостазу, розширення просвіту синусоїдів лімфою, що іноді спричиняло атрофію печінкових балок від тиску. У вогнищах дистрофії і некрозу траплялися крововиливи з розвитком вогнищевого гемосидерозу. Фіброз портальних шляхів відповідав F3-F4. Отже, фіналом розвитку ХВГ у підлітків є ЦП. Постійно виявлявся некроз, який при ХВГ С мав більш поширений характер, ніж при ХВГ В. Суттєво поживавлювався патогенно індукований апоптоз, що виявлялось у вигляді тілець Каунсільмена.

У дітей, що померли, *легені* нагадували “шокові”, тобто спостерігались дрібні вогнища дис- та ателектазу, значне повнокрів’я з поширеними крововиливами, помірний набряк, “гіалінові мембрани”. Міжальвеолярні перетинки потовщені не тільки завдяки збільшенню кровонаповнення септальних капілярів, а й за рахунок проліферації ендотеліоцитів та макрофагів, які місцями закривали просвіт септальних капілярів, що властиво для васкуліту, і нагадувало інтерстиційне запалення. Зустрічалися сидеробласти з накопиченням гемосидерину. У *нирках* виявлялися різного ступеня виразності прояви некрозу епітелію звивистих каналців та лімфо-гістіоцитарної інфільтрації. Траплялися випадки глибокого некрозу ворсинок слизової оболонки *тонкої кишки*, що характерно для флегмонозно-гангренозного ентериту, які могли бути спричинені ПН з розвитком ДВЗ-синдрому. У *наднирниках* констатовано набрякання клітин пучкової зони кіркового шару за рахунок збільшення в них ліпідів, що трактується нами як компенсаторне підвищення синтезу глюкокортикоїдів. Траплялися регенераційні аденоми на тлі атрофії кіркового шару. Капсула органу то зморщена, то нерівномірно склерозована. Подібні зміни, безумовно, передбачають гіпофункцію наднирників. У *головному мозку* – значний набряк, повнокрів’я, дистрофічні зміни нейроцитів.

Відомо, що вікові особливості прогресування та наслідків HBV- та HCV-інфекції обумовлені ступенем зрілості й швидкістю інволюції імунної системи пацієнта (Strausbaugh L.J. 2001; Platt J., 2006). Так, при ВГ В і С та ЦП у померлих дітей віком до 1 року виявлялась акцидентальна інволюція *тимуса* 3-5 ступеня, за якої кількість лімфоцитів у кірковій та мозковій зонах зменшувалася майже до повного зникнення, спричиняла імунодефіцит, створювала умови для прогресивності перебігу. Таким чином, ВГ у дітей є поліорганною патологією. Вказані позапечінкові зміни могли маскувати клінічну маніфестацію ХВГ, особливо при малосимптомному перебігу, що утруднювало їх вчасну діагностику.

**Експериментальне дослідження ефективності гепатопротекторів.** Крім знання вікових особливостей дитячого організму, для успішного лікування необхідно глибоко розуміти і диференційовано враховувати фармакологічні ефекти різних лікарських засобів, що використовую-

ються для патогенетичної терапії ХВГ. Проведений аналіз результатів експериментальних досліджень показав, що ефективність гепатопротекторів при ХТГ стосовно різних показників білкового, ліпідного обміну, ПОЛ, ХС та ЦС є неоднозначною та розподіляється наступним чином (табл. 4, 5). *Антраль* покращував білоксинтезуючу функцію печінки, зменшував прояви ХС, про що свідчило зниження рівня ЗБ та ПБ, покращував ліпідний обмін та стан ПОЛ шляхом достовірного зниження рівня  $\beta$ -ліпопротеїнів та МДА, зменшував виразність ЦС, доказом чого є значне та достовірне зниження активності АЛТ та АСТ, а також проявів МЗС, за рахунок зменшення ТП та вмісту IgA, IgM, IgG. *Біциклोल* нормалізував уміст загального білка за рахунок достовірного збільшення альбумінів, достовірно знижував активність маркерів ХС і ЦС: АЛТ, АСТ, ЛФ, ГГТП. Препарат зменшував виразність МЗС, свідченням чого було достовірне зниження ТП, вмісту IgA, IgM, та IgG. *Урсохол* достовірно збільшував уміст загального білка та альбумінів, зменшував уміст  $\beta$ -ліпопротеїнів, активність ЛФ, АЛТ, АСТ, ТП, вміст IgA, IgM, IgG. *Тіотриазолін* достовірно збільшував уміст загального білка, проте А/Г індекс не відновлювався. Достовірно зменшувалася кількість  $\beta$ -ліпопротеїнів, ТП, IgA, МДА, активність АСТ (табл. 4, 5).

Найкраще відновлення білоксинтезуючої функцій печінки отримано при застосуванні *ес-сенціале*, свідченням чого було достовірне збільшення як вмісту загального білка, так й альбумінів; препарат достовірно зменшував уміст  $\beta$ -ліпопротеїнів, ЗБ, ПБ, активність АЛТ та ГГТП; зменшував виразність МЗС, про що свідчило зниження рівня IgA, IgM та IgG. *Глутаргін* достовірно збільшував уміст загального білка та альбумінів, знижував біохімічні маркери МЗС (ТП, IgA, IgM); відновлював рівень МДА; нормалізував деякі маркери ЦС (АСТ) та ХС (ГГТП). *Дарсил* призводив не лише до достовірного збільшення вмісту загального білка й альбумінів, а й до нормалізації А/Г коефіцієнта. Препарат зменшував виразність ЦС та МЗС, про що свідчило достовірне зниження активності АЛТ, АСТ, величини ТП та МДА. *Екстракт артишоку* сприяв достовірному відновленню вмісту загального білка та альбумінів, нормалізував біохімічні та імунні маркери МЗС (ТП, IgA, IgG), ЦС (АЛТ), стан ПОЛ. Потужних антихолестатичних властивостей не виявлено. *Галстена* суттєво та достовірно збільшувала рівень загального білка за рахунок альбумінів та глобулінів, зменшувала вміст IgA та IgG, проте не чинила позитивного впливу на ліпідний обмін, показники ХС та ЦС (див. табл. 4, 5).

Враховуючи, що передумовою хронізації патологічного процесу в печінці є недостатність репаративної регенерації (Сакута Г.А. и др., 2005; Туманский В.А., 2006, 2008), актуальним є дослідження її клітинних механізмів та вивчення медикаментозної стимуляції. При ушкодженні печінки статевонезрілих щурів  $\text{CCl}_4$  та етанолом встановлено, що у *тварин групи порівняння* відсоток ядер гепатоцитів в інтервалі  $G_0$ - $G_1$ , був меншим (на 7,1 %,  $p < 0,01$ ), що може бути наслідком альтерації високоспеціалізованих гепатоцитів, які найбільш чутливі до дії токсинів.

## Біохімічні показники синдрому холестазу та цитолізу у статевонезрілих щурів при лікуванні ХТГ (M±m)

Групи тварин	ЗБ, мкмоль/л	ПБ, мкмоль/л	ЛФ, У/л	АЛТ, У/л	АСТ, У/л	ГГТП, У/л	
Контроль	4,70±0,21	47,5±2,05	47,5±2,05	28,05±2,13	29,25±2,85	4,75±0,26	
ХТГ (порівняння)	7,06±0,58 <sup>***</sup>	73,38±8,32 <sup>**</sup>	73,38±8,32 <sup>**</sup>	112,08±8,93 <sup>***</sup>	354,54±24,03 <sup>***</sup>	9,92±1,21 <sup>***</sup>	
ХТГ+	Антраль	5,52±0,32 <sup>*#</sup>	61,63±3,92 <sup>**</sup>	61,63±3,92 <sup>**</sup>	65,63±7,52 <sup>***###</sup>	268,38±25,23 <sup>***#</sup>	7,88±0,83 <sup>**</sup>
	Артишок	6,23±0,39 <sup>**</sup>	60,60±2,53 <sup>***</sup>	60,60±2,53 <sup>***</sup>	53,8±3,87 <sup>***###</sup>	300,0±18,90 <sup>***</sup>	9,20±0,75 <sup>***</sup>
	Біциклोल	6,43±0,22 <sup>***</sup>	49,78±4,31 <sup>#</sup>	49,78±4,31 <sup>#</sup>	69,56±5,95 <sup>***###</sup>	247,78±13,91 <sup>***###</sup>	5,11±0,58 <sup>##</sup>
	Глутаргін	6,22±0,37 <sup>**</sup>	65,25±3,48 <sup>***</sup>	65,25±3,48 <sup>***</sup>	93,63±13,47 <sup>***</sup>	254,63±20,24 <sup>***##</sup>	7,13±0,37 <sup>***#</sup>
	Дарсіл	6,08±0,42 <sup>**</sup>	67,10±4,71 <sup>***</sup>	67,10±4,71 <sup>***</sup>	66,9±8,65 <sup>***###</sup>	280,8±16,63 <sup>***#</sup>	8,90±1,02 <sup>***</sup>
	Ессенціале	5,64±0,22 <sup>***#</sup>	64,11±5,73 <sup>*</sup>	64,11±5,73 <sup>*</sup>	87,56±6,86	308,22±12,59 <sup>***</sup>	6,11±0,43 <sup>***#</sup>
	Урсохол	6,31±0,47 <sup>**</sup>	54,70±2,06 <sup>*#</sup>	54,70±2,06 <sup>*#</sup>	83,5±6,86 <sup>***#</sup>	273,5±14,08 <sup>***###</sup>	7,90±0,69 <sup>***</sup>
	Тіотриазолін	6,10±0,38 <sup>**</sup>	76,30±5,85 <sup>***</sup>	76,30±5,85 <sup>***</sup>	93,5±6,13 <sup>***</sup>	263,4±14,53 <sup>***##</sup>	8,70±0,74 <sup>***</sup>
	Галстена	7,10±0,66 <sup>**</sup>	63,40±3,29 <sup>***</sup>	63,40±3,29 <sup>***</sup>	98,6±24,45 <sup>**</sup>	303,2±23,49 <sup>***</sup>	8,20±0,76 <sup>***</sup>

Примітка. (Тут і в таблицях 5-7) \* – p<0,05, \*\* – p<0,01, p<0,001 порівняно з контрольною групою; # – p<0,05, ## – p<0,01, ### – p<0,001 проти нелікованих тварин із хронічним токсичним гепатитом групи порівняння.

Характеристика білоксинтезуючої функції печінки, ТП, МДА, ліпідного обміну та  $\alpha$ -ФПН при лікуванні ХТГ (M $\pm$ m)

Групи тварин	Заг. білок, г/л	Альбумін, г/л	А/Г	ТП, од	МДА, мкмоль/л	$\beta$ -ліпопро- теїни, у.од	$\alpha$ -ФПН, Од/мл	
Контроль	60,71 $\pm$ 1,26	46,63 $\pm$ 1,26	3,31 $\pm$ 0,25	0,51 $\pm$ 0,07	3,40 $\pm$ 0,03	37,25 $\pm$ 0,63	0,26 $\pm$ 0,09	
ХТГ (порівняння)	51,64 $\pm$ 0,40 <sup>***</sup>	33,54 $\pm$ 0,87 <sup>***</sup>	1,89 $\pm$ 0,14 <sup>***</sup>	1,24 $\pm$ 0,16 <sup>***</sup>	4,60 $\pm$ 0,15 <sup>***</sup>	42,15 $\pm$ 1,14 <sup>**</sup>	5,88 $\pm$ 0,95 <sup>***</sup>	
ХТГ+	Антраль	60,41 $\pm$ 0,88 <sup>###</sup>	38,0 $\pm$ 2,4 <sup>**</sup>	2,29 $\pm$ 0,47	0,61 $\pm$ 0,05 <sup>###</sup>	3,25 $\pm$ 0,13 <sup>###</sup>	36,25 $\pm$ 1,24 <sup>##</sup>	0,63 $\pm$ 0,19 <sup>###</sup>
	Артишок	59,86 $\pm$ 2,76 <sup>###</sup>	41,4 $\pm$ 1,88 <sup>###</sup>	2,87 $\pm$ 0,54	0,85 $\pm$ 0,08 <sup>**#</sup>	3,44 $\pm$ 0,17 <sup>###</sup>	40,01 $\pm$ 1,06 <sup>*</sup>	0,32 $\pm$ 0,13 <sup>###</sup>
	Біциклол	60,99 $\pm$ 0,48 <sup>###</sup>	39,56 $\pm$ 1,10 <sup>***###</sup>	2,22 $\pm$ 0,29 <sup>**</sup>	0,59 $\pm$ 0,05 <sup>###</sup>	3,65 $\pm$ 0,19 <sup>###</sup>	41,33 $\pm$ 0,73 <sup>***</sup>	0,67 $\pm$ 0,31 <sup>###</sup>
	Глутаргін	61,69 $\pm$ 1,45 <sup>###</sup>	39,0 $\pm$ 2,36 <sup>**#</sup>	2,08 $\pm$ 0,26 <sup>**</sup>	0,83 $\pm$ 0,10 <sup>*#</sup>	3,57 $\pm$ 0,26 <sup>##</sup>	39,25 $\pm$ 1,10	0,30 $\pm$ 0,11 <sup>###</sup>
	Дарсіл	57,62 $\pm$ 2,12 <sup>##</sup>	41,3 $\pm$ 2,41 <sup>###</sup>	2,74 $\pm$ 0,31 <sup>#</sup>	0,75 $\pm$ 0,09 <sup>#</sup>	3,70 $\pm$ 0,14 <sup>###</sup>	39,2 $\pm$ 0,98	0,90 $\pm$ 0,33 <sup>###</sup>
	Есенціале	60,29 $\pm$ 1,05 <sup>###</sup>	41,67 $\pm$ 2,15 <sup>###</sup>	2,77 $\pm$ 0,55	0,87 $\pm$ 0,08 <sup>**</sup>	3,75 $\pm$ 0,14 <sup>####</sup>	38,11 $\pm$ 0,60 <sup>#</sup>	0,62 $\pm$ 0,19 <sup>###</sup>
	Урсохол	58,99 $\pm$ 1,08 <sup>###</sup>	38,48 $\pm$ 1,61 <sup>***#</sup>	2,26 $\pm$ 0,42 <sup>*</sup>	0,79 $\pm$ 0,08 <sup>*#</sup>	3,85 $\pm$ 0,19 <sup>###</sup>	38,20 $\pm$ 0,82 <sup>#</sup>	0,27 $\pm$ 0,09 <sup>###</sup>
	Тіотриазолін	55,26 $\pm$ 1,08 <sup>**##</sup>	34,95 $\pm$ 0,47 <sup>***</sup>	1,88 $\pm$ 0,16 <sup>***</sup>	0,63 $\pm$ 0,06 <sup>##</sup>	3,54 $\pm$ 0,18 <sup>###</sup>	38,60 $\pm$ 0,94 <sup>#</sup>	0,73 $\pm$ 0,24 <sup>###</sup>
	Галстена	63,32 $\pm$ 2,12 <sup>###</sup>	39,2 $\pm$ 1,78 <sup>***###</sup>	1,67 $\pm$ 0,12 <sup>***</sup>	0,85 $\pm$ 0,13 <sup>*</sup>	3,58 $\pm$ 0,13 <sup>**###</sup>	41,20 $\pm$ 1,24 <sup>*</sup>	1,45 $\pm$ 0,49 <sup>###</sup>

Відсоток ядер у S-фазі був більшим 58,3 % ( $p < 0,05$ ), що відобразилося на зростанні індексу проліферації (PI) на 23,0 % ( $p < 0,01$ ) та вказує на посилення синтезу ДНК. Доведено, що збільшення S-фази в ядрах гепатоцитів зменшує їх функціональну активність стосовно синтезу альбумінів ( $r = -0,8$ ,  $p < 0,05$ ), який відновлюється після настання  $G_2M$  інтервалу КЦ ( $r = 0,76$ ,  $p < 0,05$ ) (табл. 6). Найбільш інтенсивно посилює процеси синтезу ДНК в ядрах гепатоцитів *біциклол*, дещо меншою мірою – *тіотриазолін*, *ессенціале* та *дарсіл*. *Тіотриазолін* та інші досліджувані препарати, за винятком артишоку, достовірно збільшували відсоток ядер у фазі  $G_0-G_1$  порівняно з нелікованими тваринами. Це засвідчує посилення проліферації гепатоцитів, які не зазнали необоротного ушкодження. Зареєстровано більший відсоток ядер у фазі  $G_0-G_1$  при введенні *урсохолу* на тлі зменшення ПБ ( $r = 0,9$ ;  $p < 0,05$ ), активності АЛТ ( $r = 0,9$ ;  $p < 0,05$ ) та ГГТП ( $r = 0,97$ ;  $p < 0,01$ ), що доводить його високу лікувальну ефективність. Встановлено, що артишок зовсім не впливає на мітотичний потенціал.

Уведення гепатотоксинів спричиняло достовірне збільшення фрагментації ядерної ДНК гепатоцитів у 2 рази, яке прямо корелювало з відсотком ядер у фазі S ( $r = 0,28$ ;  $p < 0,001$ ), проте синтез ядерної ДНК був недостатнім для повного відновлення структури і функції ушкодженого органу. Виразність ЦС зростала паралельно з посиленням фрагментації ядерної ДНК ( $r = 0,66$ ;  $p < 0,01$  для АСТ).

Враховуючи, що основним шляхом загибелі гепатоцитів при ХВГ В та ХВГ С є апоптоз (Guicciardi M.E. et al., 2006; Березенко В.С., 2007; Mustafa A. et al., 2009), зменшення фрагментації ядерної ДНК при введенні *артишоку* на 45 % ( $p < 0,05$ ), *галстени* – на 35 % ( $p < 0,01$ ) (див. табл. 6) вказує на зменшення патогенно індукованого апоптозу при їх застосуванні. Низький антиапоптичний ефект зареєстровано при застосуванні *біциклолу*, *дарсілу*, *ессенціале*, *урсохолу*, *тіотриазоліну* та *антралю*. Важливо відмітити, що після введення *глутаргіну* фрагментація ДНК була навіть більшою, ніж у групі порівняння на 31 %, що свідчить про посилення апоптозу при застосуванні донаторів оксиду азоту внаслідок розкриття мітохондріальних пор (Veenman L., Gavish M., 2006).

Таблиця 6

**Фази клітинного циклу ДНК в ядрах клітин печінки статевонезрілих щурів при експериментальному ХТГ та його лікуванні гепатопротекторами ( $M \pm \sigma$ )**

Групи тварин	$G_0/G_1$ (%)	S (%)	$G_2M$ (%)	PI (%)	Sub- $G_1$ (%)	
Контроль	76,48±2,53	2,30±0,73	21,22±3,09	23,52±2,53	2,57±0,55	
ХТГ (порівняння)	71,08±3,65**	3,64±1,54*	25,27±4,04	28,92±3,65**	5,32±1,66***	
ХТГ+	Антраль	85,82±2,06***	2,69±0,29	11,50±1,88***	14,19±2,06***	5,24±0,18**
	Артишок	73,14±3,50	2,21±0,98	24,64±2,56	26,86±3,50	2,95±0,37#
	Біциклол	83,13±3,87***	4,13±0,38**	12,74±3,55***	16,87±3,86***	4,48±1,75**

Глутаргін	85,42±1,31 <sup>***##</sup>	2,46±0,95	12,11±0,43 <sup>***##</sup>	14,58±1,32 <sup>***##</sup>	6,96±0,60 <sup>**</sup>
Дарсіл	82,56±2,78 <sup>***##</sup>	3,14±1,06	14,29±2,26 <sup>***##</sup>	17,44±2,78 <sup>***##</sup>	4,81±0,86 <sup>**</sup>
Ессенціалє	83,24±3,45 <sup>***##</sup>	3,32±1,33	13,44±3,99 <sup>*##</sup>	16,76±3,45 <sup>*##</sup>	4,17±1,28 <sup>*</sup>
Урсохол	83,68±3,97 <sup>***##</sup>	2,62±0,16	13,70±4,02 <sup>***##</sup>	16,32±3,97 <sup>***##</sup>	4,49±1,60 <sup>*</sup>
Тіотриазолін	87,10±2,45 <sup>***##</sup>	3,33±0,98 <sup>*</sup>	9,57±1,68 <sup>**##</sup>	12,90±2,45 <sup>***##</sup>	5,14±0,39 <sup>**</sup>
Галстена	83,38±3,65 <sup>***##</sup>	2,02±0,78	14,61±4,25 <sup>***##</sup>	16,62±3,66 <sup>***##</sup>	3,44±0,37 <sup>***##</sup>

Характерною ознакою популяції гепатоцитів статевонезрілих щурів групи порівняння було збільшення плоідності ядерної ДНК >8с з появою нетипових для здорових тварин відповідного віку ядер гепатоцитів із набором ДНК 32с, 64с і більше (рис. 4) у 2,2 раза ( $p<0,01$ ) та зменшення відсотка 2с-гепатоцитів (на 8,7 %,  $p<0,05$ ) (табл. 7), що свідчить про ушкодження останніх та підтверджується зворотною кореляцією ( $r=-0,61$ ;  $p<0,001$ ). Негативно впливає на проліферацію 2с-гепатоцитів збільшення активності АЛТ ( $r=-0,73$ ;  $p<0,05$ ) та ЛФ ( $r=-0,75$ ;  $p<0,05$ ).

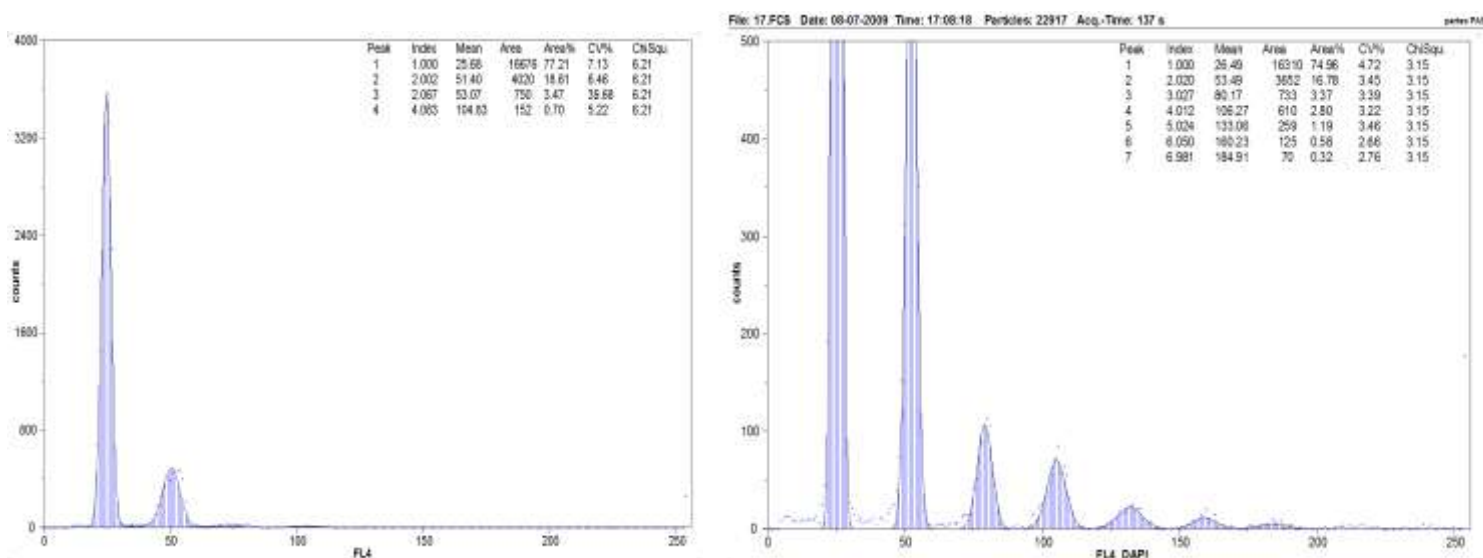


Рис. 4. Розподіл ядер клітин печінки статевонезрілих щурів за класами плоідності. Ліворуч – інтактна тварина контрольної групи, праворуч – тварина з хронічним токсичним гепатитом (група порівняння). Тут і далі: цифрові дані (зліва-направо): Реак – номер піку (1 – 2с, 2 – 4с, 3 – 8с, 4 – 16с, 5 – 32с, 6 – 64с, 7 – 128с); CV% - відносний коефіцієнт варіації піку.

Встановлено, що збільшення плоідності ДНК клітин печінки не веде до збільшення їх реплікативної здатності, а, навпаки, її знижує, тобто, відбувається гальмування репаративної регенерації печінки. При збільшенні відсотка 8с ядер зменшується кількість альбумінів у плазмі крові ( $r=-0,74$ ;  $p<0,05$ ), що пов'язано з гіршим виконанням спеціалізованої функції поліплоїдними клітинами. Патологічна поліплоїдія ДНК ядер гепатоцитів (>8с) прямо корелює з посиленням процесів цитолізу та холестазу, про що свідчить пряма кореляція з активністю ГГТП ( $r=0,87$ ). Підви-

щення рівня МДА в сироватці крові прямо корелювало зі збільшенням відсотка 8с ядер ( $r=0,95$ ,  $p<0,05$ ), що доводить вплив процесів ПОЛ на активацію поліплоїдизації.

На тлі введення *тіотриазоліну*, *глутаргіну*, *антралю*, *біциклолу*, *галстени*, *дарсілу та есенціале* відсоток 2с ядер був достовірно більшим, що ми оцінюємо як позитивний лікувальний ефект. Достовірна деполіплоїдизація настає при застосуванні *глутаргіну*, *тіотриазоліну* і *дарсілу*. При введенні *есенціале та артишоку*, як і у нелікованих тварин, спостерігалась поліплоїдія (табл. 7), що було ознакою регенераційної гіпертрофії.

Таблиця 7

**Показники плоідності набору ДНК в ядрах клітин печінки статевонезрілих щурів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті та корекції гепатопротекторами ( $M\pm\sigma$ )**

Групи тварин		2с %	4с %	2с/4с %	> 8с %
Контроль		76,60±5,72	17,91±4,91	4,28	2,26±1,16
ХТГ (порівняння)		69,93±3,71*	21,52±2,69	3,25	4,91±1,58**
ХТГ+	Антраль	83,10±1,77#	11,71±0,69*#	7,1	2,27±1,19
	Артишок	74,21±1,11	18,20±3,42	4,08	4,33±1,78
	Біциклол	80,91±4,51#	12,82±1,90#	6,32	2,91±1,49
	Глутаргін	83,45±0,70*#	12,00±0,83#	6,95	1,86±0,43#
	Дарсіл	80,44±3,05#	12,82±1,26#	6,27	1,46±0,56#
	Есенціале	80,12±3,85#	12,33±2,23*#	6,5	3,37±1,13
	Урсохол	78,89±4,77	15,93±3,99	4,95	2,50±1,24
	Тіотриазолін	85,15±1,83*#	10,33±0,93*#	5,63	1,80±0,36#
	Галстена	80,57±5,55#	14,17±3,41#	5,68	2,99±2,07

На основі проведених морфологічних досліджень уперше встановлено, що при експериментальному ХТГ у статевонезрілих щурів розвивається значне порушення синтезу тканинної рідини та лімфообігу у вигляді набряку, збільшення кількості функціонуючих лімфатичних судин, яке суттєво може впливати на фіброгенез у печінці, а тому потребує лікувальної корекції. При лікувально-профілактичному застосуванні *антралю* відбувалося зменшення запальної інфільтрації, холестази, виразності альтеративних змін (дистрофії та некрозу), що доводить значні протизапальні, мембраностабілізуючі, регенераційні та дезінтоксикаційні ефекти. *Артишок* проявив незначні протизапальні та антифіброзні властивості, але позитивно впливав на метаболізм, регенерацію, дещо пригнічував розвиток жирової дистрофії. Він суттєво гальмував синтез тканинної рідини і розвиток набряку, а це може впливати на евакуацію жовчі та зменшувати холестаз. *Біциклол* проявив суттєву протизапальну, дезінтоксикаційну, мембраностабілізуючу дію; значно посилював регенерацію та зменшував виразність фіброзу печінки. *Глутаргін* покращував мікроциркуляцію,

процеси регенерації та метаболізму в печінці і, в першу чергу, ліпідного обміну, зменшував дистрофію та некроз. Тобто, препарат виявляє мембраностабілізуючу та дезінтоксикаційну дії. Низький протизапальний ефект у даного гепатопротектора, а також здатність посилювати апоптоз гепатоцитів обмежує, на нашу думку, застосування даного препарату в дітей. Фармакологічні ефекти *дарсілу* були близькими до таких в артишоку, тобто, препарат чинить помірний протекторний ефект, що полягає в помірній стимуляції регенерації ушкодженого органа та антифіброзній дії. *Ессенціале* проявив хороші мембраностабілізуючі властивості, про що свідчить збереження архітектоніки печінки, зменшення набряку, некрозапальної активності та дистрофії. Препарат значно гальмував прогресивність некрозапальних і фіброзних процесів та підвищував активність внутрішньоклітинної репарації гепатоцитів і регенерації органу. *Тіотриазолін* проявляє помірну протизапальну, антифіброзну, мембраностабілізуючу та дезінтоксикаційну дію, про що свідчить несуттєве пригнічення дистрофічних змін у клітинах, проте він значно стимулює регенерацію ушкодженого органу за рахунок проліферації диплоїдних гепатоцитів. *Урсохол* проявив високі протекторні властивості, зокрема дезінтоксикаційні, мембраностабілізуючі, антицитолітичні, антихолестатичні, які полягали в мінімізації некротичних та дистрофічних змін у гепатоцитах. Протизапальна дія препарату помірною і поступалася такій в антралю та біциклолу, але він має достатній антифіброзний ефект, що проявляється суттєвим пригніченням таких предикторів фіброзу, як холестаза, крововиливи, набряк, альтеративні зміни. *Галстена* чинить помірний протизапальний, мембраностабілізуючий, метаболічний, антифіброзний та регенераційний вплив.

У печінці щурів **III серії експериментів** характерною ознакою ЦП, що сформувався на тлі ХТГ, була наявність сполучнотканинних септ з облітерацією центральних вен та формуванням псевдочасточок. Спонтанна регенерація в даному випадку відбувалася переважно за рахунок поліплоїдизації та гіпертрофії гепатоцитів. *Антраль та біциклом*, меншою мірою – *урсохол, ессенціале, глутаргін* зменшують виразність фіброзу печінки, що вказує на наявність у даних препаратів антифіброзного ефекту.

Резюмуючи результати проведених експериментальних досліджень із моделюванням ХТГ у статевонезрілих щурів та вивчення в порівняльному аспекті ефективності гепатопротекторів із метою розробки нових підходів до патогенетичної терапії ХВГ у дітей, можна стверджувати, що визначальним позитивним чинником є вплив препаратів на процеси репаративної регенерації гепатоцитів, зокрема на активність проліферативних процесів у печінці, основними показниками якої є: збільшення відсотка 2с-гепатоцитів та посилення синтезу ядерної ДНК. Розкриття фундаментальних основ впливу гепатопротекторів на процеси, що відбуваються в ядрі гепатоцитів, а саме зміна фаз КЦ, фрагментація ДНК, плоїдність набору ДНК, поглиблює розуміння патогенезу ХТГ та ЦП, що створює підґрунтя для вдосконалення патогенетичної терапії ХВГ у дітей різного віку, покращення прогнозу та наслідків даної патології, зменшення летальності.



## ВИСНОВКИ

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і вирішення наукової проблеми, що виявляються в розкритті нових, невідомих раніше вікових особливостей патогенезу хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей, отриманих на основі експериментальних та клінічно-морфологічних досліджень з урахуванням стану цитокінової регуляції, особливостей функціонування клітинної і гуморальної ланок імунітету. Розроблені нові підходи до патогенетичної терапії хронічних вірусних гепатитів у дітей на основі вперше проведеного дослідження впливу гепатопротекторів на процеси репаративної регенерації, фрагментацію та плоідність набору ядерної ДНК гепатоцитів, що дозволить покращити результати лікування даної патології.

1. Виразність клініко-лабораторних синдромів і симптомів хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей прогресує зі збільшенням віку і тривалості захворювання та досягає максимуму в підлітковому віці, що підтверджується наростанням проявів печінково-клітинної недостатності, пов'язаної з посиленням цитолізу гепатоцитів та заміщенням паренхіми сполучною тканиною.

2. У фазу реплікації вірусу достовірно вища ( $p < 0,01-0,001$ ) концентрація прозапальних (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-8) та профіброгенного TGF- $\beta$ 1 цитокінів, ніж у фазі інтеграції/латентній стадії, при якій збільшується вміст протизапального цитокіну IL-10. Незалежно від фази реплікації вірусу відбувається зменшення продукції IFN- $\alpha$  і збільшення – IFN- $\gamma$ , а також на тлі зменшення кількості CD3+ та CD4+ відбувається активація цитотоксичних реакцій, спричинених CD8+. У фазі реплікації достовірно зменшується відсоток CD16+, що посилюється у фазу інтеграції/латентній стадії як в абсолютних (на 29,1 %,  $p < 0,001$ ), так й у відносних (на 32,1 %,  $p < 0,001$ ) величинах та пригнічує елімінацію вірусів.

3. Зростання активності запального процесу в печінці при хронічних вірусних гепатитах В та С у дітей поєднується з достовірним ( $p < 0,001$ ) збільшенням концентрації прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$  – в 11 разів, IL-2 – у 4,1 раза, IL-6 – у 6,7 раза, IL-8 – у 9 разів), IGF-1 – у 2 рази ( $p < 0,001$ ), TGF- $\beta$ 1 – на 7,0 % ( $p < 0,05$ ), а також зі зменшенням продукції протизапального цитокіну IL-4 у 2 рази ( $p < 0,05$ ). Збільшення вмісту IL-2 прямо корелює зі збільшенням кількості CD25+ ( $r=0,32$ ;  $p < 0,01$ ). Зі зростанням активності запалення нормалізується вміст CD16+, але збільшується кількість CD8+, що посилює синдром цитолізу як в абсолютних (на 33,0 %;  $p < 0,05$ ), так й у відносних (на 22,1 %;  $p < 0,01$ ) показниках ( $r=0,86$ ;  $p < 0,001$ ).

4. У дітей першого року життя, інфікованих перинатально, патогенетично значимим є гіперпродукція прозапальних цитокінів (TNF- $\alpha$  – в 11 разів,  $p < 0,001$ ; IL-2 – у 6 разів,  $p < 0,05$ ; IL-6 – у 4 рази,  $p < 0,001$ ; IL-8 – у 15 разів,  $p < 0,001$ ), компенсаторне збільшення вмісту протизапального IL-10 (у 4,4 раза,  $p < 0,01$ ) та профіброгенного TGF- $\beta$ 1 (на 22,3 %,  $p < 0,001$ ) цитокінів на тлі зменшення IFN- $\alpha$  (у 6 разів,  $p < 0,01$ ), що визначає умови для первинної хронізації процесу та швидких темпів

формування цирозу печінки. Зі збільшенням віку дітей, особливо в підлітків, цитокиновий дисбаланс зменшується, нормалізується продукція прозапальних цитокінів на тлі достовірного збільшення вмісту протизапальних (IL-10 та TGF- $\beta$ 1), що віддзеркалює зміну активності Т хелперів з 1-го типу на 2-й і пояснює стихання виразності запалення. Збільшення концентрації IGF-1 у підлітків (у 2,5 раза,  $p < 0,001$ ) вказує на важливість даного фактору в прогресуванні хронічного вірусного гепатиту та ризику формування цирозу печінки.

5. Особливості імунопатогенезу хронічних вірусних гепатитів значною мірою визначаються віком хворої дитини. У дітей раннього віку виявлено зменшення кількості CD3+ та CD4+ лімфоцитів як в абсолютних ( $r=0,99$ ;  $p < 0,001$ ), так і у відносних ( $r=0,98$ ;  $p < 0,001$ ) показниках, а в підлітків – переважання активності Т-хелперів 2 типу та гуморальної ланки імунітету над клітинною, свідченням чого є достовірне зменшення співвідношення CD3+/CD22+ в обох вікових групах (в 1,5 раза – у дітей першого року, в 1,8 раза – у підлітків) за рахунок зменшення вмісту CD3+ та збільшення – CD22+ внаслідок гіперпродукції IL-6 ( $r=0,52$ ;  $p < 0,01$ ). Зниження імунорегуляторного індексу в 1,7 раза ( $p < 0,001$ ) у дітей першого року та підлітків відбувається за рахунок пригнічення вироблення CD4+ Т-хелперів ( $r=0,38$ ;  $p < 0,05$ ) та збільшення – CD8+ Т-лімфоцитів ( $r=-0,45$ ;  $p < 0,05$ ), що створює умови для посилення цитотоксичних реакцій, пояснює швидке прогресування захворювання та формування цирозу печінки у дітей першого року життя і підлітків та вимагає індивідуального підходу до патогенетичної терапії хронічних вірусних гепатитів у дітей різного віку.

6. Патоморфологічними особливостями вірусних гепатитів В та С у померлих дітей першого року життя є розвиток гігантоклітинного гепатиту з виразними ексудативними та альтеративними змінами в печінці, частий фульмінантний перебіг на тлі акцидентальної інволюції тимуса. Для підлітків типовим є розвиток цирозу печінки і, навіть, гепатоцелюлярної карциноми. Морфологічні зміни в нирках, головному мозку, легенях, підшлунковій залозі, тонкій кишці, посилюють несприятливий перебіг основного захворювання, ускладнюють діагностику і можуть спричинити летальні наслідки.

7. Встановлено критерії прогресивності перебігу хронічних вірусних гепатитів В і С та прогресування цирозу печінки в дітей різного віку, такі як збільшення вмісту  $\alpha$ -фетопротеїну та пептидно-зв'язаного гідроксипроліну в сироватці крові понад допустимі нормативи, зниження співвідношень CD3+/CD22+ та CD4+/CD8+, зменшення синтезу ІФН- $\alpha$  та ІФН- $\gamma$ , збільшення концентрації протизапальних цитокінів IL-10 та TGF- $\beta$ 1, яке зворотно та достовірно корелює зі зменшенням відсотка CD3+ ( $r=-0,45$ ), CD4+ ( $r=-0,46$ ) та CD8+ ( $r=-0,49$ ). Для підлітків також має значення збільшення концентрації IGF-1.

8. Ефективність гепатопротекторів при лікуванні експериментального хронічного токсичного гепатиту різновекторна за напрямком та виразністю дії. Суттєвіше пригнічують виразність

біохімічних маркерів синдромів холестазу та цитолізу такі потужні мембраностабілізатори, як антраль, біциклол, урсохол, есенціале. Синдром мезенхімального запалення краще інгібують, крім названих препаратів, глутаргін, артишок та галстена. Відновлення білоксинтезуючої функції інтенсивніше відбувається при застосуванні рослинних гепатопротекторів дарсілу та артишоку, а також галстени, есенціале, біциклолу. Ліпідний обмін частково нормалізують : антраль, тіотриазолін, урсохол, есенціале. Найпотужнішими антиоксидантами є антраль та біциклол.

9. Характерною ознакою популяції гепатоцитів статевонезрілих щурів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті є збільшення плоідності ядерної ДНК  $>8c$  (у 2,2 раза,  $p<0,01$ ), зменшення відсотка ядер в інтервалі  $G_0/G_1$  (на 7,1 %,  $p<0,01$ ), збільшення – у S-фазі (на 58,3 %,  $p<0,05$ ), збільшення індексу проліферації (на 23,0 %,  $p<0,01$ ) та фрагментації ядерної ДНК (у 2 рази,  $p<0,001$ ). Достовірна деполіплоїдизація настає при застосуванні дарсілу, глутаргіну, тіотриазоліну. Зменшення фрагментації ядерної ДНК виявлено при застосуванні екстракту артишоку (у 1,8 раза,  $p<0,05$ ) та галстени (у 1,5 раза,  $p<0,01$ ). Донатор оксиду азоту глутаргін, збільшуючи фрагментацію ДНК (у 2,7 раза,  $p<0,01$  проти контролю), посилює патогенно індукований апоптоз.

10. Активація репараційної регенерації гепатоцитів при експериментальному хронічному токсичному гепатиті на тлі застосування гепатопротекторів біциклолу та тіотриазоліну відбувається шляхом посилення синтезу ядерної ДНК (відповідно в 1,8 раза,  $p<0,01$  та в 1,5 раза,  $p<0,05$ ). Активація проліферації спеціалізованих гепатоцитів, що підтверджується збільшенням співвідношення  $2c/4c$ -гепатоцитів у 2 рази, настає при застосуванні антралю, глутаргіну, есенціале, дарсілу та біциклолу. Потужним антифіброзним ефектом володіють біциклол та антраль, дещо меншою мірою – урсохол, есенціале та глутаргін.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Рикало Н. А. Дезінтоксикаційна та метаболічна терапія при вірусних гепатитах у дітей / Н. А. Рикало // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2008. – № 1-2 (22). – С. 53–55.
2. Рикало Н. А. Патогенетичні принципи інфузійної терапії при патології печінки у дітей : історія і перспективи / Н. А. Рикало // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2008. – № 1-2 (22). – С. 50–52.
3. Рикало Н. А. Морфологічні зміни органів і тканин дітей, померлих від вірусних гепатитів та цирозу печінки / Н. А. Рикало // Вісник морфології. – 2008. – № 14 (2). – С. 313–316.
4. Незгода І. І. Діагностичні критерії виявлення хронічних вірусних гепатитів В та С у дітей / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Перинатологія та педіатрія. – 2008. – № 1 (33). – С. 107–110. (Здобувач особисто провела пошук, реферування і аналіз літературних джерел, сформулювала висновки, підготувала до друку).
5. Рыкало Н. А. Функционирование системы цитокинов при вирусных гепатитах у детей / Н. А.

- Рыкало // Международный медицинский журнал. – 2008. – Т. 14, № 1. – С. 83–87.
6. Рикало Н. А. Морфологічна картина НВV-інфекції в дітей / Н. А. Рикало // Клінічна та експериментальна патологія. – 2008. – Т. 7, № 2. – С. 126–130.
  7. Рикало Н. А. Клініко-патогенетична характеристика летальних випадків вірусних гепатитів у дітей / Н. А. Рикало, І. І. Незгода // Медицина сьогодні і завтра. – 2008. – № 2. – С. 105–108. (Здобувач провела огляд літератури, брала участь у зборі матеріалу та проведенні досліджень, підвела висновки та підготувала матеріали до публікації).
  8. Незгода І. І. Вірусні гепатити у дітей – актуальна проблема сучасної медицини (огляд літератури) / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Современная педиатрия. – 2008. – № 2 (19). – С. 171–173. (Здобувач особисто провела інформаційний пошук, сформулювала висновки та підготувала матеріали до друку).
  9. Незгода І. І. Захворюваність на вірусні гепатити у дітей Вінниччини / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Ліки України. – 2008. – № 8 (124). – С. 62–65. (Здобувач здійснила огляд літератури, брала участь у зборі матеріалу, провела статистичний аналіз, узагальнення отриманих даних та формулювання висновків).
  10. Rikalo N. A. The clinical and pathogenetical analysis of the lethal case of viral hepatitis C in child / N. A. Rikalo, I. I. Nezgod, T. M. Slobodyanyuk // Патологія. – 2008. – Т. 5, № 2. – С. 89. (Здобувач провів огляд літератури, брав участь у проведенні досліджень, сформулював висновки, підготував матеріал до друку).
  11. Рикало Н. А. Особливості патогенезу та патоморфології вірусного гепатиту В на тлі акцидентальної інволюції тимуса у дитини першого року життя / Н. А. Рикало // Современная педиатрия. – 2009. – № 5 (27). – С. 22–25.
  12. Рикало Н. А. Патогенетичне лікування хронічних вірусних гепатитів у дітей / Н. А. Рикало // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 5 (49). – С. 60–63.
  13. Рикало Н. А. Імунологічні порушення при хронічному вірусному гепатиті В і С у дітей (огляд літератури) // Современная педиатрия. – 2009. – № 1 (23). – С. 164–168.
  14. Рикало Н. А. Патогенетичне обґрунтування вибору гепатопротекторів для педіатричної практики в умовах експерименту / Н. А. Рикало // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2009. – № 2. – С. 69–73.
  15. Рикало Н. А. Експериментальна модель хронічного тетрахлорметанового гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів / Н. А. Рикало // Вісник Української медичної стоматологічної академії. – 2009. – Т. 9, № 2. – С. 116–118.
  16. Рикало Н. А. Фетальні гепатити : етіологія, патогенез та функціональна морфологія / Н. А. Рикало // Ліки України. – 2009. – № 9 (135). – С. 104–106.
  17. Рикало Н. А. Патоморфологічні зміни в печінці при вірусному гепатиті у дітей першого року

життя / Н. А. Рикало, І. І. Незгода // Сучасна гастроентерологія. – 2009. – № 3 (47). – С. 10–15. (Здобувач провела огляд літератури, брала участь у проведенні досліджень, сформулювала висновки та підготувала матеріали до публікації).

18. Рикало Н. А. Патогенетична характеристика клінічних та біохімічних показників при хронічних вірусних гепатитах у дітей / Н. А. Рикало, І. І. Незгода // Ліки України. – 2009. – № 6. – С. 22–25. (Здобувачем особисто проведено огляд літератури, участь у зборі матеріалів і проведенні досліджень, здійснено статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, формулювання висновків та підготовку до друку).

19. Незгода І. І. Рівень інфікованості HBV та HCV у дітей гастроентерологічних стаціонарів м. Вінниці / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Ліки України. – 2009. – № 8 (134). – С. 83–85. (Здобувачем особисто проведено огляд літератури, участь у зборі матеріалів і проведенні досліджень, особисто здійснено статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, формулювання висновків та підготовку до друку).

20. Рикало Н. А. Медикаментозний патоморфоз експериментального хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки / Н. А. Рикало // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т. 5, № 2, додаток. – С. 41–47.

21. Рикало Н. А. Патогенетична характеристика імунного статусу та морфологічних особливостей при хронічних вірусних гепатитах у підлітків / Н. А. Рикало // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т. 5, № 3. – С. 315–323.

22. Рикало Н. А. Фрагментація ядерної ДНК гепатоцитів при хронічному токсичному гепатиті у статевонезрілих щурів : патогенетична корекція / Н. А. Рикало // Медицина сьогодні і завтра. – 2010. – № 4 (49). – С. 15–18.

23. Рикало Н. А. Механізми хронізації та прогресивності вірусних гепатитів В і С у дітей : вікові аспекти / Н. А. Рикало // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т. 5, № 3, додаток. – С. 120–127.

24. Мороз В. М. Поліплоїдія гепатоцитів у статевонезрілих щурів при хронічному токсичному гепатиті, медикаментозна корекція / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – № 1. – С. 61–70. (Здобувачем особисто проведено експериментальні дослідження на статевонезрілих щурах з моделлю хронічного токсичного гепатиту, статистичну обробку отриманих результатів, зроблено висновки та підготовлено результати до друку).

25. Мороз В. М. Вплив гепатопротекторів на клітинні механізми репаративної регенерації тканини печінки при хронічному токсичному гепатиті та цирозі у статевонезрілих щурів / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Журнал АМН України. – 2010. – Т. 16, № 4. – С. 701–712. (Здобувачем особисто проведено усі експериментальні дослідження, статистичний аналіз отриманих результатів, сформульовано висновки, підготовлено статтю до друку).

26. Мороз В. М. Експериментальне обґрунтування патогенетичної терапії хронічної патології печінки / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Вісник морфології. – 2010. – № 16 (2). – С. 236–241. (Здобувачем особисто проведено експериментальні дослідження, забір первинного матеріалу, інтерпретацію та узагальнення отриманих результатів, формулювання висновків, підготовку до друку).
27. Мороз В. М. Роль трансформуючого фактору росту- $\beta$  та інсуліноподібного фактору росту-1 у патогенезі хронічних вірусних гепатитів у дітей різного віку / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Вісник морфології. – 2010. – № 16 (3). – С. 640–644. (Здобувачем здійснено реферування та аналіз використаних джерел, зібрано первинний матеріал, проведено статистичну обробку, формулювання висновків).
28. Пат. 43704 України, МПК (2009) G09B 23/00. Спосіб моделювання хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів / Н. А. Рикало, І. І. Незгода, В. А. Рауцкіс ; власник Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – № u2009 03490 ; заявл. 10.04.2009 ; опубл. 25.08.2009, Бюл. № 16. (Здобувачу належить ідея, особисто проведені експерименти).
29. Пат. 53526 України, МПК (2009) G01N 33/53. Спосіб неінвазивної діагностики фіброзу та цирозу печінки / В. М. Мороз, Н. А. Рикало ; власник Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. – № u201004025 ; заявл. 06.04.2009 ; опубл. 11.10.2010, Бюл. № 19. (Здобувачу належить ідея, особисто проведено експерименти, інтерпретацію та узагальнення отриманих результатів).
30. Рикало Н. А. Раціоналізація патогенетичних підходів до лікування хронічних вірусних гепатитів у дітей / Н. А. Рикало // XIV університетська науково-практична конференція молодих вчених та фахівців, 15-16 травня 2008 р. : матеріали конф. – Вінниця : ВНМУ, 2008. – С. 110–112.
31. Рикало Н. А. Патогенетична характеристика біохімічних показників крові при летальних випадках вірусних гепатитів у дітей / Н. А. Рикало, І. І. Незгода // Науково-практична конференція, присвячена 90-річчю з дня народження професора С. Ф. Олійника та пам'яті професора М. В. Панчишин : 2-3 жовтня 2008 р. : матеріали конф. – Львів : Ліга-Прес, 2008. – С. 33–34. (Здобувач провела огляд літератури, брала участь у зборі матеріалу та проведенні досліджень, підвела висновки та підготувала до публікації).
32. Незгода І. І. Парентеральні вірусні гепатити у дітей : погляд на проблему / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Мистецтво лікування. – 2009. – № 1. – С. 38–40. (Здобувачем особисто проведено огляд літератури, сформульовано висновки, підготовлено матеріали до друку).
33. Незгода І. І. Клініко-патогенетичний аналіз летального випадку гепатиту В у дитини / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Інфекційні хвороби у клінічній та епідеміологічній практиці : науково-практична конференція і пленум Асоціації інфекціоністів України, м. Львів, 21-22 травня 2009 р. : матеріали конф. – Тернопіль : ТДМУ «Укрмедкнига», 2009. – С. 29–31. (Здобувач провела огляд

літератури, брала участь у зборі матеріалу, проведенні досліджень, підвела висновки, підготувала до друку).

34. Незгода І. І. Характеристика клінічних і параклінічних показників при хронічних вірусних гепатитах у дітей / І. І. Незгода, Н. А. Рикало // Хвороби печінки в клінічній практиці : науково-практична конференція з міжнародною участю, м. Харків, 26-27 березня, 2009р. : – Харків, 2009. – С. 125–126. (Здобувач провела огляд літератури, брала участь у зборі матеріалів, особисто здійснила статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, сформулювала висновки).

35. Nezgod I. Morphological characteristic of viral hepatitis lethal cases at children / I. Nezgod, N. Rikalo, S. Singh // 27<sup>th</sup> annual meeting of the European society for paediatric infectious diseases, Brussels, Belgium, june 9-13, 2009 : poster abstracts / The pediatric Infectious Disease Journal. – 2009. – Vol. 28, № 6. – P. 221. (Здобувач провела огляд літератури, брала участь у зборі матеріалу та проведенні досліджень, підвела висновки та підготувала матеріали до публікації).

36. Рикало Н. А. Морфологічні особливості фетальних вірусних гепатитів з фульмінантним перебігом / Н. А. Рикало, І. І. Незгода // VIII з'їзду інфекціоністів : 6-8 жовтня 2010 р. : матеріали з'їзду. – Тернопіль : ТДМУ «Укрмедкнига», 2010. – С. 93–94. (Здобувач провела огляд літератури, брала участь у проведенні досліджень, сформулювала висновки).

37. Мороз В. М. Вплив гепатопротекторів на рівень фрагментації ДНК гепатоцитів при хронічному токсичному гепатиті у статевонезрілих щурів / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Клінічна та експериментальна фармакологія метаболічних коректорів, органопротекція, доказова медицина : VI Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю з клінічної фармакології, присвячена 90-річчю професора О. О. Столярчука : тези доп. – Вінниця : ВНМУ, 2010. – С. 297–300. (Здобувачем особисто проведено експериментальні дослідження, збір первинного матеріалу, узагальнення результатів, сформульовано висновки).

38. Мороз В. М. Вікові особливості цитокінового профілю у дітей, хворих на хронічні вірусні гепатити В і С / В. М. Мороз, Н. А. Рикало // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2010. – № 2 (9). – С. 137–138. (Здобувач провела огляд літератури, збір матеріалу та дослідження, сформулювала висновки).

39. Рикало Н. А. Оптимізація антиоксидантної терапії хронічної патології печінки в експерименті / Н. А. Рикало, О. І. Штатяко, А. В. Мельник // IX читання ім. В. В. Підвисоцького, 27-28 травня 2010 р. : матеріали конф. – Одеса: Одеський медичний університет, 2010. – С. 66–67. (Здобувачем проаналізовано літературу, проведено самостійно експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, сформульовано висновки).

40. Nezgod I. Pathogenetical characteristic of the clinical and biochemical indexes at chronic viral hepatitis in children / I. Nezgod, N. Rikalo // 28<sup>th</sup> Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, Nice, France, May 4-8, 2010 : poster abstracts. – Nice, 2010. – P. 921. (Здобувачем

здійснено огляд літератури, участь у зборі матеріалу та проведенні досліджень, сформульовано висновки).

41. Рикало Н. А. Спосіб моделювання хронічного токсичного гепатиту та цирозу печінки у нестатевозрілих щурів / Н. А. Рикало, І. І. Незгода, В. А. Рауцкіс // Реєстр галузевих нововведень. – 2010. – вип. 32-33 (реєстр № 211/32/10). – С. 119. (Ідея дисертанта, особисто проведені експериментальні дослідження).

### АНОТАЦІЯ

**Рикало Н.А. Патогенез хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей: вікові особливості, патогенетична терапія (експериментально-клінічне дослідження). – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Державний вищий навчальний заклад “Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського” МОЗ України, Тернопіль, 2011.

Дисертація присвячена вивченню вікових особливостей патогенезу хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей та розробці нових підходів до їх патогенетичного лікування. Уперше вивчено зміни цитокінового профілю та імунного статусу в дітей різного віку з хронічними вірусними гепатитами В і С, встановлено механізми хронізації та предиктори несприятливого перебігу. Уперше розкрито патогенез формування первиннохронічних вірусних гепатитів В і С при перинатальному інфікуванні, а також вікові морфологічні особливості при летальних наслідках. Уперше цитофлуориметрично досліджено ядерні механізми ушкодження та регенерації гепатоцитів у статевонезрілих щурів при хронічному токсичному гепатиті, а також вплив гепатопротекторів на вказані процеси. Визначено найбільш ефективні гепатопротектори, які володіють регенераційною та антиапоптичною дією. Розроблено нові патогенетично обґрунтовані підходи до лікування хронічних вірусних гепатитів В і С у дітей з урахуванням віку, спрямовані на регуляцію репаративної регенерації ушкодженої печінки.

**Ключові слова:** патогенез, хронічні вірусні гепатити В і С, діти, вікові особливості, патогенетична терапія.

### АННОТАЦИЯ

**Рыкало Н.А. Патогенез хронических вирусных гепатитов В и С у детей: возрастные особенности, патогенетическая терапия (экспериментально-клиническое исследование). – Рукопись.**

Диссертация на соискание научной степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.04 – патологическая физиология. – Государственное высшее учебное заведение “Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского” МЗ Украины, Тер-



нополь, 2011.

Диссертация посвящена изучению возрастных особенностей патогенеза хронических вирусных гепатитов В и С у детей и разработке новых подходов к патогенетическому лечению данной патологии. Впервые доказана детерминированность патогенетических особенностей клинико-лабораторных показателей при хронических вирусных гепатитах у детей в зависимости от возраста, фазы репликации вируса и активности воспалительного процесса. Впервые у детей в возрастном аспекте проведено исследование цитокинового профиля и иммунного статуса при хронических вирусных гепатитах В и С, на основе чего раскрыты возрастные особенности патогенеза и установлены предикторы неблагоприятного течения данной патологии у детей первого года жизни и подростков. Так, у детей первого года жизни констатировано уменьшение уровня IGF-1, ИФН- $\alpha$ , ИФН- $\gamma$  и увеличение – TGF- $\beta$ 1, IL-10, что способствует первичной хронизации вирусных гепатитов В и С, а увеличение уровня IGF-1 и пептидно-связанного гидроксипролина с возрастом имеет важную роль в развитии и прогрессировании фиброза печени и объясняет быстрые темпы формирования цирроза печени у подростков. Уточнены возрастные аспекты патогенеза хронических вирусных гепатитов В и С у детей разного возраста на основе комплексного исследования корреляционных взаимосвязей и сопоставления клинических, биохимических и морфологических данных, показателей цитокинового профиля, гуморального и клеточного иммунитета.

Установленные возрастные особенности печеночных и внепеченочных гистологических изменений органов и тканей в организме детей при летальных исходах вирусных гепатитов углубили понимание механизмов развития данной патологии и позволили впервые интегрировано оценить глубину и опасность осложнений. У детей первого года жизни, как правило на фоне акцидентальных инволюции тимуса 3-5 степени, развивается гигантоклеточный вирусный гепатит В и С, характерными особенностями которого является фульминантное течение, что приводит к острой печеночной и полиорганной недостаточности. Для подростков характерно формирование цирроза печени и гепатоцеллюлярной карциномы, что влечет развитие хронической печеночной недостаточности, типичным проявлением которой является геморрагический синдром.

Впервые в эксперименте исследованы ядерные механизмы повреждения и регенерации гепатоцитов на основе изменений фаз клеточного цикла, ploидности набора и фрагментации ядерной ДНК у неполовозрелых крыс при хроническом токсическом гепатите, а также изучено влияние гепатопротекторов на указанные процессы. Определены наиболее эффективные препараты, которые обладают регенерационной и антиапоптотической фармакологической активностью.

Патогенетически обоснована целесообразность выбора и применения гепатопротекторов разных групп при хронических вирусных гепатитах В и С у детей в зависимости от доминирующих клинико-биохимических синдромов и возраста. Разработаны и предложены новые, патогенетически обоснованные и экспериментально доказанные подходы к лечению хронических вирус-

ных гепатитов В и С у детей с учетом возраста, направленные на регуляцию репаративной регенерации поврежденной печени.

Впервые цитофлуориметрически установлен новый фармакологический эффект у бициклола, антраля и тиотриазолина, который заключается в усилении синтеза ядерной ДНК гепатоцитов, что значительно увеличивает их потенциал к пролиферации. Впервые установлено, что уменьшение фрагментации ядерной ДНК происходит под влиянием артишока и галстены. Доказан значительный антифибротический эффект у бициклола и антраля.

**Ключевые слова:** патогенез, хронические вирусные гепатиты В и С, дети, возрастные особенности, патогенетическая терапия.

#### ANNOTATION

**Rikalo N.A. Pathogenesis of chronic viral hepatitis B and C in children: age-old peculiarities, pathogenetical therapy. – Manuscript.**

The dissertation on competition of a scientific degree of the doctor of medical sciences on a speciality 14.03.04 – pathological physiology. – State Higher Educational Establishment „I.Ya. Horbachevsky Ternopil State Medical University” of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, 2011.

Dissertation is devoted to the study of age-old peculiarities of pathogenesis of chronic viral hepatitis B and C in children and development new approaches to pathogenetical treatment. First there are the studied changes of cytokine profile and immune status in children of different age with chronic viral hepatitis B and C, the mechanism of chronisation and predictors of unfavorable course were define. First there is discovering pathogenesis of forming of primary chronic viral hepatitis B and C in perinatal infection and age-old morphological features of lethal outcome. Cytofluorometry first investigated the mechanisms of nuclear damage and regeneration of hepatocytes in impubertal rats with chronic toxic hepatitis and the effect hepatoprotectors on these processes. The most effective hepatoprotectors, possessing regenerative and antiapoptotic activity determined. A new pathogenic ground approaches to the treatment of chronic viral hepatitis B and C in children according to age, aimed on the regulation of reparative regeneration of damaged liver.

**Key words:** pathogenesis, chronic viral hepatitis B and C, children, age fitches, pathogenetical therapy.

**Висловлюємо подяку** д. мед. н., професору, завідувачу кафедри дитячих інфекційних хвороб Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова І. І. Незгоді за надану допомогу у проведенні клінічних досліджень.

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

А/Г – альбумін/глобуліновий індекс	НСV – вірус гепатиту С
$\alpha$ -ФПН – $\alpha$ -фетопротеїн	ПБ – прямий білірубін
АЛТ – аланінамінотрансфераза	ПЗГОП – пептидно-зв’язаний гідроксипролін
АСТ – аспаратамінотрансфераза	ПН – печінкова недостатність
ВГ – вірусний гепатит	ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
ВГОП – вільний гідроксипролін	ПХВГ – первиннохронічний вірусний гепатит
ГГТП – $\gamma$ -глутамілтранспептидаза	СТ – сполучна тканина
ГС – гепатопривний синдром	Th – Т-хелпери
ЗБ – загальний білірубін	TGF- $\beta$ 1 – трансформуючий фактор росту- $\beta$ 1
IL – інтерлейкін	TNF- $\alpha$ – фактор некрозу пухлин- $\alpha$
IGF-1 – інсуліноподібний фактор росту-1	ТП – тимолова проба
ІРІ – імунорегуляторний індекс	ФІ – фаза інтеграції
ІФА – імуноферментний аналіз	ФР – фаза реплікації
ІФН – інтерферон	ХВГ – хронічний вірусний гепатит
КДР – коефіцієнт Де Рітіса	ХС – холестатичний синдром
КЦ – клітинний цикл	ХТГ – хронічний токсичний гепатит
ЛС – латентна стадія	ЦП – цироз печінки
ЛФ – лужна фосфатаза	ЦС – цитолітичний синдром
МДА – малоновий диальдегід	
МЗС – мезенхімально-запальний синдром	
НВV – вірус гепатиту В	