На правах рукописи

СУРКОВ АНДРЕЙ НИКОЛАЕВИЧ

ГЛИКОГЕНОВАЯ БОЛЕЗНЬ У ДЕТЕЙ: НОВЫЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА, СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ДИАГНОСТИКЕ, ОПТИМИЗАЦИЯ ВЕДЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ

14.01.08 – Педиатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Москва – 2019

Работа выполнена в федеральном государственном автономном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант: академик РАН, профессор, доктор медицинских наук
Баранов Александр Александрович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, заведующая по клинической работе отдела неонатологии и педиатрии федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Дегтярева Анна Владимировна

доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела «Клиника гастроэнтерологии и нарушений обмена веществ», заведующая отделением гастроэнтерологии (и нарушений обмена веществ) Института педиатрии Университетской клиники федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Приволжский исследовательский медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации
Лаврова Алла Евгеньевна

доктор медицинских наук, заведующая лабораторией наследственных болезней обмена веществ федерального государственного бюджетного научного учреждения «Медико-генетический научный центр»
Захарова Екатерина Юрьевна

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи

Защита диссертации состоится «__ __» _____2019 г. в ____часов
на заседании диссертационного совета Д 001.023.01 при ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России по адресу 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр. 1.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России по адресу 119991, г. Москва, Ломоносовский проспект, 2, стр. 1 и на сайте http://www.nczd.ru/
Автореферат разослан «__ __» _____2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор РАН **Винярская Ирина Валериевна**

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Гликогеновая болезнь (ГБ, син.: гликогенозы, болезни накопления гликогена, МКБ10 – Е 74.0) – общее название группы наследственных заболеваний, связанных с нарушением углеводного обмена, а именно с метаболизмом гликогена, что приводит к нарушению его синтеза или распада и сопровождается избыточным накоплением этого полисахарида в основном в печени и/или мышцах (Hicks J., 2011; Burda P., 2015; Derks T.G., 2015). В зависимости от того или иного энзимного дефекта, а также от типа поражаемой ткани в настоящее время выделяют 15 типов ГБ (Mönch E., 2012). В мировой медицине ГБ известна уже в течение 97 лет (Parnas L.K., 1922). Первая отечественная публикация, в которой описано клиническое наблюдение пациента с этим заболеванием, появилась 73 года назад (Полевицкая Н.К., 1946); к началу 1970-х гг. сообщено о 20 случаях ГБ в нашей стране (Орехов К.В., 1970). Впоследствии было выполнено лишь несколько фундаментальных отечественных исследований, посвященных изучению этой патологии (Чибисов И.В., 1975; Розенфельд Е.Л., 1989; Уварова Е.В., 2005). По различным оценкам общая частота заболеваемости ГБ в мире составляет 1 случай на 20 000-43 000 живорожденных детей (Özen H., 2007). До настоящего времени численность пациентов с ГБ в Российской Федерации (РФ) не известна, т.к. отсутствует единый регистр таких больных, который бы позволил вести учет заболеваемости, мониторинг состояния пациентов, своевременно корректировать терапию. Несмотря на большой опыт в плане клинической, биохимической (Rake J.P., 2002; Уварова Е.В., 2004; Краснопольская К.Д., 2005), ультразвуковой (Дворяковская Г.М., 2002) и морфологической (Попович Ю.Г., 1988; Jevon G.P., 1994; Göğüş S., 2002) диагностики ГБ у детей, окончательная верификация заболевания и его типов возможна лишь посредством молекулярно-генетического исследования (Ko J.S., 2014; Okubo M., 2015; Vega A.I., 2016), однако полное секвенирование многочисленных генов по отдельности требует больших временных и материальных затрат. Разработанный ранее алгоритм обследования детей с подозрением на ГБ (Уварова Е.В., 2004; Волков А.И., 2008) включал обязательное проведение гликемических и лактатемических кривых на фоне нагрузки глюкозой, проб с адреналином, глюкагоном и галактозой, что представляло опасность для состояния пациента при ошибочном предварительном диагнозе, т.к. могло сопровождаться агликемией, выраженным лактат-ацидозом. В связи с чем вопрос о «золотом стандарте» диагностики ГБ остается открытым.

В последние годы активно обсуждается вопрос о наличии митохондриальной дисфункции при различных видах патологии: нейродегенеративных заболеваниях (Bhat A.H., 2015), метаболическом синдроме (Hirschey M.D., 2011), сахарном диабете (Lozano L., 2014), неалкогольной жировой болезни печени (Ibdah J.A., 2005; Li Z., 2008; Wei Y., 2008). Поскольку при ГБ хроническая гипогликемия (Зайчик А.Ш., 2000) может приводить к тяжелым нарушениям обмена веществ: лактат-ацидозу (Jones J.G., 2009), гиперлипидемии (Bandsma R.H., 2009), гиперурикемии (Северин Е.С., 2004; Sever S., 2012), появилось мнение о наличии дисфункции митохондрий и при ГБ (Farah B.L., 2017), однако отечественные исследования по этому вопросу отсутствуют. Открыт вопрос о патогенетических механизмах повреждения гепатоцитов при данном заболевании. В некоторых научных работах показана определенная роль апоптоза, как основополагающего пути программируемой клеточной гибели (Sun B., 2009; Estaquier J., 2012). Трудности выполнения биопсии у детей с ГБ очевидны, но до сих пор проблема неинвазивной диагностики стадии фиброза печени (ФП) остается нерешенной. Тяжелое течение хронических заболеваний, несомненно, приводит к инвалидизации пациентов (Баранов А.А., 2012). Дети с ГБ имеют специфический внешний вид, значительные функциональные нарушения и ограничения жизнедеятельности. С возрастом повышается риск развития осложнений, таких как цирроз (Baertling F., 2013), аденомы печени (Calderaro J., 2013; Oterdoom L.H., 2015; Iguchi T., 2016), подагра (Sever S., 2012; Zhang B., 2016), остеопороз (Minarich L.A., 2012; Melis D., 2016), воспалительные заболевания кишечника (Davis M.K., 2008; Volz M.S., 2015; Lawrence N.T., 2017), тяжело протекающие на фоне нейтропении бактериальные инфекции (Wendel U., 1993; Chou J.Y., 2010; Jun H.S., 2014). Все это сказывается на качестве жизни таких пациентов, как было показано в единичных зарубежных работах (Storch E., 2008; Sechi A., 2014). Публикации, посвященные исследованию качества жизни (КЖ) детей с ГБ, в нашей стране отсутствуют. Равно как и нет сведений об особенностях психологического статуса таких больных, отношении детей с ГБ и их родителей к заболеванию. Соответственно, отсутствует модель их психолого-педагогической реабилитации.

Степень разработанности темы исследования

За рубежом были разработаны клинические рекомендации по ведению пациентов с ГБ I типа (Wightman J.M., 1993; Rake J.P., 2002; Kishnani P.S., 2014) и III типа (Kishnani P.S., 2010; Sentner C.P., 2016), однако они не адаптированы для российской популяции больных. Отсутствие современного опубликованного практического руководства для врачей приводит к гиподиагностике болезни в реальной клинической практике и ошибкам в тактике ведения пациентов. Отсутствуют также пособия для родителей детей с ГБ, поэтому родственники больного не имеют возможности выбрать верные стратегии поведения в тяжелой жизненной ситуации. По-прежнему не разработан алгоритм маршрутизации пациентов с ГБ на разных этапах оказания медицинской помощи.

В настоящем исследовании представлена клинико-эпидемиологическая, патогенетическая и молекулярно-генетическая характеристика выборки детей с печеночными формами ГБ, показана динамика лабораторных показателей на фоне длительной терапии, особенности морфологических изменений в печени, определены возможности новых методов визуализации в диагностике ГБ, освещены вопросы, касающиеся качества жизни и психолого-педагогической реабилитации детей с ГБ.

Цель исследования

Усовершенствование системы оказания медицинской и психолого-педагогической помощи детям с печеночными формами гликогеновой болезни на основании изучения патогенетических, клинических и психосоциальных особенностей, а также возможностей применения высокотехнологичных диагностических методов.

Задачи исследования

1. Создать электронную межрегиональную базу данных (регистр) для совершенствования системы учета и мониторинга за состоянием здоровья пациентов детского возраста с гликогеновой болезнью и проанализировать структуру когорты детей с данной патологией в Российской Федерации.
2. Изучить механизмы программируемой гибели клеток, фиброзирования печени и костного ремоделирования у детей с гликогеновой болезнью с помощью комплекса биомаркеров.
3. Изучить молекулярно-генетические особенности пациентов с печеночными формами гликогеновой болезни с помощью массивного параллельного секвенирования нового поколения, определить диагностическую ценность и возможности клинического применения данного метода.
4. Исследовать структурные и функциональные нарушения печени при гликогеновой болезни у детей с применением визуализационных техник (в сравнении с другими поражениями печени) и специально разработанной оценочной балльной шкалы, а также морфологического исследования гепатобиоптатов.
5. Оценить состояние углеводного обмена методом непрерывного мониторирования гликемии у детей с гликогеновой болезнью.
6. Определить выраженность митохондриальной дисфункции методом количественного цитохимического анализа активности внутриклеточных дегидрогеназ лимфоцитов у детей с гликогеновой болезнью.
7. Оценить эффективность длительной терапии у детей с гликогеновой болезнью по клиническим и биохимическим критериям.
8. Оценить качество жизни (в сравнении с другими хроническими заболеваниями), изучить социальную ситуацию и психологические особенности детей с печеночными формами гликогеновой болезни, а также приверженность их родителей лечению для определения направлений психолого-педагогического сопровождения.
9. Разработать комплексный алгоритм ведения детей с печеночными формами гликогеновой болезни на разных этапах оказания медицинской помощи в Российской Федерации, включая систему социализации пациентов и членов их семей и улучшение осведомленности о заболевании медицинского сообщества.

Научная новизна

Впервые в Российской Федерации:

- создана электронная межрегиональная база данных (регистр) пациентов детского возраста с гликогеновой болезнью;
- изучены эпидемиологические аспекты гликогеновой болезни с уточнением численности пациентов детского возраста;
- проведена оценка степени нарушения функции печени у детей с гликогеновой болезнью с помощью специально разработанной балльной шкалы;
- доказано наличие митохондриальной дисфункции и показаны особенности метаболизма популяций лимфоцитов у детей с гликогеновой болезнью;
- дана молекулярно-генетическая характеристика детей с гликогеновой болезнью;
- изучены механизмы программируемой гибели клеток, особенности фиброгенеза печени и костного ремоделирования у детей с гликогеновой болезнью с помощью определения специальных биомаркеров;
- определены возможности неинвазивной диагностики стадий фиброза печени у детей с гликогеновой болезнью с помощью методик транзиентной эластографии и Acoustic Structure Quantification;
- выявлены особенности визуализации печени и почек у детей с гликогеновой болезнью по данным компьютерной томографии;
- проведена оценка нарушений углеводного обмена у детей с гликогеновой болезнью по данным системы непрерывного мониторинга уровня гликемии;
- проведена оценка качества жизни детей с гликогеновой болезнью;
- выявлены особенности отношения к болезни и процессу лечения детей с гликогеновой болезнью и их родителей.

Теоретическая и практическая значимость

В результате настоящего исследования определены эпидемиологические характеристики исследованной выборки детей с гликогеновой болезнью в Российской Федерации. С помощью разработанного метода секвенирования нового поколения определен спектр мутаций генов, ответственных за развитие различных типов гликогеновой болезни. Показана диагностическая и прогностическая ценность таких методов, как транзиентная эластография, количественная ультразвуковая оценка структуры печени методикой Acoustic Structure Quantification (ASQ), компьютерная томография органов брюшной полости и почек, непрерывное мониторирование гликемии, исследование активности дегидрогеназ лимфоцитов в оценке выраженности поражения внутренних органов и нарушений метаболизма при гликогеновой болезни. Установлена степень тяжести структурных и функциональных нарушений печени с помощью специально разработанных балльных шкал. Показана эффективность длительной терапии у детей с печеночными формами гликогеновой болезни. Создан регистр пациентов с гликогеновой болезнью детского возраста. Издано учебно-методическое пособие для врачей по актуальным вопросам этиологии, патогенеза, клинико-лабораторных и инструментальных критериев диагностики и лечения гликогеновой болезни. Разработана модель психолого-педагогической помощи родителям детей с гликогеновой болезнью с учетом факторов индивидуально-личностного и социального характера, влияющих на социально-психологическую адаптацию родителей. Инициировано создание Межрегиональной благотворительной общественной организации «Союз семей пациентов с гликогеновой болезнью»; опубликованы медико-психолого-педагогические рекомендации для родителей детей с гликогеновой болезнью; разработан электронный ресурс (сайт). Разработана и валидирована технология массивного параллельного секвенирования с целью молекулярно-генетической диагностики различных типов ГБ. Показана высокая чувствительность и специфичность массивного параллельного секвенирования для поиска однонуклеотидных замен в кодирующих и прилегающих интронных областях, а также небольших делеций и дупликаций генов, мутации в которых приводят к развитию ГБ. Массивное параллельное секвенирование представляется необходимым для быстрой верификации ГБ, своевременного назначения адекватного лечения, профилактики осложнений, что позволит улучшить КЖ пациентов. Практическая значимость состоит в разработке алгоритма ведения пациентов с печеночными формами ГБ у детей на разных этапах оказания медицинской помощи с определением оптимальной последовательности и кратности контрольных обследований.

Внедрение результатов работы в практику

Основные результаты, научные разработки и практические рекомендации, изложенные в диссертации, внедрены в научную и клиническую практику гастроэнтерологического отделения с гепатологической группой, отделения стационарозамещающих технологий и консультативно-диагностического центра Научно-исследовательского института (НИИ) Педиатрии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации (далее – ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России). Материалы работы внедрены в педагогический процесс кафедры факультетской педиатрии педиатрического факультета Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования (ГБОУ ВПО) «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации и кафедры педиатрии и детской ревматологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Результаты исследования представлены в «Федеральных клинических рекомендациях по оказанию медицинской помощи детям с гликогеновой болезнью», согласованных с Научным советом Министерства здравоохранения Российской Федерации за № КР371 и размещенных в Рубрикаторе клинических рекомендаций Минздрава России (cr.rosminzdrav.ru, ID: КР371, 2016 г.).

Методология и методы исследования

При выполнении работы был осуществлен тщательный анализ современных отечественных и зарубежных данных, касающихся вопросов патогенеза, проблем верификации и терапии гликогеновой болезни у детей. Особое внимание уделяли оценке клинической, лабораторной, инструментальной, морфологической и молекулярно-генетической диагностики у данного контингента больных, а также качества их жизни и психологического статуса. Определяли эффективность длительной терапии. В диссертационном исследовании использовали данные обследования 600 детей, из которых 134 пациента страдали гликогеновой болезнью. Оценку медицинской документации проводили за период 10 лет, применяя методики описания и учета клинико-анамнестических, лабораторных и инструментально определяемых изменений, результаты анкетирования пациентов и их родителей. Анализ полученных данных проводили в соответствии с современными методами, включающими анализ вида распределений, описательные статистики, оценку достоверности, корреляционный анализ, вычисление операционных характеристик диагностического теста.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанная электронная система учета пациентов (регистр) является информативным инструментом, позволяющим анализировать социальные, эпидемиологические, анамнестические, клинические, лабораторные и инструментальные характеристики детей с гликогеновой болезнью, выявлять особенности течения заболевания на системном, органном и тканевом уровнях, а также оценивать эффективность длительной терапии.
2. Определение комплекса биомаркеров в крови позволило выявить особенности механизмов программируемой гибели клеток, фиброзирования и костного ремоделирования у детей с гликогеновой болезнью. Доказано наличие митохондриальной дисфункции, выраженность которой зависит от тяжести течения заболевания.
3. Разработанная методика массивного параллельного секвенирования нового поколения позволяет осуществлять раннее выявление гликогеновой болезни у детей, что имеет решающее значение для быстрой верификации диагноза, своевременного назначения адекватного лечения и профилактики осложнений.
4. Методы неинвазивной диагностики стадий фиброза (транзиентная эластография и Acoustic Structure Quantification) в сочетании с разработанной балльной шкалой позволяют оценить структурно-функциональное состояние печени у детей с гликогеновой болезнью.
5. Метод 72-часового непрерывного мониторинга глюкозы в крови информативен для оценки состояния углеводного обмена у детей с гликогеновой болезнью и может использоваться для разработки персонифицированного подхода к терапии сырым кукурузным крахмалом.
6. Совместные усилия родителей, специалистов и общества должны быть направлены на создание оптимальных условий для сохранения жизни и укрепления здоровья

ребенка с гликогеновой болезнью, развития его физических, психических и интеллектуальных возможностей, социальной адаптации, повышение качества жизни. Разработанный алгоритм комплексной медико-психолого-педагогической помощи позволяет оптимизировать ведение детей с гликогеновой болезнью в амбулаторных и стационарных условиях.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность результатов диссертационного исследования подтверждается достаточным количеством наблюдений, современными методами исследования, которые соответствуют поставленным в работе целям и задачам. Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертации, подкреплены убедительными фактическими данными, наглядно представленными в приведенных таблицах и рисунках. Подготовка, анализ и интерпретация полученных результатов проведены с использованием современных методов обработки информации и статистического анализа.

Основные результаты работы доложены и обсуждены на XVI, XIV, XVI, XVII, XX Конгрессах педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (Москва, 2009, 2010, 2012, 2014, 2018 гг.); 12-14-м, 16-м, 19-м Международных Славяно-Балтийских научных форумах «Санкт-Петербург – Гастро» (Санкт-Петербург, 2010-2012, 2014, 2017 гг.); XVI Конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» (Москва, 2009 г.); Научно-практической конференции «Актуальные проблемы гастроэнтерологии (Василенковские чтения)» (Москва, 2009 г.); VI Международной конференции «Молекулярная медицина и биобезопасность» (Москва, 2009 г.); Научно-практической конференции «Совершенствование педиатрической практики. От простого к сложному» (Москва, 2009 г.); 15-й Российской Гастроэнтерологической неделе (Москва, 2009 г.); 4-м Национальном конгрессе терапевтов (Москва, 2009 г.); X Международном конгрессе «Здоровье и образование в XXI веке» (Москва, 2009 г.); III Международном молодежном медицинском конгрессе «Санкт-Петербургские научные чтения-2009» (Санкт-Петербург, 2009 г.); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы в терапевтической практике» с международным участием (Казань, 2010 г.); 15-й Российской конференции «Гепатология сегодня» (Москва, 2010 г.); IV Съезде Научного общества специалистов клинической лабораторной диагностики России и Научно-практической конференции «Лабораторная наука – практике: первое десятилетие XXI века» (Москва, 2010 г.); Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы морфологической диагностики заболеваний» (Витебск, Беларусь, 2010 г.); XVII Российском конгрессе «Гепатология сегодня» (Москва, 2012 г.); 12th International Congress of inborn errors of metabolism (Barcelona, Spain, 2013 г.); International GSD Conference (Heidelberg, Germany, 2013 г); VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика-2014» (Москва, 2014 г.); 23rd Annual Conference of APASL (Brisbane, Australia, 2014 г.); Невском радиологическом форуме-2014 (Санкт-Петербург, 2014 г.); Итоговой Всероссийской студенческой научной конференции с международным участием «Медицинская весна» (Москва, 2014 г.); 47th Annual Meeting of the ESPGHAN (Jerusalem, Israel, 2014 г.); XIV, XVII Съездах Научного общества гастроэнтерологов России (Санкт-Петербург, 2014, 2017 гг.); European Human Genetics Conference 2014 (Milan, Italy, 2014 г.); 9th International conference on mitochondrial research EUROMIT (Tampere, Finland, 2014 г.); FEBS EMBO 2014 Conference (Paris, France, 2014 г.); Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism (Innsbruck, Austria, 2014 г.); Международной научно-практической конференции молодых ученых России и Китая «Актуальные вопросы инновации и развития педиатрической службы в РФ» (Москва, 2014 г.); X Международной (XIX Всероссийской) Пироговской научной медицинской конференции студентов и молодых ученых (Москва, 2015 г.); 48th Annual Meeting of the ESPGHAN (Amsterdam, Netherlands, 2015 г.); XV Всероссийском научном форуме с международным участием им. акад. В.И. Иоффе «Дни иммунологии в Санкт-Петербурге» (Санкт-Петербург, 2015 г.); 11th World Congress of the International Society for Adaptive Medicine (Yonago, Japan, 2015 г.); Пермском научном форуме (Пермь, 2015 г.), 40th FEBS Congress “The Biochemical Basis of Life” (Berlin, Germany, 2015 г.); 6th World Congress on Targeting Mitochondria (Berlin, Germany, 2015 г.); XXI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Качество лабораторных исследований – условие безопасности пациентов» (Москва, 2016 г.); 26th International Congress of Pediatrics (Vancouver, Canada, 2016 г.); II Российском конгрессе лабораторной медицины

(Москва, 2016 г.); Annual Symposium of the Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism "Metabolic pathways, cellular networks and beyond" (Rome, Italy, 2016 г.); 13th Congress of Inborn Errors of Metabolism – ICIEM2017 (Rio de Janeiro, Brazil, 2017 г.); Научно-практической конференции «Фармакотерапия и диетология в педиатрии» (Грозный, 2017 г.); Юбилейном XXV Конгрессе детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» (Москва, 2018 г.); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Фармакотерапия и диетотерапия в педиатрической практике (Пенза, 2018 г.); Областной научно-практической конференции «Актуальные вопросы детской гастроэнтерологии» (Екатеринбург, 2018); Региональных образовательных мероприятиях под эгидой Союза педиатров России «Школа педиатра: «Орфанные заболевания» (Тула, 2018 г., Сургут 2018 г.).

Публикации

По теме диссертации всего опубликовано 103 научных работы, в том числе: в изданиях, рекомендованных ВАК РФ для публикаций основных научных результатов диссертационных исследований – 34 (из них статей в журналах, индексируемых в Scopus – 6); патентов на изобретения – 3; свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ – 1; монографий – 4, учебное пособие, одобренное Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию ВУЗов России – 1; публикаций в других изданиях – 60 (из них тезисов, опубликованных за рубежом – 16).

Личный вклад автора

Автор принимал непосредственное участие в исследовательской работе, как на этапе постановки цели и задач, разработки методических подходов и их выполнения, ведения пациентов в стационаре, так и при обработке медицинской документации, формировании базы данных, проведении исследований, статистической обработке, анализе и обобщении полученных результатов, на основании которых были сформулированы основные положения диссертационного исследования, выводы и практические рекомендации, а также опубликованы научные работы.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на русском языке в объеме 412 страниц машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы с описанием материалов и методов исследования, 5 глав собственных наблюдений, главы обсуждения результатов, выводов и практических рекомендаций, а также 4 приложений. Работа иллюстрирована 71 таблицей и 111 рисунками. Список использованной литературы включает 552 источника: 153 отечественных и 399 зарубежных.

Этическая экспертиза

Исследования, соответствующие цели и задачам диссертационной работы, были одобрены на совместном заседании ученого совета и этического комитета ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, протокол № 1 от 29.01.2016 г.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объем и методы исследования

Дизайн исследования представлен на Рисунке 1.

В исследовании проанализированы результаты клинического, лабораторно-инструментального, морфологического и молекулярно-генетического обследования детей, направленных из различных округов РФ и зарубежья на госпитализацию в гастроэнтерологическое отделение с гепатологической группой (заведующий – к.м.н. А.Н. Сурков) и отделение стационарозамещающих технологий (заведующая – к.м.н. А.А. Алексеева) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России (директор – д.м.н., проф. А.П. Фисенко, научный руководитель – академик РАН А.А. Баранов) в период с января 2006 г. по январь 2016 г. Данные были получены в ходе изучения имеющихся выписных эпикризов из медицинских организаций, находящихся по месту жительства пациентов, результатов первичного и динамического обследования больных в указанных отделениях ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России.

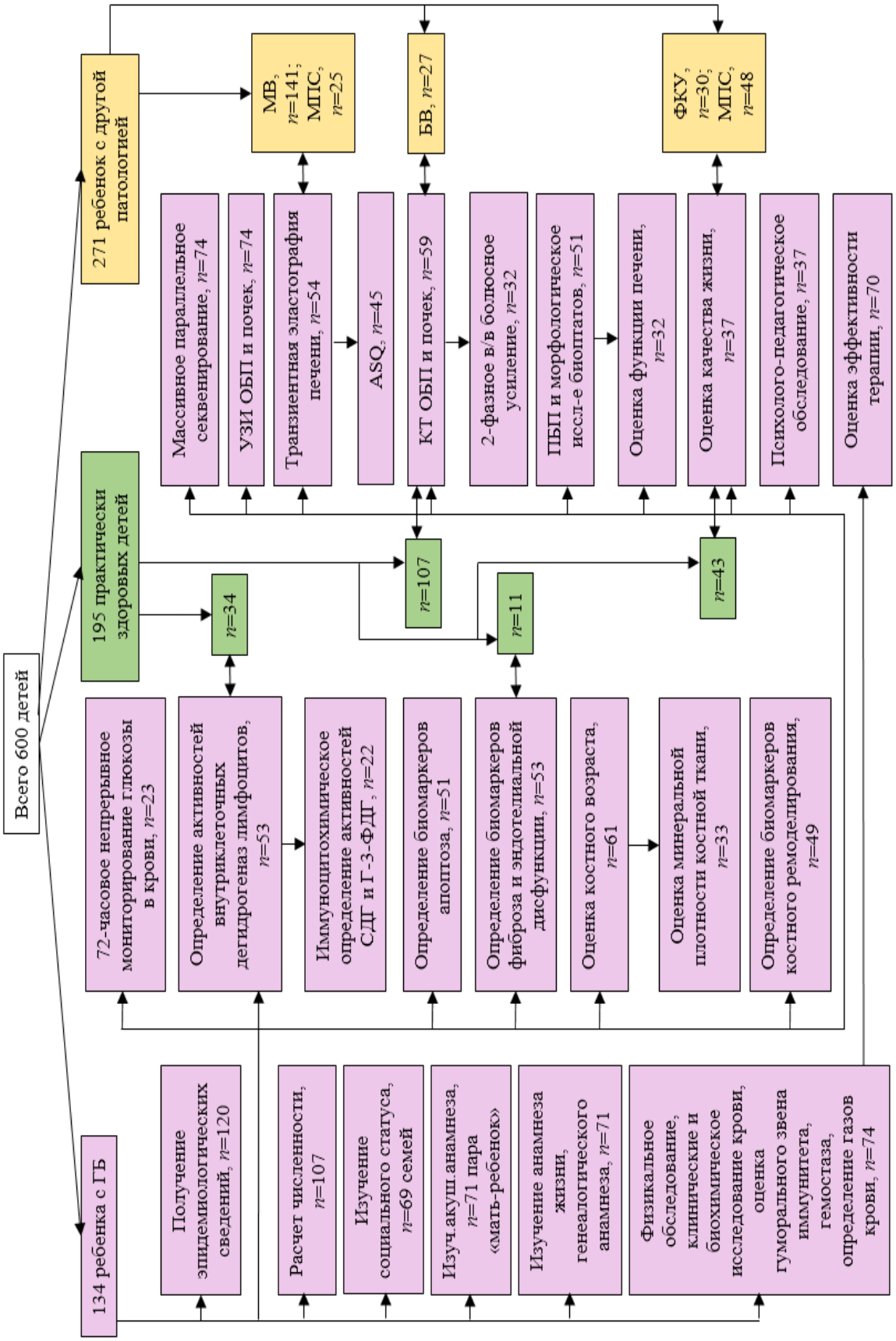


Рисунок 1 – Дизайн исследования

Общее число обследованных детей – 600, из них пациентов с ГБ было 134 ребенка. Верификация диагноза у 60 детей производилась на основании выявления характерных жалоб, клинических признаков и изменений лабораторно-инструментальных показателей, а у 74 пациентов – с помощью молекулярно-генетического исследования. В качестве групп сравнения на отдельных этапах работы было включено 466 пациентов: 195 практически здоровых детей и 271 ребенок к редкими генетическими болезнями – 141 с муковисцидозом (МВ), 73 – с мукополисахаридозами (МПС), 30 – с фенилкетонурией (ФКУ), 27 – с болезнью Вильсона (БВ).

Эпидемиологические данные о ГБ в РФ были получены на основании анализа мест проживания пациентов, выкопированных из историй болезней пациентов, поступавших в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России за период с января 2006 г. по январь 2016 г.

Выполнен **расчет численности** ГБ у детей в РФ. Однако принят во внимание тот факт, что учитывались исключительно дети с ГБ, проходившие обследование только в гастроэнтерологическом отделении с гепатологической группой ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, а не общее число детей с ГБ в РФ; а также то, что в РФ отсутствует неонатальный скрининг на данную патологию и в это число не включены пациенты старше 18 лет. Поэтому полученный показатель отражает не истинную распространенность заболевания, а в большей мере ориентировочную численность детей, наблюдающихся с диагнозом «ГБ» в различных федеральных округах и в РФ в целом.

При расчете показателя численности использовали данные Федеральной службы государственной статистики РФ о среднегодовой численности детского населения (в возрасте до 17 лет 11 мес 29 дней) на момент 1 января 2016 г. в каждом федеральном округе РФ. При расчете показателя были исключены дети, которым на момент 1 января 2016 г. уже исполнилось 18 лет. Формула расчета показателя представлена ниже:

$$Y = n * 10^5 / N, \text{ где}$$

Y – показатель численности, рассчитанный на 100 000 детского населения;

n – количество наблюдаемых детей;

N – среднегодовая численность детского населения.

При анализе **социального статуса** семей, имеющих детей с ГБ, учитывали полноту семьи, профессиональную принадлежность отцов и матерей.

Тщательно изучен **акушерский анамнез** матерей (число беременностей и родов, наличие медицинских абортов, выкидышей, замерших беременностей), **генеалогический анамнез** (наличие родственников с ГБ, а также страдающих неуточненным заболеванием печени или нарушением углеводного обмена; смертей детей в периоде новорожденности), **анамнез жизни пациентов** (оценка по шкале APGAR, длина и масса тела при рождении, состояние после рождения), **анамнез болезни** (возраст при дебюте, характер начальных проявлений, жалобы, изменения лабораторно-инструментальных показателей, все виды и сроки проводимого лечения). Проанализированы «ошибочные» диагнозы, которые предполагались до верификации ГБ. Все полученные данные фиксировали в историях болезни, затем дублировали в расчетных таблицах, после чего проводили их анализ. Обследована 71 пара «мать-ребенок».

Для изучения особенностей течения заболевания осуществляли тщательное **физикальное обследование** пациентов при поступлении: оценка состояния кожных покровов и видимых слизистых оболочек, регионарных лимфатических узлов, костно-суставной системы, органов дыхания, кровообращения, желудочно-кишечного тракта и гепато-билиарной системы, нервной и эндокринной системы.

Спектр гематологических исследований с определением стандартных показателей выполняли в централизованной клинико-диагностической лаборатории (заведующая – д.м.н. Е.Л. Семикина) лабораторного отдела (заведующий – д.м.н., проф. Н.А. Маянский) и отделе инструментальной диагностики (заведующая – д.м.н. О.В. Кожевникова) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России с помощью аппаратов: Avida 2120 (Siemence, Германия) и Sysmex XS 2000i (Sysmex Corporation, Япония), Cobas C 311 (Roche, Франция) и Unicel DxC 800 (Beckman Coulter, США), Rapid Point 500 (Siemens, США), StaCompact (Stago, Франция). У пациентов в день поступления в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России натощак проводили взятие венозной крови из локтевой или подкожной вены запястья с помощью системы однократного применения BD Vacutainer Safety-Lok (Becton, Dickinson and Company, США) в количестве 3−5 мл, для сбора и хранения образцов с целью проведения **клинического исследования крови** использовали одноразовые

стерильные вакуумные пробирки BD Vacutainer, содержащие этилендиаминтетраацетат – К2ЭДТА (Becton, Dickinson and Company, США), **биохимического и серологического исследования крови, оценки гуморального звена иммунитета** – одноразовые стерильные вакуумные пробирки BD Vacutainer SST™ II Advance с активатором свертывания и разделительным гелем для сыворотки (Becton, Dickinson and Company, США), для **исследования коагуляционного гемостаза** – одноразовые стерильные вакуумные пробирки BD Vacutainer Univac, содержащие буферный раствор цитрата натрия (Becton, Dickinson and Company, США). Собранные образцы центрифугировали в течение 10 мин при скорости вращений 2500 оборотов/мин и температуре 25 °С, после чего выполняли исследование указанных показателей в день взятия крови.

Для **определения содержания газов крови** использовали специальные капилляры, импрегнированные натриевой солью гепарина (Roche Diagnostics GmbH, Дания), металлические перемешивающие элементы и полимерные колпачки (Radiometer Medical ApS, Дания).

Системой непрерывного мониторирования уровня глюкозы в тканевой жидкости определяли характер колебаний глюкозы в течение 72 часов. Исследование проводили в отделе инструментальной диагностики (заведующая – д.м.н. О.В. Кожевникова) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России с помощью прибора Guardian REAL-Time (Medtronic MiniMed, США), принцип работы которого основан на глюкозооксидазном методе. Глюкозу в капиллярной крови измеряли несколько раз в течение этого периода сами дети или их родители с помощью глюкометра OneTouch Select (LifeScan, США). После проведения исследования полученные данные загружали в персональный компьютер и обрабатывали с помощью специальной программы Medtronic MiniMed V 3.3A CareLink pro (США).

Определение активностей внутриклеточных дегидрогеназ лимфоцитов (сукцинатдегидрогеназы, никотинамидаденин-Н-дегидрогеназы, лактатдегидрогеназы) методом количественного цитохимического анализа, включающего световую микроскопию и цитоморфоденситометрию с помощью аппаратно-программного комплекса визуализации морфологических препаратов, анализа и регистрации оптических и морфологических показателей «ВидеоТест» и программы «Морфология 5.2» (Россия, АПК «ВидеоТест», регистрационное удостоверение № 29/20010702/6102-04 в ГРМИ) выполняли в лаборатории экспериментальной иммунологии и вирусологии лабораторного отдела (заведующий – д.м.н., проф. Н.А. Маянский) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Цитоморфоденситометрическим методом проводили оценку геометрических и оптических характеристик гранул продукта ферментативной реакции – площадь, оптическую плотность и распределение в клетке, используя цифровые методы обработки изображений. Активность фермента определяли как интегральную оптическую плотность всех депозитов цитохимической реакции (гранул).

Иммуноцитохимическое определение активностей сукцинатдегидрогеназы и глицерол-3-фосфатдегидрогеназы в популяциях лимфоцитов периферической крови с помощью проточной цитофлуориметрии на приборе CYTOMICS FC500 (Beckman Coulter, США). Активность ферментов оценивали в популяциях Т-лимфоцитов (CD3+CD45+), включая Th17-лф. (CD3+CD4+CD161+CD45+), регуляторные Т-клетки (CD3+CD4+$CD127_{low}$+CD45+), активированные хелперы (CD3+CD4+CD127h+CD45+) и Th2-лф (CD3+CD4+CD294+CD45+), в В-лимфоцитах (CD3-CD19+CD45+) и в натуральных киллерах – NK-клетках (CD3-CD16+CD56+). Группа сравнения составила 24 условно здоровых ребенка.

Исследование **биомаркеров апоптоза:** растворимого FAS-рецептора (sAPO-1/FAS рецептор) и FAS-лиганда (sFAS-L), цитохрома С, аннексина V, каспазы-8, каспазы-9 и фактора некроза опухолей-α (TNF-α) осуществляли в лаборатории нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга (заведующий – д.б.н. А.М. Сурин) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России методом твердофазного энзим-связанного иммуносорбентного анализа (ELISA) с помощью специальных наборов реагентов («Bender Medsystems», Австрия). Использовали ранее полученные референсные значения для цитохрома С – 0,28±0,03 нг/мл, sFas-R/APO1 – 0,023±0,002 нг/мл, sFAS-L – 0,086±0,02 нг/мл, аннексина V – 0,225±0,01 нг/мл, TNF-α – 3,05±0,36 пг/мл. Интервал нормальных уровней каспазы-8 и каспазы-9 был указан в инструкциях к наборам реагентов: 0-1,2 нг/мл и 0-11,2 нг/мл, соответственно.

Определение **биомаркеров фиброзирования печени** (гиалуроновой кислоты, матриксных металлопротеиназ-2, -3, -8, -9, тканевого ингибитора матриксных

металлопротеиназ-1) в сыворотке крови проводили в лаборатории нейробиологии и фундаментальных основ развития мозга (заведующий – д.б.н. А.М. Сурин) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России иммуноферментным методом с помощью наборов Bender MedSystems (Австрия) и HA Test Kit (Corgenix, Inc., США) для твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) на полуавтоматическом ИФА-анализаторе АИФР-01 УНИПЛАН («Пикон», Россия).

Оценку костного возраста проводили по данным рентгенографии костей кистей с захватом лучезапястных суставов в прямой проекции, выполненной на рентгеновских аппаратах Legacy-Advantx (General Electric, США) и Clinodigit (ItalRay S.r.l., Италия) в рентгеновском отделении с ангиографическим кабинетом (заведующая – д.м.н. Е.Н. Цыгина) отдела лучевой диагностики (заведующий – к.м.н. А.В. Аникин) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Анализ рентгенограмм производили с помощью атласа TWA и специальной электронной программы Auxology ver. 1.0 b17 (Pfizer, США).

Минеральную плотность костной ткани (МПКТ) оценивали методом двуэнергетической рентгеновской абсорбциометрии (ДЭРА) на рентгеновских остеоденситометрах Lunar-DPX-MD Plus и Lunar iDXA (General Electric, США) в рентгеновском отделении с ангиографическим кабинетом (заведующая – д.м.н. Е.Н. Цыгина) и отделении магнитно-резонансной томографии и денситометрии (заведующая – к.м.н. М.З. Каркашадзе) отдела лучевой диагностики (заведующий – к.м.н. А.В. Аникин) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Исследовали поясничный отдел позвоночника на уровне LI-LIV. Снижение МПКТ диагностировали при значении Z-score –2 SD и более. Окончательный результат Z-score анализировали при пересчете на костный возраст ребенка.

Определение концентраций биомаркеров костного ремоделирования: остеокальцина, С-терминального телопептида сыворотки (β-CrossLaps), N-терминального пропептида проколлагена 1 типа (P1NP) и концентрацию витамина D в сыворотках пациентов проводили в отделе инструментальной диагностики (заведующая – д.м.н. О.В. Кожевникова) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России с использованием электрохемилюминесцентной технологии (тесты ECLIA), реализованной на иммунохимическом анализаторе Cobas e411 (Roche Diagnostics). Использованы указанные в инструкциях к реактивам нормативные показатели. Для остеокальцина: девочки от 6 мес до 7 лет – 44-130, от 7 до 10 лет – 73-206, от 10 до 13 лет – 77-262, от 13 до 16 лет – 33-222, от 16 до 18 лет – 24-99 нг/мл; мальчики от 6 мес до 7 лет – 39-121, от 7 до 10 лет – 66-182, от 10 до 13 лет – 85-232, от 13 до 16 лет – 70-336, от 16 до 18 лет – 43-237 нг/мл. Для β-CrossLaps: девочки <0,573; мальчики <0,584 нг/мл. Для P1NP: девочки – 15,1-58,6 нг/мл; мальчики – 15-115 нг/мл, для витамина D (25-OH): 30-100 нг/мл.

Массивное параллельное секвенирование проводили в лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии (заведующий – к.б.н. К.В. Савостьянов) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России с применением разработанной нами методики (патент на изобретение № 2621161 от 31.05.2017 г.).

Ультразвуковое исследование органов брюшной полости и почек в режиме серой шкалы и допплерографическое исследование кровотока по сосудам портальной системы и сосудам чревного ствола проводили в отделе ультразвуковой диагностики (заведующий – к.м.н. Г.В. Ревуненков) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Исследование выполняли с помощью ультразвукового аппарата «Toshiba Aplio XG V4» (Япония) по общепринятым методикам с использованием конвексного датчика с частотами 6,0-8,0 МГц и линейных датчиков с частотами 10,0-14,0 МГц.

Транзиентную эластографию печени (ТЭП) проводили на аппарате FibroScan®502 в гастроэнтерологическом отделении с гепатологической группой (заведующий – к.м.н. А.Н. Сурков) и отделении стационарозамещающих технологий (заведующая – к.м.н. А.А. Алексеева) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. В зависимости от окружности грудной клетки (ОГК) применяли 2 типа датчиков: S+ (с двумя режимами) и M. Режим S1 с частотой 5 МГц использовался у пациентов, имевших ОГК менее 45 см, S2 с частотой 5 МГц – при ОГК от 45 до 75 см, M с частотой 3,5 МГц – при ОГК более 75 см. Глубина измерений при использовании режима S1 составляла 15-40 мм от края кожи, S2 – 20-50 мм, M – 25-65 мм. Полученные данные сопоставляли со стадией ФП, рассчитанной по

шкале METAVIR (Морозов С.В., 2008). Результаты значений ТЭП сравнивали с таковыми у детей с МВ и МПС.

Количественную ультразвуковую оценку структуры паренхимы печени проводили с использованием функции ASQ в отделе лучевой диагностики (заведующий – к.м.н. Г.В. Ревуненков). Методика включает в себя 3 варианта оценки структуры печени: цветовое кодирование, построение гистограммы и сравнительный анализ с определением индекса плотности. Распределение пациентов по стадиям ФП проводили в соответствии со шкалой, разработанной Дворяковской Г.М. и соавт. (2013).

Выраженность нарушений функции печени определяли в соответствии с разработанной нами (патент № 2473904 от 27.01.2013 г.) балльной системой оценки степени нарушений функции печени (СНФП), которая представлена в Таблице 1. Уровень каждого биохимического показателя, соответствовавший «отсутствию нарушений», оценивали в «4» балла, «незначительным нарушениям» – в «3» балла, «умеренно выраженным нарушениям» – в «2» балла, «тяжёлым нарушениям» – в «1» балл, «абсолютным изменениям» – в «0» баллов. Сумма баллов, набранных при оценке биохимических показателей, служила оценкой степени нарушения функции печени. При отсутствии нарушений функции печени (снижение функции на 0,0-4,0%) суммарное количество набранных баллов равно 54-56, при незначительных нарушениях (снижение функции на 5-24%) – 43-53 балла, при умеренных нарушениях (снижение функции на 25-49%) – 29-42 балла, при тяжелых нарушениях (снижение функции на 50-95%) – 3-28 баллов, при абсолютных нарушениях (снижение функции на 96-100%) – 0-2 балла. Данная балльная система оценки была ранее успешно применена для определения СНФП у детей с различными хроническими формами патологии печени, однако апробация ее у пациентов с ГБ не проводилась.

Компьютерную томографию (КТ) органов брюшной полости и забрюшинного пространства проводили в отделении рентгеновской компьютерной томографии отдела лучевой диагностики (заведующий отделом – к.м.н. А.В. Аникин) на мультиспиральных компьютерных томографах Light Speed 16 и 750 HD фирмы General Electric (США) с использованием следующих физико-технических характеристик: напряжение – 100 kV, экспозиция – 120 mAs, ширина среза 2,5 мм при коллимации 4,0 * 1,25 мм. В дальнейшем изображения реконструировали при помощи детального алгоритма ретроспективной реконструкции без изменения ее параметров и проводили анализ на основе визуальных и денситометрических данных по шкале в единицах Хаунсфилда (ед.Х) с учетом формы, характера контуров, плотности паренхимы внутренних органов, наличия дополнительных образований, включений и др. **Двухфазное внутривенное болюсное усиление** выполняли неионными рентгенконтрастными препаратами с концентрацией 300 мг/мл, скорость введения составляла в среднем 3,2 мл/с (2,5-4 мл/с). Объем контрастного средства рассчитывали следующим образом: 1,5-2 мл на 1 кг массы тела.

Пункционные биопсии печени выполняли в хирургическом отделении с неотложной и плановой помощью (заведующий – к.м.н. А.А. Гусев) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России с применением полуавтоматических игл Quick-Care series (Cook Medical, США).

Морфологическое исследование биоптатов печени методом световой микроскопии проводили в патологоанатомической лаборатории (заведующий – К.А. Куликов) НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Для морфологического исследования образец ткани фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина и заливали в парафин по общепринятой методике. Для дифференцировки структур ткани использовали окраску с применением гематоксилина и эозина. Выявление коллагеновых структур производили с использованием окраски пикрофуксином по методу ван Гизона. Идентификацию гликопротеиновых структур осуществляли с помощью реакции с Шифф-йодной кислотой (ШИК-реакции) и последующим контролем амилазой. Для определения степени активности воспалительного процесса в паренхиме печени вычисляли индекс гистологической активности (ИГА) по шкале Knodell, а для уточнения стадии ФП – гистологический индекс склероза (ГИС) по Desmet.

Таблица 1 – Балльная система оценки степени нарушения функции печени у детей

Показатели	Единицы измерения	Отсутствие нарушений (снижение функции на 0-4%)	БАЛЛЫ	Незначительные нарушения (снижение функции на 5-24%)	БАЛЛЫ	Умеренные нарушения (снижение функции на 25-49%)	БАЛЛЫ	Тяжёлые нарушения (снижение функции на 50-95%)	БАЛЛЫ	Абсолютные нарушения (снижение функции на 95-100%)	БАЛЛЫ
Глюкоза натощак	ммоль/л	≥4,48	4	3,58-4,47	3	2,40-3,57	2	1,45-2,39	1	≤1,44	0
Лактат	мЭкв/л	≤1,56	4	1,57-1,86	3	1,87-2,24	2	2,25-2,93	1	≥2,94	0
Альбумин	г/л	≥42,3	4	37,1-42,2	3	31,9-37,0	2	26,7-31,8	1	≤26,6	0
Церулоплазмин	мг/дл	≥20,0	4	16,7-19,9	3	13,3-16,6	2	10,0-13,2	1	≤9,9	0
Фибриноген	г/л	≥3,04	4	2,50-3,03	3	1,98-2,49	2	1,45-1,97	1	≤1,44	0
Протромбин по Квику	%	≥95,7	4	90,7-95,6	3	58,5-90,6	2	26,4-58,4	1	≤26,3	0
Трансферрин	мг/дл	≥244	4	202-243	3	176-201	2	150-175	1	≤149	0
АЛТ	МЕ/л	≤17,2	4	17,3-83,9	3	84,0-150,6	2	150,7-217,3	1	≥217,4	0
АСТ	МЕ/л	≤28,6	4	28,7-112,3	3	112,4-196,0	2	196,1-279,7	1	≥279,8	0
Коэффициент де Ритиса	АСТ/ АЛТ	1,73-1,83	4	1,31-1,72 или 1,84-2,27	3	0,88-1,30 или 2,28-2,73	2	0,09-0,87 или 2,74-3,57	1	≤0,08 или ≥3,58	0
Аммиак (ионы аммония)	мЭкв/л	≤32,0	4	32,1-39,7	3	39,8-47,7	2	47,8-62,4	1	≥62,5	0
Мочевина	ммоль/л	≥3,7	4	3,2-3,6	3	2,7-3,1	2	2,2-2,6	1	≤2,1	0
Билирубин общий	мкмоль/л	≤14,0	4	14,1-76,5	3	76,6-139,9	2	140,0-201,9	1	≥202	0
Холестерин	ммоль/л	≥4,0	4	3,3-3,9	3	2,7-3,2	2	2,0-2,6	1	≤1,9	0
Максимально возможное количество баллов			56								

Оценку качества жизни пациентов проводили в лаборатории социальной педиатрии и качества жизни (заведующая – д.м.н. Н.В. Устинова) отдела организационно-аналитической работы НИИ Педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России с помощью общего вопросника Pediatric Quality of Life Inventory – PedsQLтм4.0.

Вопросник разделен на возрастные блоки и включает в себя от 21 до 23 вопросов (в зависимости от возраста):

- блок для детей 2-4 лет (родительская форма) – 21 вопрос,
- блок 5-7 лет (родительская и детская форма) – 23 вопроса,
- блок 8-12 лет (родительская и детская форма) – 23 вопроса,
- блок 13-18 лет (родительская и детская форма) – 23 вопроса.

Родительские и детские формы вопросника несколько отличаются по формулировке вопросов, но смысловое содержание их остается таким же.

Вопросник составляют следующие шкалы:

- физическое функционирование (ФФ) – 8 вопросов,
- эмоциональное функционирование (ЭФ) – 5 вопросов,
- социальное функционирование (СФ) – 5 вопросов,
- функционирование в детском саду (ФДС) – 3 вопроса (модуль 2-4 года) или функционирование в школе (ФШ) – 5 вопросов.

Для оценки ответов использовали шкалу, содержащую варианты ответов «Никогда», «Почти никогда», «Иногда», «Часто», «Почти всегда». В детской форме вопросника для детей в возрасте 5-7 лет применяют 3 варианта ответов: «Никогда», «Иногда», «Всегда». У детей данной возрастной группы оценку качества жизни производят путем интервьюирования ребенка или анкету заполняет лечащий врач. В процессе перекодировки данных высчитываются баллы по каждой шкале вопросника, а также суммарный общий балл (ОБ) по всем шкалам вопросника. Общее количество баллов для всех модулей рассчитывается по 100-балльной шкале после процедуры шкалирования: чем выше итоговая величина, тем лучше КЖ ребенка. Вопросник позволяет оценить состояние ребенка на протяжении последнего месяца. Суммарный балл по данной шкале не рассчитывается в случае пропуска более 50% вопросов шкалы. Для исключения влияния на ответы друг друга одним из условий является раздельное заполнение вопросников детьми и родителями (в случае детей раннего возраста – родителями). Показатели КЖ детей с ГБ дополнительно сравнивали с таковыми у здоровых сверстников и у пациентов, страдающих другими формами хронической патологии: МПС и ФКУ.

Психолого-педагогическое обследование пациентов с ГБ в возрасте от 6 лет 6 мес до 17 лет 12 мес осуществляли в отделении специальной психологии и коррекционного обучения (заведующая – д. педагогич. наук С.Б. Лазуренко) путем анализа медицинской и психолого-педагогической документации, наблюдения за ребенком и родителем в процессе обследования, неструктурированной беседы о социальных условиях жизни ребенка, анкетирования, применения методик: «Цветовой тест диагностики нервно-психических состояний и отношений» (адаптация цветового теста М. Люшера, В.И. Тимофеев и Ю.И. Филимоненко), «Рисунок неизвестного животного» (М.З. Дукаревич, адаптация А.Л. Венгера), «Методика исследования самооценки Т.В. Дембо – С.Я. Рубинштейн» (адаптированные варианты шкалы для младших школьников и подростков А.М. Прихожан), анкеты «Изучение социализированности личности учащегося» (варианты для младших школьников и подростков М.И. Рожкова), анкеты «Оценка комплаентности родителей» (адаптация теста 4-item Medication Adherence Report Scale – MARS, Д.Е. Мориски, Л.В. Грин). Для удобства реализации процедуры сравнительного анализа результаты, полученные по каждой методике, преобразовывали следующим образом: низким значениям присваивали 1 балл, средним – 2 балла, высоким значениям – 3 балла, затем путем суммирования баллов и их деления на число заданий вычисляли средний показатель. Итоговая оценка психологического состояния ребенка была осуществлена путем обобщения средних результатов по четырем сферам (социальные условия жизни, эмоциональное состояние, самосознание, социальная адаптивность) и экспертной оценки с участием 3-х медицинских детских психологов.

Проводили оценку специфичности социальных условий, обусловленных болезнью, к которым относили: зависимость социальной активности и жизни от режима лечения, в частности, регулярности выполнения физически неприятных лечебных процедур; отсутствие

стабильности жизни в силу возможного внезапного значительного ухудшения физического состояния; ограничение рациона питания; необходимость частых госпитализаций; контроль уровня глюкозы в крови. Для определения степени выраженности специфики социальных условий параметрам, перечисленным выше, была присвоена балльная оценка. Так, незначительную специфику параметра оценивали 1 баллом, среднюю – 2 баллами, значительную – 3 баллами. Средний показатель вычисляли путем суммирования баллов и их деления на число параметров. Психолого-педагогическое обследование ребенка и его родителей проводили в индивидуальной форме в кабинете психолога. Длительность одного обследования составляла 1 час. Число встреч и объем психодиагностического инструментария подбирали индивидуально в зависимости от физического и психологического состояния пациентов, а также от формы организации процесса лечения.

Всем детям после верификации диагноза назначали специфическую диетотерапию, заключавшуюся в частых дробных (включая ночное) кормлениях, исключении из рациона пищевого сахара, ограничении потребления животных жиров и обязательном назначении сырого кукурузного крахмала (СКК) в возрастных дозировках: для детей раннего возраста из расчета 1,6 г/кг каждые 3-4 часа, для детей школьного возраста до 1,7-2,5 г/кг каждые 4-6 ч. В качестве медикаментозного лечения применяли гепатопротекторы: эссенциальные фосфолипиды у детей с 12 лет в дозе по 1 капсуле 3 раза в сутки во время еды; препараты урсодезоксихолевой кислоты из расчета 10-15 мг/кг массы тела на ночь: у детей до 3 лет в суспензии, с 3 лет – в капсулах. По показаниям, при метаболических нарушениях с целью восполнения дефицита глюкозы – 5% раствор декстрозы для детей с массой тела 2-10 кг – 100-165 мл/кг/сут, детям с массой тела 10-40 кг – 45-100 мл/кг/сут; с дезинтоксикационной целью – меглюмина натрия сукцинат из расчета 6-10 мл/кг массы тела ежедневно 1 раз в сутки со скоростью 3-4 мл/мин – № 5-10.

Оценку эффективности терапии проводили на основании изучения динамики следующих показателей: сокращение размеров печени по данным перкуссии, АЛТ, АСТ, глюкоза и лактат натощак, холестерин, триглицериды. При анализе динамики учитывали значения изучаемых параметров при первичном поступлении ребенка в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, а также при каждой последующей госпитализации (через каждые 6 мес) в течение 3 лет.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакетов прикладных программ «Statistica» (StatSoft Inc. США, версия 6.0) и MedCalc (Бельгия). Для анализа вида распределений применяли критерии Шапиро-Уилка и Лиллиефорса. Дисперсии распределений признаков оценивали с помощью F-критерия в процедуре дисперсионного анализа ANOVA. Поскольку распределение уровня большинства исследованных показателей не было нормальным, а групповые дисперсии не были равны, различия между группами определяли с помощью непараметрического теста Краскела-Уоллиса, а при обнаружении статистически значимых различий проводили парные сравнения с применением непараметрического теста Манна-Уитни. Статистически значимыми считали различия при $p<0,05$, высокодостоверными при $p<0,01$. Результаты исследований представлены в виде медианы параметра и [интерквартильного размаха]. Анализ связи (корреляции) двух количественных признаков осуществляли непараметрическим методом ранговой корреляции по Спирмену. Функциональная связь при коэффициенте корреляции менее 0,5 расценивалась как слабая, 0,5-0,7 – умеренная, более 0,7 – сильная. Для оценки диагностической точности методик вычисляли операционные характеристики диагностического теста: чувствительность (%) и специфичность (%). При анализе результатов психолого-педагогического обследования (рисунки, анкетные данные) использовали критерий Пирсона (χ^2).

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Создание регистра пациентов детского возраста с гликогеновой болезнью

С целью совершенствования системы учета пациентов с ГБ на базе ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России и повышения качества мониторинга состояния их здоровья на фоне длительной терапии нами была разработана специальная система учета (далее – регистр) – оригинальная Программа для электронно-вычислительных машин (ЭВМ), позволяющая управлять реестром данных учетных лиц (пациентов с ГБ), с возможностью

вывода хранимых данных в отчетах. Данные в регистр заносили с помощью специально разработанной индивидуальной информационно-регистрационной карты, которая была заполнена для 134 детей с ГБ. Вначале были внесены исходные данные, которые затем обновлялись каждые 6 мес в течение 3 лет. В Федеральной службе по интеллектуальной собственности (Роспатент) Министерства экономического развития РФ получено свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ № 2018615508 от 08.05.2018 г.

Эпидемиологические данные о гликогеновой болезни у детей в Российской Федерации

На основании анализа внесенных в регистр данных историй болезней 120 пациентов, поступавших в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, на первом этапе было исключено 8 детей из стран СНГ: из Беларуси – 3, из Казахстана – 3, из Азербайджана – 1, из Таджикистана – 1. Таким образом, на основании результатов, полученных из 112 историй болезней (Рисунок 2), установлено, что в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России в период с января 2006 г. по январь 2016 г. больше всего детей с ГБ поступало из Центрального и Приволжского федеральных округов – 38,4% и 21,4%, соответственно; наименьшее из Северо-Западного и Дальневосточного федеральных округов – 4,5% и 3,6%, соответственно.

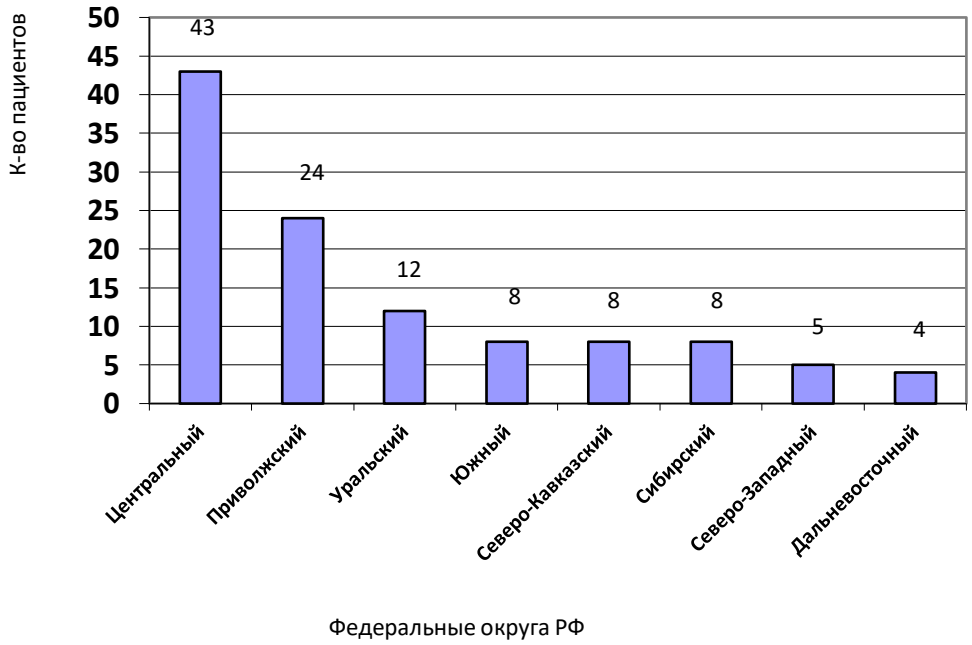


Рисунок 2 – Распределение детей с ГБ, госпитализированных в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России в период с января 2006 по январь 2016 гг. по федеральным округам РФ

Данные о численности когорты пациентов с ГБ в РФ были получены на основании анализа места проживания 107 детей с ГБ, учтенных как наблюдавшихся в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России на момент 1 января 2016 г. Из этой группы были исключены 7 человек, имевших места жительства в странах СНГ: в Казахстане – 3, в Беларуси – 3, в Таджикистане – 1. Таким образом, оценке подверглись 100 пациентов (Таблица 2). Из 100 детей, проживавших на территории РФ, в городах – областных административных центрах или столицах республик – проживали 48 (48,0%) пациентов, в других городах – 33 (33,0%), в сельской местности – 19 (19,0%) человек.

Таблица 2 – Ориентировочная численность детей с ГБ на территории РФ (по данным на январь 2016 г.)

Федеральный округ	Численность детского населения	Число случаев	%	Численность, на 100 тыс. детского населения
Центральный	6 705 371	30	30,00	0,45
Северо-Западный	2 471 176	6	6,00	0,24
Южный	3 161 164	9	9,00	0,28
Северо-Кавказский	2 622 077	8	8,00	0,31
Приволжский	5 878 008	22	22,00	0,37
Уральский	2 655 059	12	12,00	0,45
Сибирский	4 212 779	7	7,00	0,17
Дальневосточный	1 308 834	6	6,00	0,46
Всего	29 014 468	100	100,00	0,34

С учетом численности детского населения (до 17 лет 11 мес 29 дней) в каждом федеральном округе на момент 1 января 2016 г., рассчитанной Федеральной службой государственной статистики РФ, наибольшие показатели выявлены в Дальневосточном федеральном округе – 0,46 : 100 000 детского населения, Центральном и Уральском федеральных округах – по 0,45 : 100 000, средние в Приволжском – 0,37 : 100 000, Северо-Кавказском – 0,31 : 100 000 и Южном федеральных округах – 0,28 : 100 000, а наименьшие в Северо-Западном – 0,24 : 100 000 и Сибирском федеральных округах – 0,17 : 100 000. Общая ориентировочная численность детей с ГБ на территории РФ составила 0,34 : 100 000 или 1 : 294 117. При этом нельзя не отметить факт гиподиагностики ГБ в РФ.

Биомаркеры апоптоза у детей с гликогеновой болезнью

Анализ полученных результатов показал, что концентрации цитохрома С, sFas-R/APO1, sFAS-L, аннексина V были повышены во всех 78 (100,0%) пробах, TNF-α – в 72 (92,3%), каспазы-8 – в 56 (71,8%), каспазы-9 – в 27 (34,6%) пробах (Таблица 3).

Таблица 3 – Сывороточные концентрации маркеров апоптоза у пациентов вне зависимости от типа ГБ

Параметр	Цитохром С	sAPO-1/FAS рецептор	sFas-L	Аннексин V	TNF-α	Каспаза-8	Каспаза-9
Медиана	0,760	0,204	0,216	1,085	8,77	1,440	5,765
ИКР	[0,495; 1,578]	[0,149; 0,276]	[0,168; 0,290]	[0,893; 1,410]	[4,85; 18,60]	[0,579; 1,750]	[2,038; 15,675]

Согласно критерию Краскела-Уоллиса, достоверных различий в концентрациях исследуемых маркеров между I, III, VI и IX типами ГБ выявлено не было (p=0,615, p=0,273, p=0,370, p=0,325, p=0,534, p=0,688, p=0,309, соответственно).

При проведении корреляционного анализа были выявлены взаимосвязи исследуемых маркеров апоптоза друг с другом (Таблица 4).

Таблица 4 – Взаимосвязи (r_s) биомаркеров апоптоза у детей с ГБ

Показатель	Цитохром С	sAPO-1/FAS рецептор	sFas-L	Аннексин V	Каспаза-8	Каспаза-9
Цитохром С	-	0,609 p=0,000	0,654 p=0,000	0,644 p=0,000	-	-
sAPO-1/FAS рецептор	0,609 p=0,000	-	0,897 p=0,000	0,938 p=0,000	-	-
sFas-L	0,654 p=0,000	0,897 p=0,000	-	0,952 p=0,000	-	-

Продолжение Таблицы 4

Показатель	Цитохром С	sAPO-1/FAS рецептор	sFas-L	Аннексин V	Каспаза-8	Каспаза-9
Аннексин V	0,644 *p*=0,000	0,938 *p*=0,000	0,952 *p*=0,000	-	-	-
Каспаза-8	-0,741 *p*=0,000	-0,677 *p*=0,000	-0,702 *p*=0,000	-0,726 *p*=0,000	-	-
Каспаза-9	0,382 *p*=0,001	0,336 *p*=0,003	0,365 *p*=0,001	0,388 *p*=0,000	-0,535 *p*=0,000	-
TNF-α	0,435 *p*=0,000	0,454 *p*=0,000	0,500 *p*=0,000	0,511 *p*=0,000	-0,596 *p*=0,000	0,320 *p*=0,004

Прямые биомаркеры фиброзирования печени у детей с гликогеновой болезнью

Анализ полученных результатов показал, что у подавляющего числа пациентов с ГБ сывороточные концентрации биомаркеров фиброзирования были повышены: ГК и ММП-2 – в 60 (87,0%), ММП-3 – в 56 (81,2%), ММП-8 – в 58 (84,1%), ММП-9 и ТИМП-1 – в 61 (88,4%) случаях. Полученные значения концентраций биомаркеров фиброзирования у пациентов с ГБ (вне зависимости от типа заболевания) и детей контрольной группы, а также различия между ними приведены в Таблице 5.

Таблица 5 – Сывороточные концентрации биомаркеров фиброзирования у детей контрольной группы и у пациентов с ГБ (вне зависимости от типа заболевания)

Показатель	Группы		*p* (М-У)
	Здоровые дети $n_{детей/иссл.}$=11	Дети с ГБ $n_{иссл.}$=69 $n_{детей}$=46	
ГК, нг/мл	6,02 [4,42; 10,30]	22,42 [14,77; 34,95]	**0,000**
ММП-2, нг/мл	9,75 [9,06; 10,63]	13,33 [12,14; 15,16]	**0,000**
ММП-3, нг/мл	0,92 [0,60; 1,40]	4,04 [2,47; 5,66]	**0,000**
ММП-8, нг/мл	0,09 [0,04; 0,19]	0,46 [0,34; 0,81]	**0,000**
ММП-9, нг/мл	3,90 [3,68; 4,26]	5,68 [4,90; 7,12]	**0,000**
ТИМП-1, пг/мл	183,60 [149,30; 301,70]	486,40 [379,60; 647,75]	**0,000**

Примечание. Здесь и далее в Таблицах 11, 16-18: *p* (М-У) – оценка достоверности различий по методу Манна-Уитни

Как видно из представленных данных, при оценке достоверности различий с помощью критерия Манна-Уитни установлено, что концентрации ГК, ММП-2, -3, -8 и -9, ТИМП-1 у пациентов, страдающих ГБ (независимо от типа заболевания), были достоверно выше, чем у здоровых детей (*p*=0,000 для всех показателей), что свидетельствует об активном течении процессов фиброзирования печени при ГБ.

Напротив, при анализе сывороточных концентраций исследуемых биомаркеров у детей с разными типами ГБ различий в их концентрациях выявлено не было (*p*>0,05), что может свидетельствовать о единых механизмах фиброзирования при всех печеночных формах ГБ.

При проведении корреляционного анализа был выявлен ряд взаимосвязей биомаркеров фиброзирования между собой (Таблица 6).

Таблица 6 – Взаимосвязи (r_s) маркеров фиброзирования печени у детей с ГБ

Показатель	ГК	ММП-2	ММП-3	ММП-8	ММП-9	ТИМП-1
ГК	-	0,609 *p*=0,000	0,727 *p*=0,000	0,680 *p*=0,000	0,659 *p*=0,000	0,729 *p*=0,000
ММП-2	0,609 *p*=0,000	-	0,534 *p*=0,000	0,542 *p*=0,000	0,584 *p*=0,000	0,569 *p*=0,000
ММП-3	0,727 *p*=0,000	0,534 *p*=0,000	-	0,654 *p*=0,000	0,568 *p*=0,000	0,632 *p*=0,000

Продолжение Таблицы 6

Показатель	ГК	ММП-2	ММП-3	ММП-8	ММП-9	ТИМП-1
ММП-8	0,680 *p*=0,000	0,542 *p*=0,000	0,654 *p*=0,000	-	0,654 *p*=0,000	0,579 *p*=0,000
ММП-9	0,659 *p*=0,000	0,584 *p*=0,000	0,568 *p*=0,000	0,654 *p*=0,000	-	0,676 *p*=0,000
ТИМП-1	0,729 *p*=0,000	0,569 *p*=0,000	0,632 *p*=0,000	0,579 *p*=0,000	0,676 *p*=0,000	-
Каспаза-9	0,310 *p*=0,010	0,276 *p*=0,022	0,391 *p*=0,001	0,305 *p*=0,011	0,275 *p*=0,022	0,417 *p*=0,000

Оценка состояния костной ткани у детей с гликогеновой болезнью

Анализ результатов обследования 61 ребенка с ГБ показал, что костный возраст пациентов с ГБ, рассчитанный по данным рентгенографии костей кистей, соответствовал норме у 9 (14,8%), отставал от календарного – у 46 (75,4%), опережал таковой – у 6 (9,8%) детей.

Таблица 7 – Распределение детей с отставанием костного возраста в зависимости от типа ГБ (*n*=61)

Тип	Общее количество детей	Количество детей с отставанием костного возраста	%
Ia	9	4	66,7
Ib	13	10	76,9
III	15	14	93,3
VI	5	5	100,0
IX	22	13	59,7

Как видно из Таблицы 7, отставание костного возраста наиболее часто встречалось у детей с ГБ VI, III и Ib типов, реже всего – при ГБ Ia и IX типов.

Показатели МПКТ поясничного отдела позвоночника, рассчитанные с учетом костного возраста у 33 пациентов с ГБ, выглядели следующим образом: нормальные значения (Z-score > –1) отмечались у 13 (39,4%), снижение МПКТ (Z-score –2,5 < –1) – у 15 (45,5%), остеопороз (Z-score < –2,5) – у 5 (15,1%) детей.

При исследовании сывороточных концентраций биомаркеров костного ремоделирования у 49 детей с ГБ было выявлено, что медиана уровня остеокальцина составляла 53,94 [40,53; 82,58] нг/мл, витамина D 25-OH – 18,10 [10,60; 24,50] нг/мл, β-CrossLaps – 0,98 [0,66; 1,42] нг/мл, P1NP – 376,20 [275,20; 451,00] нг/мл. При этом, концентрация остеокальцина в сыворотке крови была снижена у 21 (42,9%) ребенка в среднем в 1,3 раза, максимально – в 3 раза. У остальных 28 (57,1%) его содержание находилось в пределах нормальных значений (Рисунок 3).

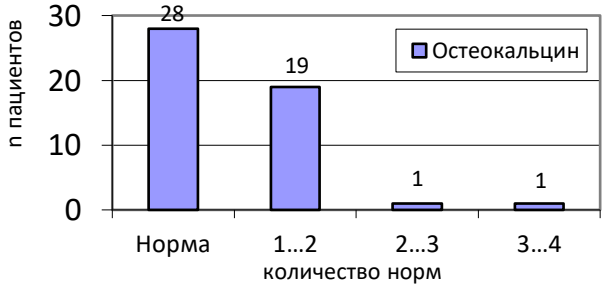


Рисунок 3 – Выраженность снижения концентрации остеокальцина в сыворотке крови у детей с ГБ

Содержание витамина D 25-OH было снижено у 40 (81,6%) пациентов, в среднем в 1,8 раз, максимально – в 10 раз. Только у 9 (18,4%) детей этот показатель был нормальным (Рисунок 4).

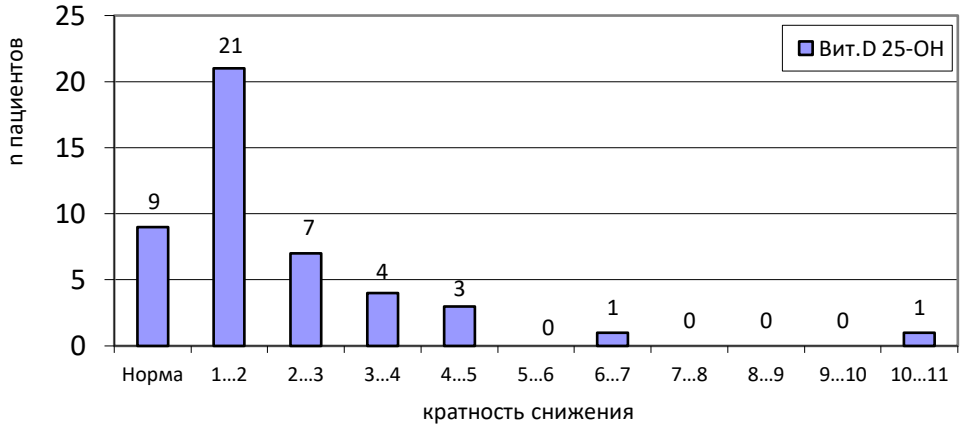


Рисунок 4 – Выраженность снижения концентрации витамина D 25-OH в сыворотке крови у детей с ГБ

Концентрация β-CrossLaps была повышена у 39 (79,6%) детей и достигала в среднем 1,6 норм, максимально – 5,8 норм (Рисунок 5). Содержание этого маркера было нормальным лишь у 10 (20,4%) больных.

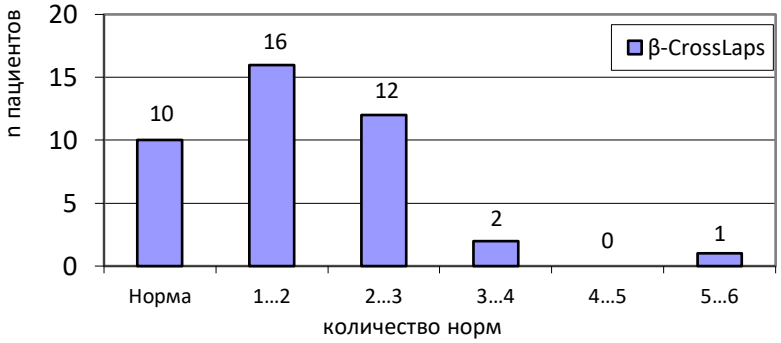


Рисунок 5 – Выраженность повышения концентрации β-CrossLaps в сыворотке крови у детей с ГБ

Концентрация P1NP была повышенной у всех 49 (100,0%) пациентов и в среднем достигала 3,6 норм, максимально – 12 норм (Рисунок 6).

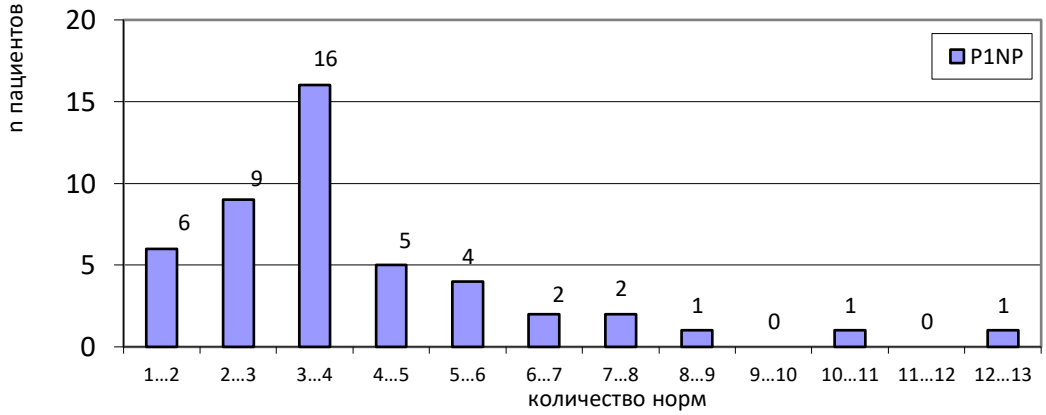


Рисунок 6 – Выраженность повышения концентрации P1NP в сыворотке крови у детей с ГБ

Согласно критерию Краскела-Уоллиса были выявлены достоверные различия концентраций β-CrossLaps (p=0,011) и P1NP (p=0,007), а также значений Z-score (p=0,043) между детьми с разными типами ГБ. При проведении попарных сравнений по критерию Манна-Уитни установлены достоверные различия указанных показателей у пациентов с разными типами ГБ (Таблица 8).

Таблица 8 – Сывороточные концентрации β-CrossLaps и P1NP и показатель Z-score по данным ДЭРА у детей с разными типами ГБ (*n*=49)

Показатель	Тип ГБ				
	Ia *n*=9	Ib *n*=7	III *n*=8	VI *n*=6	IX *n*=19
β-CrossLaps, нг/мл	0,89 [0,42; 1,17]	0,47 [0,33; 0,73]	1,10 [0,95; 1,43]	1,16 [0,69; 1,94]	1,24 [0,67; 1,57]
	p_{1-2}=0,126, $\boldsymbol{p_{1-3}}$**=0,043**, p_{1-4}=0,189, p_{1-5}=0,074, $\boldsymbol{p_{2-3}}$**=0,003**, $\boldsymbol{p_{2-4}}$**=0,033**, $\boldsymbol{p_{2-5}}$**=0,004**, p_{3-4}=0,789, p_{3-5}=0,815, p_{4-5}=0,887				
P1NP, нг/мл	273,50 [201,45; 394,10]	176,55 [126,33; 323,08]	428,00 [377,23; 547,15]	352,15 [208,93; 412,95]	407,60 [311,00;459,93]
	p_{1-2}=0,239, $\boldsymbol{p_{1-3}}$**=0,016**, p_{1-4}=0,643, $\boldsymbol{p_{1-5}}$**=0,037**, $\boldsymbol{p_{2-3}}$**=0,010**, p_{2-4}=0,136, $\boldsymbol{p_{2-5}}$**=0,007**, p_{3-4}=0,089, p_{3-5}=0,325, p_{4-5}=0,227				
Z-score	–1,95 [–2,25; –0,40]	–1,70 [–2,10; –1,50]	–1,3 [–1,80; –1,20]	–0,70 [–0,90; –0,40]	–0,70 [–1,30; +0,18]
	p_{1-2}=0,695, p_{1-3}=0,518, p_{1-4}=0,193, p_{1-5}=0,069, p_{2-3}=0,301, $\boldsymbol{p_{2-4}}$**=0,049**, $\boldsymbol{p_{2-5}}$**=0,041**, $\boldsymbol{p_{3-4}}$**=0,016**, $\boldsymbol{p_{3-5}}$**=0,037**, p_{4-5}=0,838				

Примечание. p_{1-2} – достоверность различий между ГБ Ia и Ib подтипов; p_{1-3} – достоверность различий между ГБ Ia и III типов; p_{1-4} – достоверность различий между ГБ Ia и VI типов; p_{1-5} – достоверность различий между ГБ Ia и IX типов; p_{2-3} – достоверность различий между Ib и III типов; p_{2-4} – достоверность различий между ГБ Ib и VI типов; p_{2-5} – достоверность различий между ГБ Ib и IX типов; p_{3-4} – достоверность различий между ГБ III и VI типов; p_{4-5} – достоверность различий между ГБ VI и IX типов

Таким образом, как следует из представленных данных, наименьшая концентрация β-CrossLaps в сыворотке крови зафиксирована у пациентов с ГБ Ib подтипа по сравнению пациентами с III, VI и IX типами (p_{2-3}=0,003, p_{2-4}=0,033, p_{2-5}=0,004, соответственно). Кроме того, содержание этого маркера было значимо ниже при Ia подтипе в сравнении с типом III (p_{1-3}=0,043). Сходные изменения были выявлены и для P1NP, содержание которого было значимо ниже при Ia и Ib подтипах заболевания в сравнении с типами III и IX (p_{1-3}=0,016, p_{1-5}=0,037, p_{2-3}=0,010, p_{2-5}=0,007, соответственно). По всей видимости, на основании полученных результатов можно констатировать факт низкой интенсивности процессов костного ремоделирования у детей с наиболее тяжелым с точки зрения метаболической декомпенсации – I типом ГБ и, напротив, их высокой интенсивности при более легких – III, VI и IX типах заболевания. Об этом также могут свидетельствовать и результаты ДЭРА – МПКТ при ГБ Ib подтипа была достоверно ниже таковой при типах VI и IX (p_{2-4}=0,049, p_{2-5}=0,041, соответственно). Наши предположения дополнительно подтверждаются наличием разнообразных взаимосвязей указанных биомаркеров с показателями костного возраста и МПКТ. Так, тип ГБ прямо коррелировал с концентрациями β-CrossLaps (r_s=0,349, p=0,014) и P1NP (r_s=0,345, p=0,015) в сыворотке крови, а также с показателем Z-score (r_s=0,542, p=0,004), по данным ДЭРА, характеризуя различную интенсивность костного ремоделирования при разных типах заболевания. Концентрация остеокальцина прямо коррелировала с календарным (r_s=0,301, p=0,035) и костным возрастом (r_s=0,406, p=0,010), концентрациями β-CrossLaps (r_s=0,696, p=0,000) и P1NP (r_s=0,599, p=0,000), отрицательно – с прозрачностью костной ткани (r_s=0,587, p=0,000). Витамин D 25-OH имел отрицательную взаимосвязь с содержанием β-CrossLaps (r_s= –0,329, p=0,022). В свою очередь, β-CrossLaps прямо коррелировал с концентрацией P1NP (r_s= 0,720, p=0,000), но отрицательно с прозрачностью костной ткани (r_s= –0,499, p=0,000), так же, как и P1NP (r_s= –0,350, p=0,029). В этой связи закономерны и другие корреляции, подтверждающие правомочность предложенной нами гипотезы: паспортный возраст тесно взаимосвязан с костным (r_s=0,937, p=0,000) и показателем BMD (r_s=0,676, p=0,000), который в свою очередь прямо коррелирует с Z-score (r_s=0,423, p=0,028). При этом, прозрачность костной ткани отрицательно связана со значениями костного (r_s= –0,501, p=0,001) и паспортного (r_s= –0,407, p=0,010) возрастов.

Молекулярно-генетическая характеристика детей с гликогеновой болезнью

Для улучшения качества диагностики ГБ нами была разработана следующая методика (получен патент № 2621161 от 31.05.2017 г.). Пациентам осуществляли выделение геномной ДНК с помощью набора реактивов DNeasy Blood & Tissue Kit (Германия) на автоматической станции QIAcube (Германия). Качество и количество выделенной геномной ДНК исследовали при помощи прибора NanoView (Швеция). Геномная ДНК, соответствующая

всем необходимым требованиям, была отправлена на молекулярно-генетическую диагностику методом массового параллельного секвенирования, подразумевающим мультиплексную диагностику таргетных областей 20 генов: *GYS1, GYS2, G6PC, SLC37A4, GAA, AGL, GBE1, PYGM, PYGL, PFKM, PHKA2, PHKB, PHKG2, PHKA1, PGAM2, PGM1, LDHA, ALDOA, ENO3* и *GYG1*, мутации в которых приводят к развитию известных форм ГБ. Под таргетными областями подразумевали все промоторные, кодирующие и прилегающие интронные области этих 20 генов. Таргетные области, включающие 54605 п.н., были обогащены со средним покрытием 100X. Длина среднего прочтения одного фрагмента составила 200 п.н. Пробоподготовка и массовое параллельное секвенирование осуществляли на оборудовании Ion S5 (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с протоколами и рекомендациями производителя. Все найденные варианты исследованных генов с частотой встречаемости менее 1,0% по базам Exac и 1000 Genomes, в том числе новые нуклеотидные замены, неописанные в мире ранее, были подвергнуты биоинформационному анализу с использованием программ Alamut Focus и Alamut Visual (Interactive Biosoftware, Франция) на предмет возможной патогенности и валидированы при помощи метода секвенирования по Сэнгеру. Неописанные ранее мутации, патогенность которых была подтверждена биоинформационным путем, подвергали семейному анализу. Для валидации разработанной технологии олигонуклеотиды были подобраны на все кодирующие последовательности генов, входящих в исследуемую панель, заблаговременно.

Поиск нуклеотидных последовательностей генов проводили в биоинформационной базе данных National Center for Biotechnological Information, США. Для поиска консервативных участков использовали программу BLAST. Последовательности олигонуклеотидов подбирали с помощью программы Beacon Designer 8.10. Проверку специфичности пар праймеров проводили с помощью программы Primer-BLAST. Для проведения секвенирования по Сэнгеру всю исходную геномную ДНК подвергали амплификации на оборудовании ProFlex™ PCR System, (Thermo Fisher Scientific, США). Продукты амплификации секвенировали при помощи набора реактивов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с протоколами и рекомендациями производителя на оборудовании ABI 3500X (Thermo Fisher Scientific, США). Получен патент на изобретение № 2621161 от 31.05.2017 г.

Разработанный нами метод массового параллельного секвенирования позволил верифицировать диагноз «ГБ» у 74 пациентов. Как видно из представленных данных, мальчики преобладали над девочками – 47 (63,5%) против 27 (36,5%). Среди выявленных мутаций чаще всего встречались **патогенные варианты гена *PHKA2***, ответственные за развитие ГБ IXa подтипа. Так, мутации в этом гене обнаружены у 21 пациента (28,4%), из 12 различных вариантов гена *PHKA2* **не описанные ранее в мире** мутациями оказались 6 (50,0%), а именно:

- 3 миссенс мутации: *c.133C>T (p.Arg45Trp),* встретившаяся дважды у неродственных пациентов, *c.755C>T (p.S252F)* и *c.772G>A (p.G258R)*;
- 2 нонсенс мутации: *c.903T>G (p.W301X)* и *c.3277C>T (p.Q1093X)*;
- 1 мутация *c.919-2A>G*, приводящая к нарушению сайта сплайсинга.

В гене *AGL* мутации, ответственные за развитие ГБ III типа, были обнаружены у 20 (27,0%) детей. Среди 15 различных мутаций 8 (53,3%) оказались **не описанными ранее:**

- 4 миссенс мутации: *c.643G>C (p.Asp215His), c.1289T>C (p.Phe430Ser),* выявленная дважды у неродственных пациентов, *c.1667T>C (p.Leu556Pro),* выявленная дважды у неродственных пациентов, и *c.2390A>G (p.Asn797Ser)*;
- 1 нонсенс мутация *c.1218T>A (p.Tyr406X),*
- 2 мутации *c.1900-13T>A* и *c.1735+5G>A*, оказывающие влияние на сплайсинг;
- 1 дупликация, приводящая к сдвигу рамки считывания *c.4089dup, p.Asp1364Argfs*2*.

Мутации гена *SLC37A4*, приводящие к развитию ГБ Ib подтипа, встретились у 15 (20,3%) человек. Среди 15 различных выявленных мутаций 8 (53,3%) **не были описаны** в мире ранее:

- 6 миссенс мутаций: *c.2T>C (p.M1?), c.85A>G (p.K29E), c.148G>A (p.G50R), c.209T>C (p.Leu70Pro), c.898C>A (p.Arg370Ser)* и *c.1016G>T (p.Gly339Val)*, встретившаяся у трех больных детей из неродственных семей;
- 1 нонсенс мутация *c.413G>A (p.Trp138X)*;

- 1 инсерция *c.1077_1078insG (p.Asn360Glufs*42)*.

У 7 (9,5%) человек были обнаружены 3 различные **мутации гена *G6PC***, ответственные за развитие ГБ Ia подтипа, все они были описаны ранее.

У 5 (6,8%) человек были выявлены 6 разных **вариантов гена *PYGL***, приводящих к ГБ VI типа, среди которых 4 (66,67%) оказались **новыми**:

- 4 миссенс мутации: *c.176C>G (p.Thr59Arg), c.475C>T (p.G159C), c.697G>A (p.G233S)* и *c.841T>A (p.Tyr281Asn).*

У 4 (5,4%) детей удалось обнаружить 5 различных **мутаций гена *PHKG2***, ответственных за развитие ГБ IXc подтипа, 2 (40,0%) из которых оказались **не описанными ранее**:

- 2 миссенс мутации: *c.584C>T (p.A195V)* и *c.658G>A (p.G220R).*

У одного (1,4%) ребенка были выявлены 2 **не описанные ранее мутации гена *GBE1***, ответственные за развитие ГБ IV типа:

- 2 миссенс мутации: *c.427A>G (p.Lys143Glu)* и *c.1583A>G (p.His528Arg).*

Еще у одного ребенка (1,4%) была обнаружена **новая мутация в гене *PHKA1***, приводящая к ГБ IXd подтипа:

- *c.776T>C (p.Leu259Pro)*.

Среди частых мутаций, характерных для российской популяции детей с ГБ, обнаруженных в ходе исследования, можно выделить миссенс мутацию *c.247C>T*, приводящую к замене аминокислотных остатков *p.Arg83Cys* гена *G6PC*, встретившаяся в 11 (78,6%) аллельных вариантах из 14 возможных. В гене *SLC37A4* частая мутация – это делеция двух нуклеотидов *c.1042_1043del*, приводящая к сдвигу рамки считывания *p.Leu348Valfs*53*, обнаруженная в 11 (39,3%) аллельных вариантах из 28 возможных (из двух родных братьев учтен один). В гене *AGL* удалось выявить 2 мутации, характерные для российских детей с ГБ III типа: нонсенс мутация *c.3980G>A*, приводящая к преждевременной терминации трансляции *p.Trp1327X*, найденная в 10 (25,0%) аллельных вариантах из 40 возможных, и мутация *c.1423+1G>A*, оказывающая влияние на сайт сплайсинга, найденная в 6 (15,8%) аллельных вариантах из 38 возможных (из двух родных братьев учтен один). В гене *PHKA2* чаще всех прочих была обнаружена мутация *c.884G>A, p.R295H*, выявленная у 3 (15,0%) неродственных пациентов из 20 неродственных детей с диагнозом ГБ IX типа, установленным в ходе исследования (из двух родных братьев учтен один). Остальные мутации встречались с частотой, не превышающей 10,0%. Секвенирование по Сэнгеру подтвердило чувствительность 100,0% и специфичность 100,0% технологии массивного параллельного секвенирования для поиска однонуклеотидных замен в кодирующих и прилегающих интронных областях, а также для поиска небольших делеций и дупликаций генов, мутации в которых приводят к развитию ГБ.

Оценка стадии фиброза печени с помощью транзиентной эластографии печени у детей с гликогеновой болезнью

При проведении ТЭП были получены различные результаты, характеризующие состояние структуры печени у детей с ГБ, МВ и МПС. В Таблице 9 представлено распределение обследованных пациентов в зависимости от стадий ФП, определенных с помощью ТЭП.

Как видно, по данным ТЭП, у 29 (53,7%) из 54 детей с ГБ фиброза не выявлено, у 25 (46,3%) зафиксированы изменения печеночной паренхимы (колебания медианы составили от 6,1 до 18,6 кПа). У 99 (70,2%) детей из 141 ребенка с МВ фиброз отсутствовал, однако у остальных 42 (29,8%) отмечались фибротические изменения различной степени выраженности (колебания медианы составили от 5,9 до 48,0 кПа).

Таблица 9 – Распределение пациентов с ГБ, МВ и МПС по степени выраженности ФП по данным ТЭП

Стадия фиброза по шкале METAVIR	Количество пациентов, абс. / %		
	ГБ	МВ	МПС
F0	29 / 53,7	99 / 70,2	18 / 72,0
F1	16 / 29,6	14 / 9,9	2 / 8,0
F2	3 / 5,6	11 / 7,8	2 / 8,0
F3	1 / 1,9	7 / 5,0	2 / 8,0
F4	5 / 9,2	10 / 7,1	1 / 4,0

У 18 (72,0%) из 25 детей с МПС данных за ФП не получено, у других 7 (28,0%) пациентов имели место фибротические изменения (колебания медианы составили от 6,1 до 13,1 кПа). Причем цирроз печени выявлен у 5 (9,2%) пациентов с ГБ, у 10 (7,1%) с МВ и у 1 (4,0%) с МПС.

В Таблице 10 приведены медианы и интерквартильные размахи значений ТЭП у обследованных пациентов с ГБ в сравнении с пациентами с другими редкими болезнями – МВ и МПС – в зависимости от стадии фиброза по шкале METAVIR. Все показатели, согласно критерию Краскела-Уоллиса, достоверно различались между собой в пределах каждой нозологической формы заболевания (p=0,000).

Таблица 10 – Показатели ТЭП у детей с МВ, МПС и ГБ в зависимости от стадии фиброза по шкале METAVIR

Стадия фиброза по шкале METAVIR	**Нозологическая форма**			***p (К-У)***
	ГБ	**МВ**	**МПС**	
F0	4,2 [3,5; 4,7]	4,0 [3,7; 4,6]	4,2 [3,7; 4,5]	**0,000**
F1	6,2 [6,1; 6,5]	6,3 [6,0; 6,4]	6,6 [6,1; 7,1]	**0,000**
F2	8,0 [7,2; 8,8]	7,9 [7,6; 8,3]	8,7 [8,6; 8,8]	**0,000**
F3	-	10,3 [9,8; 10,7]	10,5 [10,1; 10,8]	**0,000**
F4	15,5 [12,5; 18,6]	23,6 [14,0; 40,3]	-	**0,000**

Примечание. *p* (К-У) – оценка достоверности различий по методу Краскела-Уоллиса

Важно отметить, что у 16 (55,2%) из 29 пациентов с ГБ, имевших медиану эластичности, соответствующую отсутствию фиброза (F0), результаты ТЭП характеризовались выраженной неоднородностью: в отдельных измерениях у них были зафиксированы повышенные показатели от 6,3 до 69,1 кПа. Сходные результаты отмечались и в группах детей с МВ и МПС. Так, у 40 (40,4%) из 99 детей с МВ и у 14 (77,8%) из 18 пациентов с МПС, имевших медиану, соответствующую стадии F0, обнаруживали отдельные очаги с повышенными значениями от 5,9 до 75,0 кПа. Как видно из Таблицы 11, ТЭП позволяет выявить структурное поражение печени при ГБ у детей даже при отсутствии лабораторных изменений.

Таблица 11 – Лабораторные показатели у детей с ГБ и МВ без поражения печени и с циррозом по данным ТЭП

Показатель	**ГБ**		***p (М-У)***	**МВ**		***p (М-У)***
	F0	*F4*		*F0*	*F4*	
АЛТ, МЕ/л	98,0 [48,5; 217,5]	123,0 [21,0; 135,0]	0,587	17,5 [15; 23]	31,5 [19; 56]	0,314
АСТ, МЕ/л	110,0 [43,0; 218,5]	156,0 [24,0; 221,0]	0,473	30,0 [24; 34]	60,0 [30; 61]	0,447
ГГТ, МЕ/л	36,0 [12,5; 59,0]	77,0 [9,0; 320,0]	0,119	12 [9; 16]	15 [11; 18]	0,613
ЩФ, МЕ/л	215,0 [168,0; 235,5]	258,0 [223,0; 265,0]	0,491	243,0 [186; 269]	349 [323; 410]	**0,017**
Протромбиновый индекс, %	110,0 [107,0; 114,0]	118,0 [110,0; 127,0]	0,402	98 [86; 104]	77,5 [72,5; 88,5]	**0,024**
Международное нормализованное отношение	0,95 [0,92; 0,97]	0,91 [0,87; 0,95]	0,676	1,0 [0,98; 1,1]	1,19 [1,09; 1,24]	**0,038**

Особенности визуализации органов брюшной полости и почек у детей с гликогеновой болезнью по данным компьютерной томографии

По результатам КТ, у всех 59 (100,0%) детей с ГБ была выявлена значительная гепатомегалия, с диспропорцией долей и увеличением индекса I сегмента. В то же время при БВ такие изменения отмечены лишь у 11 (40,7%) из 27 пациентов (Таблица 12).

Таблица 12 – Параметры печени и селезенки у детей с ГБ, БВ и контрольной группы по данным компьютерной томографии (*n*=193)

Параметр	Все дети с ГБ			БВ (*n*=27)	Здоровые (*n*=107)	Достоверность *p*
	Ia/Ib подтипы (*n*=18)	III тип (*n*=21)	VI/IX типы (*n*=20)			
Увеличение ПЗР ПД печени, %	31,20 17,50; 40,60 12,50-53,30	24,30 17,80; 31,86 6,60-49,30	25,50 22,90; 32,80 2,00-46,60	7,00 4,5; 10,10 0,00-27,00	-	***p*1-4=0,000** ***p*2-4=0,000** ***p*3-4=0,000**
Увеличение ПЗР ЛД печени, %	45,80 39,50; 52,0 22,90-70,80	39,50 33,30; 51,43 11,60-75,00	41,60 30,00; 50,00 3,30-52,00	3,10 0,00; 13,30 0,00-51,60	-	***p*1-4=0,000** ***p*2-4=0,000** ***p*3-4=0,000**
Индекс I сегмента	0,42 0,37; 0,47 0,29-0,50	0,40 0,36; 0,47 0,20-0,56	0,40 0,36; 0,40 0,28-0,60	0,32 0,30; 0,36 0,25-0,44	0,31 0,29; 0,37 0,27-,0,39	***p*1-4=0,001** ***p*2-4=0,000** ***p*3-4=0,001**
Рентгеновская плотность паренхимы печени, ед. Х	55,5 48,8; 64,4 21,5-82,0	81,0 78,25; 85,00 73,00-94,00	83,75 77,63; 87,88 75,50-94,50	55,5 44,75; 62,00 39,00-77,00	57,5 55,25; 67,38 53,0-70,0	***p*1-2=0,000** ***p1*-3=0,000** ***p*2-4=0,000** ***p*2-5=0,000**
Рентгеновская плотность паренхимы селезенки, ед. Х.	50,00 49,50; 52,00 48,00-54,00	51,00 50,00; 52,00 47,00-55,50	50,25 48,13; 52,00 46,50-54,00	50,00 49,25; 52,75 40,00-56,00	51,55 47,80; 53,74 45,0-55,0	н/д
Печеночно-селезеночный индекс	1,12 0,94; 1,26 0,41-1,64	1,61 1,48; 1,70 1,41-1,92	1,67 1,54; 1,73 1,46-1,81	1,06 0,91; 1,27 0,74-1,54	1,16 0,92; 1,21 0,86-1,34	***p*1-2=0,000** ***p1*-3=0,000** ***p*2-4=0,000** ***p*2-5=0,000**
Рентгеновская плотность коркового вещества почек, ед. Х	43,25 33,50; 47,63 29,00-53,00	35,00 30,50; 40,00 30,00-45,00	36,00 33,13; 37,75 32,00-40,00	36,55 34,14; 37,82 32,00-39,00	33,00 32,50; 36,78 30,00-42,00	***p*1-2=0,029** ***p1*-3=0,033** ***p*1-4=0,031** ***p*1-5=0,027**

Примечание. ПЗР ПД – передне-задний размер правой доли; ПЗР ЛД – передне-задний размер левой доли; *p*1-2 – достоверность различий между пациентами с ГБ Ia/Ib и III типов; *p*1-3 – между ГБ Ia/Ib и VI/IX типов; *p*1-4 – между ГБ Ia/Ib подтипов и БВ; *p*1-5 – между ГБ Ia/Ib подтипов и здоровыми; *p*2-3 – между ГБ III и VI/IX типов; *p*2-4 – между ГБ III типа и БВ; *p*2-5 – между ГБ III типа и здоровыми; *p*3-4 – между ГБ VI/IX типов и БВ; *p*3-5 – между ГБ VI/IX типов и здоровыми; *p*4-5 – между БВ и здоровыми; н/д – не достоверно

В большинстве наблюдений – 53 (89,8%) ребенка с ГБ из 59 – контур печени был ровным и лишь у 6 больных (10,2%) с ГБ III типа отмечалась его бугристость. У этих же пациентов в паренхиме печени выявлены множественные регенераторные узлы, указывавшие на наличие цирроза. У двоих из этих пациентов была проведена пункционная биопсия печени и при морфологическом исследовании подтверждена цирротическая трансформация органа. Неровность контура печени отмечена у 9 (33,3%) детей из группы сравнения.

Полученные значения рентгеновской плотности паренхимы печени в заданных участках, измеряемые в нативную фазу исследования, у детей с ГБ колебались в диапазоне от +21,5 до +94,0 ед. Х, причем диффузное снижение этих показателей, свидетельствовавшее о жировом гепатозе, наблюдалось только у детей с Ia/Ib подтипами – в 6 (40,0%) из 15 случаях. Необходимо отметить, что среди этих 6 пациентов было двое детей раннего возраста (6 мес и 1,5 года) с тяжелым течением ГБ, на фоне чего произошло быстрое развитие диффузной жировой инфильтрации печени. У 1 (6,7%) ребенка с ГБ Ib подтипа плотность печени была повышена, а у остальных 8 (53,3%) находилась в пределах нормальных значений. У всех (100,0%) пациентов с ГБ III, VI/IX типов денситометрические показатели печеночной паренхимы были повышены. У детей из группы сравнения колебания плотности печени находились в диапазоне от +39,0 до +77,0 ед. Х. Нормальные денситометрические показатели имели место у 15 (55,6%), их снижение зафиксировано у 10 (37,0%), а повышение – у 2 (7,4%) пациентов.

Согласно результатам применения критерия Краскела-Уоллиса, между исследуемыми группами детей были выявлены различия по следующим показателям: процент увеличения ПЗР правой (p=0,000) и левой (p=0,000) долей печени относительно нормы, увеличение индекса I сегмента (p=0,001), значения средней рентгеновской плотности печени (p=0,000) и почек (p=0,013), а также ПСИ (p=0,000). При дальнейших парных сравнениях с помощью критерия Манна-Уитни оказалось, что процент увеличения ПЗР правой и левой долей печени был достоверно больше у детей с ГБ (вне зависимости от типа) по сравнению с пациентами с БВ (p1-4=0,000, p2-4=0,000, p3-4=0,001; p1-4=0,000, p2-4=0,000, p3-4=0,001, соответственно). Аналогичные изменения отмечены и для индекса I сегмента (p1-4=0,001, p2-4=0,002, p3-4=0,002).

Средние значения плотности печени и ПСИ были достоверно выше у детей с III, VI/IX типами ГБ по сравнению с пациентами с Ia/Ib подтипами, БВ и здоровыми детьми (p1-2=0,000, p1-3=0,000, p2-4=0,000, p2-5=0,000; p1-2=0,000, p1-3=0,000, p2-4=0,000, p2-4=0,000, соответственно). Значимых различий этих показателей между пациентами с ГБ Ia/Ib подтипов и с БВ не зафиксировано (p1-4=0,772; p1-4=0,258, соответственно). Интересно отметить, что нами была выявлена обратная взаимосвязь между выраженностью гепатомегалии и возрастом у детей с ГБ. Так, процент увеличения правой и левой долей печени уменьшался по мере взросления ребенка с ГБ (r_s=-0,536, p=0,000; r_s=-0,363, p=0,018), что мы связываем с эффектом от длительной терапии СКК и гепатопротекторами. При этом, установлена однонаправленная зависимость размеров обеих долей печени (r_s=0,617, p=0,000). Закономерно, что показатели плотности печени сильно коррелировали со значениями ПСИ (r_s=0,943, p=0,000). Также была выявлена положительная взаимосвязь значений рентгеновской плотности паренхимы печени и ПСИ с типом ГБ (r_s=0,685, p=0,000; r_s=0,713, p=0,000, соответственно).

У 5 (8,47%) из 59 пациентов независимо от типа ГБ выявлен фокальный гепатоз, участки которого имели размеры от 25 до 80 мм. У всех 10 детей с БВ, имевших жировой гепатоз, последний носил диффузный характер. У двоих пациентов (оба мальчики) с ГБ Ib подтипа отмечались аденомы печени. У одного ребенка 8 лет имела место одна аденома, у второго ребенка 12 лет, с отсутствием приверженности лечению, с тяжелым течением ГБ, визуализировались множественные аденомы печени, которые развились в течение 4 лет, когда ребенок и родители не соблюдали врачебные рекомендации.

Также у 8 (13,6%) из 59 пациентов обнаружено незначительное увеличение селезенки, у 9 (15,3%) детей – расширение диаметра воротной вены, из них у 4 – селезеночной вены. Эти признаки косвенно свидетельствовали о наличии у данных больных признаков портальной гипертензии. В группе сравнения расширение диаметра воротной вены выявлено у 11 (40,7%) пациентов, из них 9 имели расширение диаметра и селезеночной вены.

У 23 (95,8%) из 24 детей с ГБ, которым проводили внутривенное болюсное контрастное усиление, в паренхиматозную фазу отмечалось снижение накопления рентгенконтрастного препарата в паренхиме печени на 5,0-80,0%, в среднем на 42,2% [32,49; 51,91] по сравнению с указанной нормой, что свидетельствовало о снижении функции органа. Увеличение размеров почек зафиксировано только у пациентов с ГБ Ia/Ib подтипов (подгруппа I): у 14 (77,8%) из 18

детей, у детей с другими типами ГБ и с БВ почки увеличены не были. При этом обращало на себя внимание изменение денситометрических показателей коркового вещества почек у 11 (61,1%) из 18 пациентов с ГБ Ia/Ib подтипов, которые были достоверно выше, чем при ГБ III, VI/IX типов, при БВ и у здоровых детей (p1-2=0,029, p1-3=0,033, p1-4=0,031, p1-5=0,027, соответственно).

Морфологические изменения печени у детей с гликогеновой болезнью

Анализ данных, внесенных в регистр, позволил установить, что при микроскопическом исследовании биоптатов всей выборки детей (n=51, 100%), у которых была проведена ПБП, обнаружены выраженные дегенеративные изменения печени. Паренхима органа напоминала «растительную» ткань, определялись поля увеличенных в размерах гепатоцитов, имевших «штампованный» вид, очень светлую или «оптически пустую» цитоплазму, четко контурированную мембрану и смещенное на периферию клетки ядро.

У 20 (39,2%) детей в гепатоцитах, располагавшихся в перипортальных зонах, а также вблизи фиброзных септ, выявлялись увеличенные в размерах за счет гликогеновой вакуолизации ядра. Наряду с этим, у 37 (72,6%) детей в цитоплазме гепатоцитов с различной степенью выраженности присутствовали мелко- или крупнокапельная жировая, белковая и гидропическая дистрофия вплоть до «баллонной», с некробиозом и некрозом групп клеток. Указанные изменения приводили к дискомплектации балочного строения долек.

Признаки воспаления в печени при ГБ отсутствовали у 33 (64,7%) и были выражены минимально у 9 (17,7%) детей. Они представляли собой скудные лимфогистиоцитарные инфильтраты, обычно не выходящие за пределы портальных трактов. У 7 (13,7%) больных обнаружены явления перигепатита, т.е. внедрение воспалительных инфильтратов в периферические отделы долек с разрушением гепатоцитов пограничной пластинки. Высокая степень гистологической активности зафиксирована только у 1 (2,0%) ребенка с ГБ.

У 13 (25,5%) человек определялось неравномерное очаговое расширение и полнокровие синусоидов с явлениями перигепатоцеллюлярного фиброза и облитерацией их просвета (феномен «капилляризации»). Также отмечалось разрастание ретикулиновых и коллагеновых волокон на месте распада гепатоцитов с образованием ограниченных фиброзных участков в дольках.

Портальный и перипортальный фиброз имел место у всех 51 (100,0%) больного, порто-портальные соединительно-тканные септы – у 28 (54,9%), порто-центральные септы – у 3 (5,9%) пациентов. Фиброз стенок центральных вен зафиксирован у 12 (23,5%) детей. На фоне указанных изменений происходило нарушение архитектоники органа. Цирроз, микроскопически выражавшийся формированием т.н. «ложных долек», обнаружен у 10 (19,6%) пациентов.

У всей выборки детей (n=51, 100%) при проведении ШИК-реакции в цитоплазме гепатоцитов установлено неравномерное глыбчатое распределение гликогена, часто скапливавшегося в больших количествах, который вымывался в контроле амилазой у 50 (98,0%) детей и был резистентен к амилазе только у 1 (2,0%) ребенка с ГБ IV типа.

При сравнительном анализе полученных данных выявлены определенные морфологические различия между I, III и VI/IX типом ГБ по степени выраженности фиброза и воспалительной активности (Таблицы 13, 14), а также наличию дегенеративных изменений в гепатоцитах. Ребенок с ГБ IV типа не учитывался, в связи с тем, что был единственным в своей группе.

Таблица 13 - Индекс гистологической активности по R.G. Knodell у детей с разными типами ГБ (n =51)

Тип гликогеновой болезни	Значение индекса гистологической активности, баллы				
	0 Абс. / %	1–3 Абс. / %	4–8 Абс. / %	9–12 Абс. / %	13–18 Абс. / %
I (n=6)	2 / 33,3	1 / 16,7	3 / 50,0	–	–
III (n=18)	13 / 72,2	3 / 16,7	1 / 5,6	–	1 / 5,6
IV (n=1)	–	1 / 100,0	–	–	–
VI/IX (n=26)	18 / 69,2	5 / 19,2	3 / 11,5	–	–

Таблица 14 – Гистологический индекс склероза по V.J. Desmet у детей с разными типами ГБ (*n*=51)

Тип гликогеновой болезни	Значение гистологического индекса склероза, баллы			
	1 Абс. / %	2 Абс. / %	3 Абс. / %	4 Абс. / %
I (*n*=6)	–	5 / 83,3	–	1 / 16,7
III (*n*=18)	3 / 16,7	6 / 33,3	2 / 11,1	7 / 38,9
IV (*n*=1)	–	–	1 / 100,0	–
VI/IX (*n*=26)	7 / 26,9	16 / 61,5	1 / 3,9	2 / 7,7

При I типе ГБ выраженная белковая, а также мелко- и крупнокапельная жировая дистрофия гепатоцитов с их некробиозом и некрозом определялась у 4 (66,7%) детей. Гликогеновая вакуолизация ядер зарегистрирована у 5 (83,3%) пациентов. Воспалительная инфильтрация выявлена у 4 (66,7%) больных. Цирроз зафиксирован в 1 (16,7%) случае. При III типе ГБ выраженной дистрофии гепатоцитов не отмечалось. Гликогеновая вакуолизация ядер имела место у 7 (38,9%) детей. Признаки воспаления выявлены у 5 (27,8%), цирротическая трансформация печени – у 7 (38,9%) человек. При VI/IX типе ГБ дегенеративные изменения печеночных клеток обнаружены у 8 (30,8%), гликогеновая вакуолизация ядер – у 6 (23,1%) детей. Гистологическая активность зафиксирована у 8 (30,8%) больных. Цирроз отмечен в 2 (7,7%) случаях.

Оценка нарушений функции печени у детей с гликогеновой болезнью

По результатам оценки СНФП по балльной системе было выявлено, что 25 (78,1%) из 32 детей, которым была проведена ПБП, имели тяжелые нарушения функции печени и только 7 (21,9%) – умеренные. Количество баллов по шкале оценки СНФП колебалось от 4 до 35, медиана составила 21,0 [17,0; 27,0] балл.

Оценка нарушений углеводного обмена у детей с гликогеновой болезнью по данным системы непрерывного мониторинга глюкозы

По данным системы непрерывного мониторинга уровня глюкозы, суточные колебания уровня глюкозы варьировали в каждой из трех представленных групп пациентов. Важно отметить, что концентрация глюкозы в венозной крови натощак, измеренная однократно при поступлении пациентов в стационар, была ниже значения 3,3 ммоль/л лишь у 6 (26,1%) из 23 детей. В то же время, по данным 72-часового непрерывного мониторинга глюкзоы, гипогликемия была обнаружена у 19 (82,6%) из 23 детей, из них у 7 (36,8%) детей уровень глюкозы опускался ниже детектируемого диапазона (< 2,2 ммоль/л), причем ни пациентам, ни их родителям не было известно о большинстве таких эпизодов, поскольку они приходились на ночное время суток.

Только у троих детей (27,3%) с ГБ Ia и Ib подтипов гипогликемии не наблюдалось. У остальных 8 детей (72,7%) в течение суток наблюдались эпизоды гипогликемии, а их процент варьировал от 0,5 до 10 % от 72-часового времени исследования. У 7 пациентов из 11 (63,6%) детей гипогликемические эпизоды были зарегистрированы в ночное время суток, а у пятерых (45,5%) – их число преобладало над дневными эпизодами. Также важно отметить, что у 4-х пациентов этой группы (36,4%) уровень глюкозы опускался ниже детектируемых значений (<2,2ммоль/л). Среди пациентов с ГБ Ia/Ib подтипов только 6 (54,5%) из 11 детей следовали установленной диете. Падения уровня глюкозы ниже целевых значений были связаны с отсутствием в рационе систематического приема СКК и произвольным снижением его дозировки без учета характера пищевого рациона, с недостаточным количеством СКК при ночном приеме или полным игнорированием ночных приемов.

У всех (100,0%) пациентов с ГБ III типа наблюдались эпизоды гипогликемии (от 0,2 до 5,5% от времени 72-часового исследования). Максимальный процент гипогликемии и минимальный уровень глюкозы (< 2,2 ммоль/л) были зарегистрированы у пациента 5 лет 7 мес, впервые поступившего в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России и наблюдавшегося ранее по месту жительства с другим диагнозом. Интересно, что, согласно данным, полученным из дневников, все пациенты с III типом ГБ (100,0%) придерживались установленной диеты.

У 4 (66,7%) из 6 пациентов с ГБ VI/IX типов была зарегистрирована гипогликемия (от 2,9 до 13,6% от времени 72-часового профиля). Среди них было двое детей (50,0%), впервые поступивших в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России и ранее не обследованных по

поводу своего заболевания. У них уровень гликемии опускался ниже значения 2,2 ммоль/л в связи с неправильным балансом питательных веществ в рационе этих детей, недостаточной кратностью приема пищи и, возможно, необходимостью в разовом приеме СКК перед сном. При этом лишь двое (33,3%) из шести детей придерживались установленной диеты. Такая низкая приверженность лечению могла быть связана с тем, что при первичной госпитализации в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России (таких первичных пациентов было трое из шести детей третьей группы) родители еще не осознавали всю серьезность выявленной патологии ввиду минимальных клинических проявлений болезни у ребенка, что характерно для ГБ VI/IX типов.

Для более тщательного изучения влияния приверженности диетотерапии на значения биохимических показателей крови и результаты 72-часового мониторинга глюкозы дети были разделены на приверженных (n=14) и неприверженных пациентов (n=9). Такое разделение основывалось на данных пищевых дневников и мнении лечащего врача. Как уже описывалось выше, с помощью представленных дневников выявлялись имеющиеся проблемы приверженности лечению, среди которых имели место: недостаточная частота приемов пищи и количества потребляемых углеводов, пренебрежение ночными кормлениями, недостаточная кратность приема СКК и/или глюкозы, необоснованное уменьшение их дозы при разовом приеме, а также игнорирование приема СКК в ночное время. Все это приводило к недостаточному поддержанию гликемического профиля в целевых пределах в течение суток, а особенно ночью.

Как видно из Рисунка 7 А, Б, доля гипогликемии в течение 72-часового мониторинга глюкозы была достоверно выше у некомлаентных пациентов по сравнению с группой приверженных (p=0,044), а минимальный уровень глюкозы – достоверно ниже (p=0,020). Таким образом, у пациентов, неприверженных лечению, доля гипогликемий, а также их выраженность были значимо выше, чем у детей, соблюдавших диету и рекомендации врача.

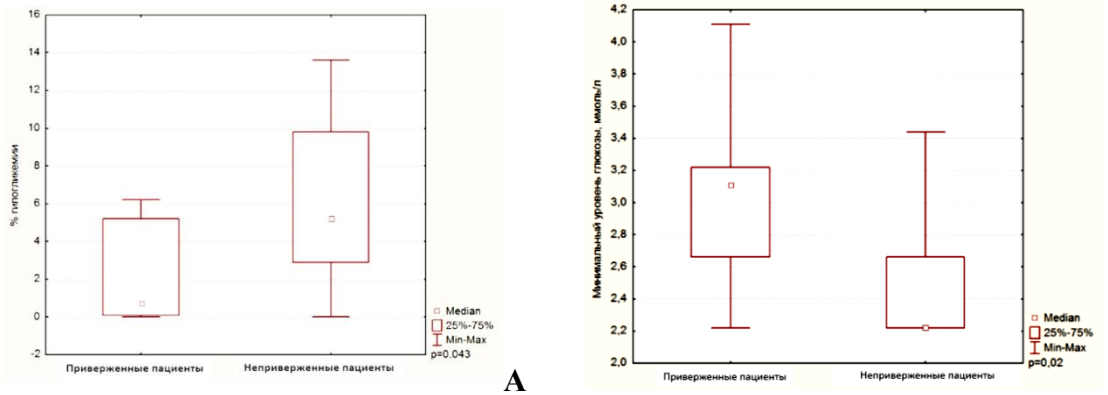


Рисунок 7 А, Б – Результаты 72-часового мониторинга глюкозы у приверженных и неприверженных лечению пациентов с ГБ: А – сравнение доли гипогликемий; Б – сравнение минимальных значений гликемии

Особый интерес для исследования представляли 7 пациентов (30,4%), первично поступивших в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России с подозрением на патологию печени, у которых впоследствии была диагностирована ГБ. У всех детей в ночное время суток наблюдалась гипогликемия, процент которой от времени мониторинга в среднем составил 5,2 [3,3; 7,4], что было значимо больше чем у повторных пациентов – 1,0 [0,1; 4,1] (p=0,045). Причем у 4 (57,1%) из 7 пациентов концентрация глюкозы опускалась ниже 2,2 ммоль/л.

Корреляционный анализ выявил наличие определенных взаимосвязей показателей суточного мониторирования глюкозы с основными лабораторными параметрами оценки степени тяжести детей с ГБ. Наиболее важными представляются выявленные корреляции между долей гипогликемии и кратностью обращений пациентов в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, а также приверженностью лечению. Так, доля гипогликемических состояний была больше у первичных больных с неверифицированным диагнозом (r_s=0,429, p<0,05), а также у неприверженных пациентов (r_s= -0,431, p<0,05), у которых, кроме того, отмечались и более выраженные снижения уровня глюкозы (r_s=0,505, p<0,05). Независимо от этого, чем больше была частота гипогликемий, тем выраженнее была и сама гипогликемия (r_s= -0,919, p<0,01).

Митохондриальная дисфункция у детей с гликогеновой болезнью

В результате анализа данных, внесенных в регистр, по данным критерия Краскела-Уоллиса, были выявлены достоверные (p=0,001) отличия активности СДГ (Рисунок 8 А) при ГБ по сравнению со здоровыми детьми (группа сравнения). При попарных сравнениях с помощью критерия Манна-Уитни оказалось, что активность СДГ значимо снижена при всех типах заболевания относительно группы сравнения по общему продукту реакции (p=0,000 для ГБ Ia/Ib подтипов; p=0,001 для ГБ III типа; p=0,007 для ГБ VI/IX типов), как за счет снижения количества активного фермента (снижение площади очагов ферментной реакции), так и за счет уменьшения интенсивности его работы (снижение оптических плотностей). Кроме того, было выявлено, что наиболее выраженное снижение активности СДГ (по общему продукту реакции) отмечалось у пациентов с ГБ I типа, по сравнению с детьми, страдающими III (p=0,000) и VI/IX типами (p=0,000), что соотносится с более тяжелым клиническим течением типа I у детей. Различий по активности СДГ между типами III и VI/IX не отмечено (p=0,995).

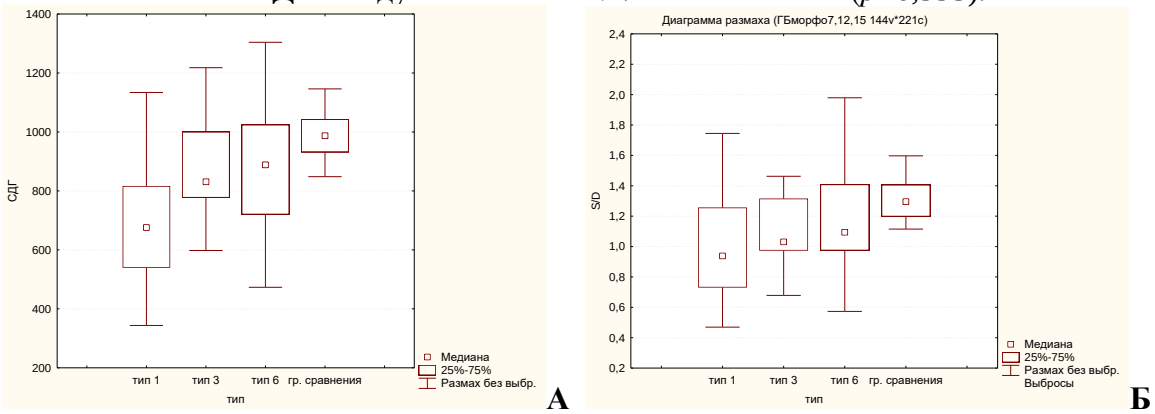


Рисунок 8 А, Б – Показатели активности внутриклеточных ферментов лимфоцитов периферической крови у пациентов с разными типами ГБ и у здоровых детей (группа сравнения): А – активность СДГ по общему продукту реакции; Б – соотношение СДГ/НАД-Н

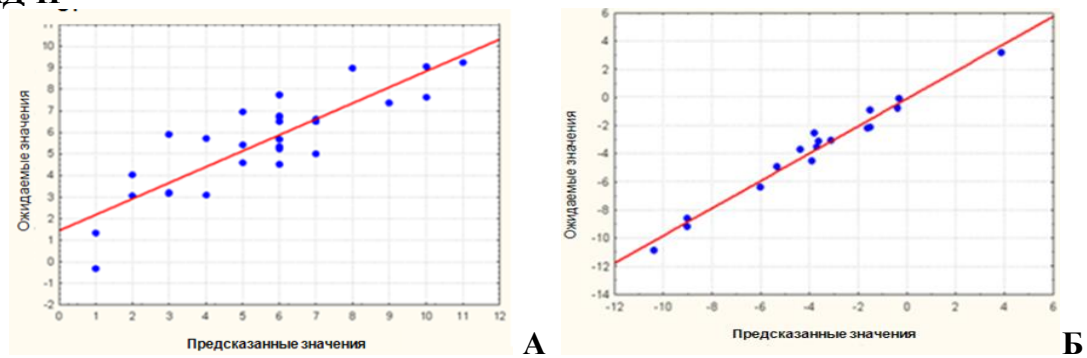


Рисунок 9 А, Б – Корреляции активности СДГ, НАДН-Д, ЛДГ лимфоцитов с клинико-лабораторными показателями: А – с выраженностью гепатомегалии (коэффициент множественной корреляции R=0,861); Б – со значением буферных оснований (коэффициент множественной корреляции R=0,987)

Также у пациентов с ГБ имело место нарушение соотношения между СДГ и НАДН-Д (Рисунок 8 Б). Так, если у здоровых детей (группа сравнения) активность СДГ существенно превышала НАДН-Д, и медиана индекса их соотношения составляла 1,303 [1,197-1,407], то во всех подгруппах пациентов с ГБ наблюдалось достоверное снижение этого индекса (p=0,000 при ГБ Ia/Ib подтипов; $p_{1\text{-}3}$=0,000 при ГБ III типа; $p_{1\text{-}4}$=0,009 при ГБ VI/IX типов). Кроме того, выявлено достоверное его снижение у детей с Ia/Ib подтипами по сравнению с VI/IX типами (p=0,012).

Как видно из представленных данных (Рисунок 9 А, Б), были выявлены взаимосвязи между активностью исследованных нами дегидрогеназ лимфоцитов (СДГ, НАДН-Д, ЛДГ) и важнейшими клинико-лабораторными характеристиками течения заболевания, а именно: выраженностью гепатомегалии (коэффициент множественной корреляции R=0,861) и дефицитом буферных оснований в сыворотке крови (коэффициент множественной корреляции

R=0,987), что свидетельствует об информативности и объективности цитохимических показателей в оценке тяжести состояния детей с ГБ.

Оценка эффективности длительной комбинированной терапии гликогеновой болезни

По результатам анализа данных, внесенных в регистр, установлено, что комбинированная терапия пациентов с ГБ на протяжении 7 госпитализаций (0-6-12-18-24-30-36 мес), согласно критерию Фридмана, имела выраженный клинический и биохимический эффект (Таблица 15).

Таблица 15 – Динамика некоторых клинико-гематологических показателей у детей с ГБ через 3 года от начала терапии

Показатель	**До лечения (*n*=74)**	**Через 3 года от начала терапии (*n*=70)**	***p***
Нижняя граница печени при перкуссии, см	8,75 [6,36; 10,00]	7,00 [4,20; 10,00]	**0,000**
Глюкоза	2,90 [2,00; 3,30]	4,03 [3,54; 4,78]	**0,000**
АЛТ	229,00 [107,00; 437,25]	70,40 [33,00; 153,50]	**0,000**
АСТ	272,50 [119,75; 552,50]	73,00 [40,00; 167,00]	**0,000**
ГГТ	61,00 [40,00; 102,00]	32,00 [15,00; 53,00]	**0,000**
ЛДГ	293,00 [232,00; 507,00]	187,00 [142,50; 284,50]	**0,002**
Триглицериды	4,59 [2,46; 7,27]	1,81 [1,63; 3,74]	**0,012**
Холестерин	5,69 [4,26; 7,70]	4,77 [3,56; 5,37]	**0,020**

Таким образом, согласно критерию Фридмана, в среднем у детей с ГБ на фоне терапии отмечалась положительная динамика как по выраженности гепатомегалии, так и по некоторым лабораторным показателям.

Результаты оценки качества жизни детей с гликогеновой болезнью

При сравнении между собой ответов детей с ГБ и их родителей (Таблица 16) оказалось, что первые достоверно выше оценивают себя по показателям ФФ, ЭФ, СФ и ОБ (p=0,048, p=0,017, p=0,041, p=0,017, соответственно), поскольку, вероятно, не чувствуют себя больными, как и другие пациенты детского возраста с иными тяжелыми хроническими заболеваниями.

Таблица 16 – Сравнение ответов детей с ГБ и их родителей между собой

Показатели	**Отвечающие**		***p*** **(М-У)**
	Дети ($n_{детей}$=37)	**Родители ($n_{родит.}$=40)**	
ФФ	68,00 [48,00; 81,00]	54,50 [37,00; 74,00]	**0,048**
ЭФ	70,00 [60,00; 77,50]	60,00 [50,00; 70,00]	**0,017**
СФ	75,00 [61,00; 88,50]	70,00 [55,00; 80,00]	**0,041**
ФДС/ФШ	60,00 [47,50; 80,00]	55,00 [41,00; 66,00]	0,281
ОБ	69,05 [53,31; 79,35]	59,03 [47,01; 70,20]	**0,017**

При сопоставлении ответов детей группы контроля (здоровые) и пациентов с ГБ (Таблица 17) выявлено, что последние достоверно ниже оценивают свое КЖ по показателям ФФ, СФ, ФДС/ФШ и ОБ (p=0,000, p=0,002, p=0,001, p=0,000, соответственно).

Также было установлено, что родители пациентов с ГБ по всем показателям оценивают КЖ своих детей значительно ниже (Таблица 18), чем родители здоровых детей (p=0,000, p=0,000, p=0,003, p=0,003, p=0,000, соответственно).

Таблица 17 – Сопоставление ответов здоровых детей и пациентов с ГБ между собой

Показатели	**Группы отвечающих детей**		***p*** **(М-У)**
	Здоровые ($n_{детей}$=43)	**ГБ ($n_{детей}$=37)**	
ФФ	87,00 [81,00; 93,00]	68,00 [48,00; 81,00]	**0,000**
ЭФ	80,00 [65,00; 87,50]	70,00 [60,00; 77,50]	0,068
СФ	90,00 [75,00; 95,00]	75,00 [61,00; 88,50]	**0,002**
ФДС/ФШ	75,00 [67,50; 90,00]	60,00 [47,50; 80,00]	**0,001**
ОБ	82,61 [74,96; 89,00]	69,05 [53,31; 79,35]	0,000

Таблица 18 – Сопоставление ответов родителей здоровых детей и родителей пациентов с ГБ

Показатели	Группы отвечающих родителей		*p* (М-У)
	Здоровые дети ($n_{родит.}$=46)	Дети с ГБ ($n_{родит.}$=40)	
ФФ	84,00 [71,00; 96,00]	54,50 [37,00; 74,00]	**0,000**
ЭФ	75,00 [61,25; 85,00]	60,00 [50,00; 70,00]	**0,000**
СФ	80,00 [70,00; 100,00]	70,00 [55,00; 80,00]	**0,003**
ФДС/ФШ	66,00 [58,00; 75,00]	55,00 [41,00; 66,00]	**0,003**
ОБ	77,69 [68,56; 86,74]	59,03 [47,01; 70,20]	**0,000**

При сравнении ответов детей с ГБ Ia/Ib подтипов и их родителей были выявлены достоверные различия по показателям ФФ (p=0,026) и ОБ (p=0,025). Различий в ответах детей с ГБ III и VI/IX типов и их родителей выявлено не было.

При сравнении ответов родителей детей с ГБ Ia/Ib, III, VI/IX подтипов с помощью критерия Краскела-Уоллиса были выявлены различия по показателям ФФ (p=0,024), СФ (p=0,023) и ОБ (p=0,047). При дальнейших попарных сравнениях установлено, что наивысший балл по ФФ отмечался по данным родителей детей с наиболее легкими по течению VI, IX типами ГБ – 71,00 [56,00; 78,00], он был достоверно выше такового у пациентов с I и III типами ГБ – 40,00 [25,00; 62,00] (p=0,029) и 53,00 [35,50; 58,25] (p=0,012), соответственно. Данный факт отразился и на значении ОБ – он был самым высоким также у детей с ГБ VI/IX типов: 68,48 [50,00; 76,47] против 47,83 [42,39; 69,05] при ГБ Ia/Ib и 58,62 [45,94; 63,95] (p=0,036, p=0,035, соответственно).

Интересно, что самый низкий показатель по СФ зафиксирован у пациентов с III типом – 57,50 [53,75; 61,25] и достоверно отличался от такового при VI/IX типах – 75,00 [70,00; 85,00] (p=0,005). Между ответами всей выборки детей с разными типами ГБ достоверных различий, по данным критерия Краскела-Уоллиса, не зафиксировано: ФФ – p=0,137, ЭФ – p=0,963, СФ – p=0,485, ФДС/ФШ – p=0,781, ОБ – p=0,544.

Также было установлено, что показатель ЭФ по ответам детей с ГБ был значимо выше (p=0,029), чем таковой при ФКУ – 70,00 [60,00; 77,50] против 60,00 [50,00; 70,00]. При этом по ответам родителей оказалось, что показатель ФФ достоверно ниже (p=0,001) у детей с ГБ, чем при ФКУ – 53,00 [31,00; 74,00] против 75,00 [59,00; 85,50], что отразилось и на ОБ (изменения были аналогичны) – 57,07 [45,92; 70,06] против 65,22 [58,15; 76,08], p=0,029. В то же время по ответам родителей дети с ГБ значительно превосходили пациентов с МПС по показателям СФ: 70,00 [55,00; 80,00] против 52,50 [40,75; 75,00], p=0,021. Другие показатели у детей с данными заболеваниями не различались.

При проведении корреляционного анализа были выявлены взаимосвязи показателей КЖ (по данным опроса детей) и некоторых клинико-лабораторных параметров. Так, установлены отрицательные сильные связи между степенью ФФ и наличием пальмарной эритемы (внепеченочные проявления болезни) у детей, сывороточными концентрациями ЛДГ (показатель метаболических нарушений) и ЩФ (маркер холестаза): $r_{s=}$ -0,85, $r_{s=}$ -0,87 и $r_{s=}$-0,84, $p<0,05$, соответственно. Обратная сильная корреляция была выявлена также между степенью ЭФ и концентрацией ГГТ в сыворотке крови (маркер холестаза): $r_{s=}$ -0,78, $p<0,05$. Кроме того, сильные отрицательные связи отмечались между степенью СФ и сывороточным содержанием креатинфосфокиназы (КФК), как маркера поражения мышечной ткани, и ЩФ: $r_{s=}$ -0,83 и $r_{s=}$ -0,72, $p<0,05$, соответственно. Также обратная сильная корреляция отмечалась между степенью ФДС/ФШ и уровнем общего белка (показатель острого воспаления) в сыворотке крови: $r_{s=}$ -0,93, $p<0,05$, соответственно. Показатель ОБ отрицательно и сильно коррелировал с наличием пальмарной эритемы, уровнями ЛДГ, ЩФ в сыворотке крови: $r_{s=}$ -0,85, $r_{s=}$ -0,93 и $r_{s=}$ -0,88, $p<0,05$, соответственно.

По данным опроса родителей, выявлена прямая сильная корреляция между показателем ФФ ($r_{s=}$0,60, $p<0,05$), ЭФ ($r_{s=}$0,66, $p<0,05$), ОБ ($r_{s=}$0,60, $p<0,05$) и типом заболевания ($r_{s=}$0,60, $p<0,05$), т.е. I тип ГБ характеризовался самыми низкими показателями, а III и VI типы – наиболее высокими, что объясняется различной степенью тяжести течения этих типов. Установлены отрицательные связи между ФФ, ОБ, возрастом ($r_{s=}$ -0,76 и $r_{s=}$ -0,75, $p<0,05$, соответственно) и длительностью заболевания ($r_{s=}$-0,76 и $r_{s=}$-0,79, $p<0,05$, соответственно). Кроме того, отмечались отрицательные сильные корреляции между степенью ФФ, ЭФ, ОБ и уровнем холестерина ($r_{s=}$ -0,93, $r_{s=}$ -0,70 и $r_{s=}$ -0,82, $p<0,05$, соответственно) в сыворотке крови (характеризующего усиленный липолиз на фоне гипогликемии). С перкуторными размерами

печени и сывороточным уровнем ГГТ отрицательно и сильно коррелировал показатель ЭФ ($r_{s=}$ -0,79 и $r_{s=}$ -0,86, $p<0,05$, соответственно). Одновременно с этим уровни ЩФ, КФК и общего билирубина в крови отрицательно коррелировали с показателем СФ ($r_{s=}$ -0,74, $r_{s=}$ -0,83 и $r_{s=}$ -0,68, $p<0,05$, соответственно).

Полученные результаты можно объяснить тем, что на фоне хронического течения заболевания и ослабления родительского контроля дети по мере взросления начинают хуже соблюдать врачебные рекомендации и режим диетотерапии. Все это определяет частоту обострений заболевания и приводит к снижению общего самочувствия, за счет снижения физической активности ребенка, его эмоционального статуса и социальной адаптации.

Психолого-педагогическая характеристика пациентов с гликогеновой болезнью

Согласно результатам исследования, степень специфичности социальных условий среды и социальных ограничений определялась типом ГБ и, как следствие, физическим состоянием ребенка, а также организацией лечебного процесса для его стабилизации. Так, у детей с I и III типами ГБ социальные ограничения оказались более выраженными, чем у пациентов с VI и IX типами.

Специфическая социальная ситуация развития, физические и социально-психологические ограничения стали причиной возникновения различных по степени выраженности отклонений в психологическом развитии детей с ГБ, а также низкого уровня их социальной адаптации. Обобщение психолого-педагогических данных позволяет констатировать, что более благоприятное эмоциональное состояние наблюдается у детей с VI, IX типами и менее благоприятное – у детей с I и III типам.

Связь эмоционального состояния и типа ГБ объясняется особенностями метаболической компенсации. Так, при метаболической компенсации и субкомпенсации физическое и эмоциональное состояние детей, работа центральной нервной системы лучше, а при декомпенсации – хуже в силу частых эпизодов гипогликемии и интоксикации организма. Вместе с тем, у детей с ГБ, независимо от характера течения болезни, ситуация усугубляется ограничением реализации их психологического потенциала и несоответствием социальных условий среды возрастным психологическим потребностям.

Самосознание у детей с ГБ различается по степени зрелости. Зрелая самооценка чаще встречается у пациентов с VI и IX типами и не характерна для детей с I типом. Различные варианты развития самооценки характерны для детей с III типом. Таким образом, зрелость самооценки зависит от типа ГБ, который, в свою очередь, во многом определяет степень метаболической компенсации, физическое и социальное функционирование организма.

Таким образом, сочетание оптимальных социальных условий воспитания и лечения в случае метаболической декомпенсации способствует сохранению жизни ребенка, реализации его индивидуальных психологических возможностей и частичной социализации, снижению риска возникновения осложнений; при субкомпенсации – обеспечивают стабилизацию физического и психологического состояния, а также социальную адаптацию в обществе; при устойчивой метаболической компенсации – являются основой реализации личностного потенциала ребенка.

Организация рациональной медицинской и психолого-педагогической помощи детям с гликогеновой болезнью и членам их семей, повышение квалификации медицинских работников

Нами был разработан и на базе ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России внедрен план регулярного ежеквартального и годового осмотров, а также алгоритм наблюдения пациентов с ГБ (Рисунок 10), на основании которых возможно составление нового актуального на сегодняшний день медико-экономический стандарт, позволяющего обеспечить преемственность в терапии, наладить схемы лекарственного обеспечения и реабилитации, гарантировать контроль над финансовыми затратами на лечение и, тем самым, оптимизировать и повысить качество ведения таких больных на разных этапах оказания медицинской помощи.

Учитывая специфику метаболических нарушений, клинические и лабораторные признаки заболевания, нередко протекающего с неудовлетворительным прогнозом, в РФ диагностика и лечение пациентов с ГБ должны осуществляться на трех уровнях:

I – муниципальный (родильный дом, районная поликлиника или больница, городская больница);

II – региональный (областная или краевая больница);

III – Федеральный (например, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России или иной Федеральный педиатрический центр, имеющий соответствующие материально технические и кадровые ресурсы).

Задачи I уровня:

1. заподозрить заболевание по клиническим признакам (бледность кожных покровов, увеличение размеров живота, гепатомегалия, судороги, трудные пробуждения, беспокойство ребенка при длительных периодах между кормлениями, наличие ГБ у сибсов и др.);
2. если возможно, то провести исследование гликемических кривых при нагрузке глюкозой;
3. направить на консультацию в медицинское учреждение II уровня.

Задачи II уровня:

1.на основании клинико-лабораторного и ультразвукового обследования подтверждается (или исключается) возможность наличия у ребенка ГБ;

2.диспансерное наблюдение – используя Федеральные клинические рекомендации, разработанные и утвержденные Союзом педиатров России, проводить дополнительную клинико-функциональную диагностику и лечение.

Задачи III уровня:

1.окончательная верификация ГБ с помощью молекулярно-генетического исследования в референсном Федеральном центре;

2.специализированное медицинское и психологическое обследование пациента с ГБ не реже одного раза в год с выдачей заключения о дальнейшей тактике лечения;

3.пренатальная диагностика ГБ, медико-генетическое консультирование;

инициация терапии после подтверждения диагноза; подбор терапии в зависимости от выраженности метаболических нарушений; плановое лечение.

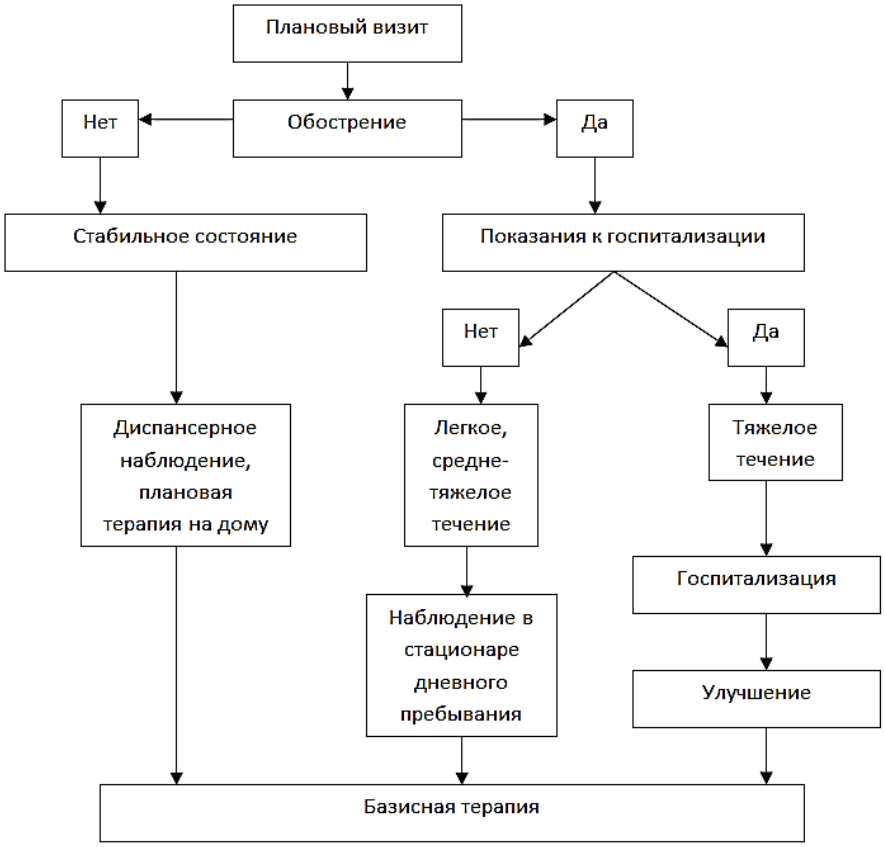


Рисунок 10 – Алгоритм диспансерного наблюдения пациента с ГБ

Кроме того, нами были обозначены направления психолого-педагогической помощи детям с ГБ и их родителям в зависимости от прогноза развития личности больного (Таблица 19), а также даны рекомендации участникам междисциплинарной команды (врачам, психологам, педагогам) по поддержанию/повышению приверженности лечению пациентов и членов их семей.

Также по нашей инициативе впервые в РФ была создана Межрегиональная благотворительная общественная организация инвалидов «Союз семей пациентов с гликогеновой болезнью», призванная способствовать повышению социализации детей с ГБ, способствовать поиску методов диагностики и лечения этого заболевания, содействовать реализации конституциональных прав пациентов и оказанию им высококвалифицированной медицинской и психолого-педагогической помощи. Разработанные нами впервые в РФ Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с печеночными формами ГБ, содержащие современную информацию о классификации, патогенезе, клинико-лабораторных, инструментальных и морфологических изменениях, особенностях терапии при различных типах этого заболевания, позволят медицинским работникам различных регионов страны получить своевременный доступ к самой актуальной информации по принципам ведения пациентов с ГБ.

Таблица 19 – Направления психологической помощи ребенку с ГБ

Виды помощи, продолжительность занятия	**Прогноз развития личности, кратность оказания услуг за 1 госпитализацию**		
	Благоприятный	Риск неблагоприят-ного	Неблаго-приятный
Мониторинг (диагностика) психологического состояния ребенка и социальной ситуации развития (1,33 а/ч)	1	2	2
Психолого-педагогическое консультирование родителей по вопросам воспитания (1,33 а/ч)	1	2	4
Индивидуальные занятия ребенка с психологом/педагогом (0,67-1 а/ч)	5	8	15
Групповые занятия ребенка с психологом/педагогом (1,33 а/ч)	-	8	-
Групповые общеразвивающие занятия в отделении (1,33 а/ч)	-	6	-
Психолого-педагогическое занятие с родителями (0,67-1 а/ч)	2	4	2
Мониторинг приверженности родителей лечению (1 а/ч)	1	2	2
Общее количество услуг (min-max)	2-10	8-32	15- 35
Общее количество курсов психолого-педагогической реабилитации в год (min-max)	1	1-2	2-3

Примечание. а/ч – академический час

Опубликованные нами пособия для медицинских работников и родителей детей с ГБ, в которых в доступной форме изложены современные сведения об этом заболевании, основные принципы диетотерапии, медикаментозного лечения, а также психолого-педагогической помощи, будут способствовать повышению осведомленности о ГБ не только практикующих врачей, но и самих пациентов, а также членов их семей. Также впервые в РФ по нашей инициативе был создан сайт, фактически работающий как референс-центр страны по редким болезням, в том числе и ГБ, где пациенты могут не только общаться между собой, но и официально обратиться с вопросом к ведущим врачам-специалистам, что повышает их социализацию, позволяет своевременно получить интересующую информацию о своем состоянии, тем самым, улучшая приверженность лечению.

ВЫВОДЫ

1. По данным созданного регистра установлено, что общая ориентировочная численность детей с гликогеновой болезнью на территории Российской Федерации составила 0,34 : 100 000 или 1 : 294 117 детского населения. Наибольшее количество детей с гликогеновой болезнью, наблюдавшихся с 2006 по 2016 гг. в ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, были зарегистрированы в Центральном (30,0%) и Приволжском федеральных округах (22,0%), а наименьшее – в Северо-Западном (6,0%) и Дальневосточном федеральных округах (6,0%). В то же время наибольшие расчетные показатели численности детей с гликогеновой болезнью получены для Дальневосточного федерального округа (0,46 : 100 000 детского

населения), Центрального и Уральского федеральных округов (по 0,45 : 100 000), а наименьшие – для Северо-Западного (0,24 : 100 000) и Сибирского федеральных округов – (0,17 : 100 000).

2. Выявлено, что при гликогеновой болезни у детей происходит активация как рецептор-зависимого (sAPO-1/FAS рецептор, sFAS-L, TNF-α), так и митохондриального (цитохром С, аннексин V) путей программируемой гибели клеток, что позволяет рассматривать ее как форму патологии, связанную с усилением апоптоза. При этом, концентрации цитохрома С, sFas-R/APO1, sFAS-L, аннексина V в сыворотке крови были повышены у 100% детей с ГБ, TNF-α – у 92,3%, каспазы-8 – у 71,8%, каспазы-9 – у 34,6% независимо от типа заболевания, что свидетельствует о единых механизмах программируемой клеточной гибели при гликогеновой болезни.

3. Показано, что концентрации гиалуроновой кислоты, матриксных металлопротеиназ-2, -3, -8 и -9, тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ-1 у пациентов, страдающих гликогеновой болезнью (независимо от типа заболевания), были достоверно выше, чем у детей контрольной группы (p=0,000 для всех показателей), что свидетельствует об активном течении процессов фиброзирования печени при гликогеновой болезни. Выявленные корреляции между сывороточными концентрациями исследованных маркеров свидетельствуют об их содружественном участии в процессах фиброзирования при гликогеновой болезни у детей. Кроме того, выявленная их взаимосвязь с сывороточной концентрацией каспазы-9 – одного из ключевых биомаркеров апоптоза – может говорить о параллельном течении как процессов фиброзирования, так и программируемой гибели гепатоцитов у пациентов с гликогеновой болезнью.

4. Выявлено, что концентрация остеокальцина в сыворотке крови была снижена у 42,7% детей в среднем в 1,3 раза, максимально – в 3 раза. У остальных 57,1% его содержание находилось в пределах нормальных значений. Содержание витамина D 25-OH было снижено у 81,6% пациентов, в среднем в 1,8 раз, максимально – в 10 раз. Только у 18,4% детей этот показатель был нормальным. Концентрация β-CrossLaps была повышена у 79,6% детей и достигала в среднем 1,6 норм, максимально – 5,8 норм. Содержание этого маркера было нормальным лишь у 20,4% больных. Концентрация P1NP была повышенной у 100,0% пациентов и в среднем достигала 3,6 норм, максимально – 12 норм. Указанные изменения свидетельствуют об активных процессах костного ремоделирования у детей с гликогеновой болезнью на фоне метаболических нарушений.

5. Среди частых мутаций, характерных для российских детей с гликогеновой болезнью, обнаруженных в ходе исследования, можно выделить миссенс мутацию *c.247C>T,* приводящую к замене аминокислотных остатков *p.Arg83Cys* гена *G6PC*, встретившаяся в 11 (78,6%) аллельных вариантах из 14 возможных. В гене *SLC37A4* частая мутация – это делеция двух нуклеотидов *c.1042_1043del,* приводящая к сдвигу рамки считывания *p.Leu348Valfs*53,* обнаруженная в 11 (39,3%) аллельных вариантах из 28 возможных (из двух родных братьев учтен один). В гене *AGL* удалось выявить 2 мутации, характерные для российских детей с ГБ III типа: нонсенс мутация *c.3980G>A,* приводящая к преждевременной терминации трансляции *p.Trp1327X*, найденная в 10 (25,0%) аллельных вариантах из 40 возможных, и мутация *c.1423+1G>A,* оказывающая влияние на сайт сплайсинга, найденная в 6 (15,8%) аллельных вариантах из 38 возможных (из двух родных братьев учтен один). В гене *PHKA2* чаще всех прочих была обнаружена мутация *c.884G>A, p.R295H*, выявленная у 3 (15,0%) неродственных пациентов из 20 неродственных детей с гликогеновой болезнью IX типа, верифицированной в ходе исследования (из двух родных братьев учтен один). Остальные мутации встречались с частотой, не превышающей 10,0%.

6. На основании применения массивного параллельного секвенирования установлено, что в Российской Федерации самой частой формой гликогеновой болезни у детей является IX тип, выявленный в 35,1% случаев, а самой редкой – IV тип, верифицированный в 1,4% случаев. У 33 (44,6%) детей из 74 генетически подтвержденных была обнаружена 31 (53,5%) не описанная ранее мутация из 58 патогенных вариантов, выявленных в 8 (40,0%) различных генах из 20 исследованных, что указывает на значительную гетерогенность генетических факторов развития гликогеновой болезни в российской популяции. Установлено, что мутации *c.247C>T* гена *G6PC, c.1042_1043del* гена *SLC37A4, c.3980G>A, c.1423+1G>A* гена *AGL* и *c.884G>A* гена *PHKA2*, являются характерными для российских детей с гликогеновой болезнью.

7. По данным транзиентной эластографии печени выявлено, что у 29,8%, 28,0% и 46,2% детей с муковисцидозом, мукополисахаридозами и гликогеновой болезнью,

соответственно, формируются фибротические изменения паренхимы печени различной степени выраженности по шкале METAVIR, при этом в 12,1%, 12,0% и 10,5% случаев, соответственно, имеет место выраженный фиброз или цирроз печени. Ассоциация показателей транзиентной эластографии печени с клинико-лабораторными и инструментальными данными, характеризующими поражение печени, подтверждает информативность этой методики в определении стадийности печеночного фиброза у детей. Пациенты, у которых согласно результатам транзиентной эластографии печени выявлена стадия F0, но в некоторых зонах измерений отмечались повышенные значения, находятся в группе риска по развитию диффузных фибротических изменений печени. По данным специально разработанной балльной шкалы, степень нарушения функции печени выраженно нарушена у 78,1%, умеренно нарушена – у 21,9% детей.

8. Выявлено, что общим КТ-признаком, характерным для всех типов гликогеновой болезни, являлась выраженная гепатомегалия с преимущественным увеличением левой доли и индекса I сегмента. Особенность картины паренхимы печени при этой патологии – изменение ее рентгеновской плотности в зависимости от типа заболевания. Так, при I типе отмечалось ее снижение (40,0%) либо нормальные показатели (53,3%), а при III и VI/IX – напротив, значительное повышение у 100,0% детей (наиболее выраженное при VI/IX типах). У 3,4% детей развивались аденомы печени. Выраженность гепатомегалии у пациентов с болезнью Вильсона была гораздо меньше, чем при гликогеновой болезни, нормальная рентгеновская плотность печени выявлена в 55,6%, а повышенная – лишь в 7,4% случаев; ни у одного ребенка не зафиксирована гиперденсивность коркового вещества почек.

9. При микроскопическом исследовании биоптатов всей выборки детей (n=51, 100%), у которых была проведена пункционная биопсия, были обнаружены выраженные дегенеративные изменения печени: паренхима органа напоминала «растительную» ткань, определялись поля увеличенных в размерах гепатоцитов, имевших «штампованный» вид, очень светлую или «оптически пустую» цитоплазму, четко контурированную мембрану и смещенное на периферию клетки ядро. У 20 (39,2%) детей в гепатоцитах, располагавшихся в перипортальных зонах, а также вблизи фиброзных септ, выявлялись увеличенные в размерах за счет гликогеновой вакуолизации ядра. У 37 (72,6%) детей в цитоплазме гепатоцитов с различной степенью выраженности присутствовали мелко- или крупнокапельная жировая, белковая и гидропическая дистрофия вплоть до «баллонной», с некробиозом и некрозом групп клеток. Признаки воспаления в печени отсутствовали у 33 (64,7%) и были выражены минимально у 9 (17,7%) детей, у 7 (13,7%) больных обнаружены явления перигепатита; высокая степень гистологической активности зафиксирована только у 1 (2,0%) ребенка с ГБ. Портальный и перипортальный фиброз имел место у всей выборки детей (n=51, 100%), порто-портальные соединительнотканные септы – у 28 (54,9%), порто-центральные септы – у 3 (5,9%) пациентов. Цирроз обнаружен у 10 (19,6%) пациентов; у всей выборки детей (n=51, 100%) при проведении ШИК-реакции в цитоплазме гепатоцитов установлено неравномерное глыбчатое распределение гликогена, который вымывался в контроле амилазой у 50 (98,0%) детей и был резистентен к амилазе только у 1 (2,0%) ребенка с IV типом заболевания.

10. Установлено, что измерение гликемии натощак малоинформативно по сравнению с 72-часовым непрерывным мониторингом глюкозы (позволяет выявить гипогликемию лишь в 26,1% случаев против 82,6%). Гипогликемия чаще имела место у пациентов с гликогеновой болезнью Ia/Ib (72,2%) и III (100%) типов, чем с VI/IX (66,7%). У детей, неприверженных лечению, доля гипогликемии, а также ее выраженность были значимо выше (p=0,044 и p=0,020, соответственно), чем у пациентов, приверженных рекомендациям врача. Доля гипогликемии была достоверно больше у первичных больных с неустановленным диагнозом, по сравнению с пациентами с верифицированной гликогеновой болезнью, регулярно наблюдавшимися в стационаре (p=0,045).

11. По данным количественного цитохимического анализа активностей внутриклеточных дегидрогеназ лимфоцитов выявлено, что у детей с печеночными формами гликогеновой болезни имеют место признаки митохондриальной дисфункции, степень которой зависит от типа заболевания. Митохондриальная дисфункция наиболее выражена у пациентов с I типом гликогеновой болезни, что соотносится с тяжестью состояния пациентов ввиду особенностей патогенеза. Активность ферментов лимфоцитов у детей с гликогеновой болезнью коррелирует с основными параметрами оценки тяжести состояния, что позволяет использовать данные показатели в качестве дополнительных диагностических критериев.

12. Доказано, что у детей с гликогеновой болезнью на протяжении 7 госпитализаций (0-12-18-24-30-36 мес) на фоне терапии отмечалась положительная динамика по следующим показателям: нижняя граница печени по данным перкуссии (p=0,000), гликемия натощак (p=0,000), сывороточные концентрации АЛТ (p=0,000), АСТ (p=0,000), ГГТ (p=0,000), холестерина (p=0,020), триглицеридов (p=0,012), ЛДГ (p=0,002).

13. Установлено, что у детей с гликогеновой болезнью, согласно результатам тестирования, имеет место выраженное снижение качества жизни по сравнению со здоровыми как по ответам самих пациентов, так и по ответам родителей. При оценке качества жизни выявлено расхождение ответов детей с гликогеновой болезнью и их родителей – последние достоверно ниже оценивают качество жизни детей по показателям «Физическое функционирование», «Эмоциональное функционирование», «Социальное функционирование» и «Общий балл», чем сами дети (p=0,048, p=0,017, p=0,041, p=0,017, соответственно). Однако балл по шкале «Эмоциональное функционирование» у детей с гликогеновой болезнью достоверно выше (p=0,029), чем при фенилкетонурии, а показатель «Социальное функционирование» существенно выше (p=0,021), чем при мукополисахаридозах.

14. Установлено, что тип гликогеновой болезни, характер ее течения, своевременность начала и точность соблюдения схемы лечения являются медико-социальными факторами, определяющими физическое и психологическое состояние детей. Сложная и трудоемкая схема лечения деформирует социальную ситуацию развития, делая ее специфичной, в связи с чем не удовлетворяются в полной мере существующие у детей возрастные и психологические потребности, а это обусловливает неблагоприятный прогноз психического развития и социальной адаптации. В зависимости от сочетания таких медико-социальных факторов, как метаболическая компенсация и степень соответствия социальных условий среды физическим и психологическим потребностям ребенка, определяется прогноз психического развития и социальной адаптации детей с гликогеновой болезнью: 16,2% имеют благоприятный прогноз, 59,5% – риск неблагоприятного прогноза и 24,3% – неблагоприятный.

15. Показано, что социально управляемыми факторами, позволяющими достичь оптимальных социальных условий развития детей с гликогеновой болезнью и сделать прогноз психического и социального развития более благоприятным, являются высокая приверженность родителей лечению и соответствующая потребностям детской личности система воспитания в семье. Уменьшение степени деформации или специфичности социальной ситуации развития возможно путем своевременного определения приверженности родителей лечению и системы воспитания больного ребенка в семье, выявления характера, структуры и степени тяжести его психологических проблем для разработки и реализации содержания психолого-педагогической помощи.

16. Разработанный план регулярных (ежеквартальных и годовых) осмотров и алгоритм наблюдения пациентов с гликогеновой болезнью позволяют обеспечить преемственность в терапии, наладить схемы лекарственного обеспечения и реабилитации, гарантировать контроль над финансовыми затратами на лечение и, тем самым, оптимизировать и повысить качество ведения таких больных на разных этапах оказания медицинской помощи. Психолого-педагогическая помощь детям с гликогеновой болезнью и их родителям должна учитывать прогноз развития личности больного и осуществляться силами междисциплинарной команды (врачами, психологами, педагогами).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанная электронная система учета пациентов (регистр) рекомендуется к использованию в педиатрической практике, так как является информативным инструментом, позволяющим анализировать социальные, эпидемиологические, анамнестические, клинические, лабораторные характеристики детей с гликогеновой болезнью, выявлять особенности заболевания на системном, органном и тканевом уровнях, а также оценивать эффективность длительной терапии.

2. Использование разработанного алгоритма ведения детей с печеночными формами гликогеновой болезни рекомендуется для определения оптимальной последовательности и кратности контрольных обследований пациентов на разных этапах оказания медицинской помощи и повышения ее качества.

3. Всем пациентам с гликогеновой болезнью показано проведение массивного параллельного секвенирования для верификации типа патологии, что определяет тактику ведения больного и прогноз течения заболевания.

4. Транзиентная эластография и количественная ультразвуковая оценка структуры печени с применением функции Acoustic Structure Quantification рекомендуются в качестве доступных неинвазивных высокоинформативных и хорошо воспроизводимых методик определения выраженности фибротических изменений печени у пациентов с гликогеновой болезнью.

5. Непрерывный 72-часовой мониторинг глюкозы в интерстициальной жидкости рекомендуется применять у пациентов с гликогеновой болезнью как малоинвазивный и информативный метод определения гликемического профиля, позволяющий выявлять скрытые эпизоды гипогликемии и своевременно корректировать проводимую диетотерапию с применением сырого кукурузного крахмала.

6. Пациентам с гликогеновой болезнью необходимо исследование качества жизни как при первичной госпитализации, так и при динамическом наблюдении с целью оценки эффективности медицинского вмешательства.

7. Пациентам с гликогеновой болезнью необходимо оказание психолого-педагогической помощи, объем которой должен определяться персонифицированно, в зависимости от индивидуальных психологических возможностей пациента.

СПИСОК НАУЧНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК на соискание ученой степени доктора наук

1. **Сурков А.Н., Потапов А.С., Смирнов И.Е., Кучеренко А.Г., Четкина Т.С., Татьянина О.Ф. Диагностика фиброза и цирроза печени у детей с помощью серологических маркеров. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия «Медицина». 2009;4: 158-162.**

2. **Сурков А.Н., Кустова О.В., Потапов А.С., Цыгина Е.Н., Зеликович Е.И., Аверкина Н.А. Значение компьютерной томографии в диагностике печеночной формы гликогенозов у детей. Медицинская визуализация. 2009; 5: 106-114.**

3. **Сурков А.Н., Полякова С.И., Потапов А.С., Туманова Е.Л., Кустова О.В., Кучеренко А.Г., Герасимова Н.П., Комарова Н.Л., Баканов М.И. Гликогеновая болезнь IV типа у ребенка 4-х лет. Вопросы диагностики в педиатрии. 2009; 1 (5): 36-40.**

4. **Сурков А.Н., Смирнов И.Е., Кучеренко А.Г., Потапов А.С., Герасимова Н.П., Зиновьева А.Е. Взаимосвязи сывороточных маркеров фиброзирования с изменениями структурно-функционального состояния печени у детей. Российский педиатрический журнал. 2010; 2: 28-31.**

5. **Сурков А.Н., Кучеренко А.Г. Возможности неинвазивной диагностики стадийности фиброза печени у детей с помощью серологических маркеров. Вестник Российской академии медицинских наук. 2010; 7: 7-10.**

6. **Сурков А.Н., Гундобина О.С., Лозоватор А.Л., Рязанов М.В., Кустова О.В., Комарова Н.Л., Семенова Н.Н. Динамика клинико-лабораторных и инструментальных показателей у ребенка с фосфорилазной недостаточностью на фоне патогенетической терапии. Вопросы диагностики в педиатрии. 2010; 2 (5): 32-36.**

7. **Полякова С.И., Кучеренко А.Г., Смирнов И.Е., Потапов А.С., Сурков А.Н., Сенякович В.М., Баканов М.И. Изменения активности матриксных металлопротеиназ и их ингибиторов у детей с синдромом перегрузки железом. Российский педиатрический журнал. 2010; 3: 22-26.**

8. **Сурков А.Н. Методы диагностики фиброза и цирроза печени у детей. Вопросы диагностики в педиатрии. 2011; 3 (4): 5-14.**

9. **Мазурова Н.В., Сурков А.Н. Особенности отношения к процессу лечения детей с печеночной формой гликогеновой болезни и их родителей. Вопросы диагностики в педиатрии. 2012; 4 (1): 47-52.**

10. **Сурков А.Н. Гликогеновая болезнь: современные представления (часть I). Вопросы современной педиатрии. 2012; 11 (2): 30-42.**

11. **Волынец Г.В., Потапов А.С., Полякова С.И., Александров А.Е., Сенякович В.М., Сурков А.Н., Четкина Т.С., Евлюхина Н.Н., Скворцова Т.А. Определение степени нарушения функции печени у детей. Вопросы современной педиатрии. 2013; 12 (4): 47-51.**

12. **Сурков А.Н., Черников В.В., Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Потапов А.С., Винярская И.В. Результаты оценки качества жизни детей с печеночной формой гликогеновой болезни. Педиатрическая фармакология. 2013; 10 (4): 90-94.**

13. **Мазурова Н.В., Сурков А.Н., Бушуева Т.В. Адаптация к заболеванию и процессу лечения детей с редкими наследственными болезнями обмена веществ и их родителей. Актуальные проблемы психологического знания. 2013; 2 (27): 107-117.**

14. **Сурков А.Н., Потапов А.С., Лозоватор А.Л., Туманова Е.Л. Особенности морфологических изменений печени у детей с гликогеновой болезнью. Вопросы современной педиатрии. 2013; 12 (6): 24-28.**

15. **Курбатова О.В., Измайлова Т.Д., Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Полякова С.И., Мирошкина Л.В., Семенова Г.Ф., Самохина И.В., Капустина Е.Ю., Духова З.Н., Потапов А.С., Петричук С.В. Митохондриальная дисфункция у детей с печеночными формами гликогеновой болезни. Вестник Российской академии медицинских наук. 2014; 7-8: 78-84.**

16. **Сурков А.Н. Гликогеновая болезнь у детей: проблемы диагностики и лечения. Фарматека. 2014; 11 (284): 28-33.**

17. **Курбатова О.В., Мирошкина Л.В., Сурков А.Н., Полякова С.И., Измайлова Т.Д., Семенова Г.Ф., Самохина И.В., Капустина Е.Ю., Духова З.Н., Потапов А.С., Петричук С.В. Особенности Т-клеточного звена иммунитета у детей с гликогеновой болезнью. Российский иммунологический журнал. 2014; Т. 8 (17), № 3: 331-334.**

18. **Волынец Г.В., Евлюхина Н.Н., Филин А.В., Потапов А.С., Шавров А.А., Дворяковский И.В., Сурков А.Н., Аникин А.В., Зеликович Е.И. Нарушение структуры печени и выраженность портальной гипертензии у детей на основе Международной классификации функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья. Вестник Всероссийского общества специалистов по медико-социальной экспертизе, реабилитации и реабилитационной индустрии. 2014; 3: 49-60.**

19. **Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Потапов А.С., Савостьянов К.В., Пушков А.А., Никитин А.Г., Полякова С.И., Рязанов М.В., Кустова О.В., Барский В.И., Степанян М.Ю. Случай множественных аденом печени у подростка с тяжелым течением гликогеновой болезни типа Ib. Вестник Российской академии медицинских наук. 2014; 11-12: 54-59.**

20. **Кондрахина И.И., Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Батырова А.С., Сновская М.А., Кожевникова О.В., Потапов А.С. Опыт использования системы непрерывного мониторинга глюкозы у детей с гликогеновой болезнью. Клиническая лабораторная диагностика. 2015; 60 (1): 4-12.**

21. **Сурков А.Н. Современные возможности диагностики и лечения цирроза печени у детей. Фарматека. 2015; 1 (294): 6-14.**

22. **Волынец Г.В., Евлюхина Н.Н., Филин А.В., Сурков А.Н., Потапов А.С., Шавров А.А., Дворяковский И.В., Пахомовская Н.Л., Аникин А.В., Зеликович Е.И. Определение степени нарушения структуры печени и выраженности портальной гипертензии у детей. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2015; 1 (113): 28-35.**

23. **Волынец Г.В., Евлюхина Н.Н., Филин А.В., Потапов А.С., Дворяковский И.В., Дворяковская Г.М., Сурков А.Н., Шавров А.А., Пахомовская Н.Л., Скворцова Т.А. Структура и функция печени и их нарушения при хронических болезнях гепатобилиарной системы у детей. Вестник Российской академии медицинских наук. 2015; 70 (2): 203-213.**

24. **Курбатова О.В., Сурков А.Н., Закиров Р.Ш., Полякова С.И., Мирошкина Л.В., Самохина И.В., Измайлова Т.Д., Семенова Г.Ф., Никитин А.В., Фрейдлин Е.В., Мельничук О.С., Семикина Е.Л., Петричук С.В. Гуморальный иммунитет у детей с печеночными формами гликогеновой болезни. Российский иммунологический журнал. 2015; Т. 9 (18), № 2 (1): 273-275.**

25. **Волынец Г.В., Евлюхина Н.Н., Туманова Е.Л., Хавкин А.И., Потапов А.С., Филин А.В., Сурков А.Н., Скворцова Т.А., Пахомовская Н.Л. Морфологические изменения ткани печени и их влияние на нарушение ее функции при хронических болезнях печени у детей. Вопросы практической педиатрии. 2015; 10 (3): 23-29.**

26. **Волынец Г.В., Евлюхина Н.Н., Потапов А.С., Хавкин А.И., Филин А.В., Сурков А.Н., Пахомовская Н.Л., Скворцова Т.А. Определение степени нарушения функции печени у детей с позиций Международной классификации функционирования, ограничений жизнедеятельности и здоровья (МКФ). Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2015; 7 (119): 31-37.**

27. **Дворяковская Г.М., Ивлева С.А., Сурков А.Н., Дворяковский И.В., Потапов А.С., Смирнов И.Е. Оценка структуры печени у детей с гликогеновой болезнью по данным неинвазивной ультразвуковой диагностики. Российский педиатрический журнал. 2015; 18 (5): 9-14.**

28. **Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Вашакмадзе Н.Д., Геворкян А.К., Томилова А.Ю., Потапов А.С., Симонова О.И., Кузенкова Л.М., Баранов А.А. Транзиентная эластография – неинвазивный метод диагностики стадий фиброза печени у детей с редкими болезнями. Современные технологии в медицине. 2016; 8 (3): 56-63.**

29. **Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Кустова О.В., Потапов А.С., Аникин А.В., Гетман А.Н., Барский В.И., Волынец Г.В., Смирнов И.Е. Особенности визуализации печени у детей с гликогеновой болезнью по данным компьютерной томографии. Российский педиатрический журнал. 2016; 19 (5): 260-268.**

30. **Сурков А.Н., Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Карулина А.С., Потапов А.С., Семенова Н.Н., Гундобина О.С., Геворкян А.К., Савостьянов К.В., Пушков А.А., Журкова Н.В., Волынец Г.В., Шилова М.М. Динамика клинико-лабораторных показателей у детей с гликогеновой болезнью I типа на фоне комплексной терапии. Российский педиатрический журнал. 2016; 19 (6): 324-331.**

31. **Сурков А.Н., Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Савостьянов К.В., Пушков А.А., Журкова Н.В., Кустова О.В., Потапов А.С., Мовсисян Г.Б., Геворкян А.К., Волынец Г.В., Скворцова Т.А. Две новые мутации в гене *SLC37A4* у ребенка с гликогеновой болезнью Ib типа. Молекулярная медицина. 2017; 15 (1): 40-44.**

32. **Курбатова О.В., Сурков А.Н., Самохина И.В., Закиров Р.Ш., Никитин А.В., Фрейдлин Е.В., Потапов А.С., Петричук С.В. Возрастная динамика показателей иммунного статуса и активности сукцинатдегидрогеназы в популяциях лимфоцитов у детей с печеночными формами гликогеновой болезни. Медицинский алфавит. Серия «Современная лаборатория». 2017; 1 (4): 31-38.**

33. **Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Смирнов И.Е., Кучеренко А.Г. Биомаркеры апоптоза при гликогеновой болезни у детей. Российский педиатрический журнал. 2017; 20 (2): 74-79.**

34. **Савостьянов К.В., Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Жанин И.С., Пушков А.А., Басаргина Е.Н., Никитин А.Г., Потапов А.С., Пахомов А.В., Баранов А.А. Клиническое применение массивного параллельного секвенирования в молекулярной диагностике наследственных болезней накопления гликогена среди детского населения России. Российский педиатрический журнал. 2017; 20 (3): 132-139.**

Патенты

35. Волынец Г.В., Потапов А.С., Александров А.Е., Полякова С.И., Четкина Т.С., Сурков А.Н., Пахомовская Н.Л., Цимбалова Е.Г., Маянский Н.А. Способ оценки степени тяжести нарушений функций печени у детей: пат. 2473904, Российская Федерация: МПК G01N 33/49 (2006.01); заявитель и патентообладатель: Научный центр здоровья детей РАМН. № 2011118508/15, заявл. 10.05.2011; опубл. 27.01.2013, Бюл. №3: 8 с.

36. Табе Е.Э., Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Малахов О.А., Тайбулатов Н.И., Новиков В.И. Ортопедический корсет: пат. 2539166, Российская Федерация: МПК A61F 5/02 (2006.01); заявитель и патентообладатель: Научный центр здоровья детей РАМН. № 2013155063/14, заявл. 12.12.2013; опубл. 10.01.2015, Бюл. №1: 6 с.

37. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Савостьянов К.В., Пушков А.А., Жанин И.С., Сурков А.Н. Способ диагностики гликогеновой болезни IXa типа у детей с использованием технологии секвенирования нового поколения: пат. 2621161, Российская Федерация: МПК G01N 33/50 (2006.01), C12Q 1/68 (2006.01); заявитель и патентообладатель: ФГАУ «Научный центр здоровья детей» Минздрава России. № 2016103669, заявл. 04.02.2016; опубл. 31.05.2017, Бюл. № 16: 5 с.

Свидетельство о регистрации программы для ЭВМ

38. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Сурков А.Н., Бессонов Е.Е., Смирнов В.И. Программа для мониторинга состояния детей с гликогеновой болезнью: свид. 2018615508, Российская Федерация; заявитель и правообладатель: ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. № 2018612800, заявл. 21.03.2018; опубл. 08.05.2018, Бюл. № 5.

Монографии

39. Сурков А.Н., Баранов А.А., Потапов А.С. Неинвазивная диагностика фиброза и цирроза печени в педиатрии. Сывороточные маркеры фиброзирования при хронических болезнях печени у детей. LAMBERT Academic Publishing GmbH & Co. KG, 2012: 179 с.

40. Клиническая диетология детского возраста: Руководство для врачей. Под ред. проф. Т.Э Боровик, проф. К.С. Ладодо. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ООО «Издательство «Медицинское информационное агентство», 2015: 720 с.

41. Сурков А.Н., Свиридова Т.В., Намазова-Баранова Л.С., Лазуренко С.Б. Гликогеновая болезнь: советы родителям. М.: ПедиатрЪ, 2016: 24 с.

42. Атлас редких болезней. Под ред. А.А. Баранова, Л.С. Намазовой-Барановой. 2-е изд., испр. и доп. М.: ПедиатрЪ, 2016. 420 с.

Учебное пособие

43. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Сурков А.Н., Потапов А.С., Баканов М.И., Полякова С.И., Гундобина О.С., Лозоватор А.Л. Гликогеновая болезнь у детей: учебное пособие (Болезни детского возраста от А до Я). М.: ПедиатрЪ: Союз педиатров России, 2012; Вып. 3: 128 с.

Публикации в других изданиях

44. Черников В.В., Сурков А.Н., Потапов А.С. Оценка качества жизни детей с гликогеновой болезнью. Сборник материалов XVI Съезда педиатров России «Актуальные проблемы педиатрии» (16-19 февраля 2009 г., Москва). 2009: 436-437.

45. Сурков А.Н., Потапов А.С., Туманова Е.Л., Кустова О.В., Комарова Н.Л., Баканов М.И. Течение гликогеновой болезни Ib типа у сибсов. Материалы XVI Конгресса детских гастроэнтерологов России и стран СНГ «Актуальные проблемы абдоминальной патологии у детей» (17-19 марта 2009 г., Москва). Под ред. Ю.Г. Мухиной, С.В. Бельмера. М.: ИД «Медпрактика-М», 2009: 403-404.

46. Сурков А.Н., Потапов А.С., Смирнов И.Е., Кучеренко А.Г., Туманова Е.Л. Возможности применения сывороточных маркеров фиброзирования печени в педиатрической практике. Вопросы диагностики в педиатрии. 2009; 1 (3): 34-38.

47. Сурков А.Н., Потапов А.С., Кучеренко А.Г., Смирнов И.Е., Туманова Е.Л. Сывороточный уровень гиалуроновой кислоты как неинвазивный маркер фиброзирования печени у детей. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии колопроктологии. 2009; 19 (5, прил. 34): 102.

48. Сурков А.Н., Потапов А.С., Кучеренко А.Г., Туманова Е.Л. Неинвазивная диагностика стадии фиброзирования печени с помощью сывороточных маркеров у детей. Актуальные проблемы гастроэнтерологии (Василенковские чтения): материалы науч.-практ. конф. (10 ноября 2009 г., Москва). М.: 4ТЕ АРТ, 2009: 101.

49. Сурков А.Н., Потапов А.С., Кучеренко А.Г., Туманова Е.Л. Особенности регуляции фиброгенеза при хронических болезнях печени у детей. VI Международная конференция «Молекулярная медицина и биобезопасность»: сборник материалов, 10-11 ноября 2009 г. М.: МДВ, 2009: 216-218.

50. Сурков А.Н., Потапов А.С., Смирнов И.Е., Кучеренко А.Г., Туманова Е.Л. Возможности неинвазивной диагностики стадий фиброза печени в педиатрической практике. Научно-практическая конференция «Совершенствование педиатрической практики. От простого к сложному»: сборник статей (19-20 ноября 2009 г., Москва). 2009: 113-116.

51. Сурков А.Н., Кучеренко А.Г., Потапов А.С., Туманова Е.Л. Значение неинвазивных маркеров фиброзирования печени в практике детского врача-гепатолога. Материалы четвертого Национального конгресса терапевтов. М.: ООО «Издательский дом «Бионика», 2009: 244.

52. Сурков А.Н., Потапов А.С., Смирнов И.Е., Кучеренко А.Г., Туманова Е.Л. Изменение содержания гиалуроновой кислоты в сыворотке крови у детей в зависимости от активности гепатита. Сборник материалов XIV Конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (15-18 февраля 2010 г., Москва). 2010: 767.

53. Сурков А.Н., Кустова О.В. Изменение денситометрических показателей печени и почек у детей с гликогеновой болезнью по данным компьютерной томографии. Электронный сборник научных трудов «Здоровье и образование в XXI веке». 2009; 11(1): 54-56.

54. Сурков А.Н. Нарушение протеолитического действия матриксных металлопротеиназ при фиброзе печени у детей. Тезисы III Международного молодежного медицинского конгресса «Санкт-Петербургские научные чтения-2009» (2-4 декабря 2009 г., Санкт-Петербург). 2009: 94-95.

55. Сурков А.Н., Потапов А.С., Туманова Е.Л., Четкина Т.С. Частота развития цирроза у детей в исходе хронических болезней печени различной этиологии. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2010; 20 (1, прил. 35): 16.

56. Сурков А.Н., Потапов А.С., Кучеренко А.Г. Информативность сывороточных уровней гиалуроновой кислоты и коллагена IV типа в дифференциальной диагностике фиброза и цирроза печени у детей. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2010; 20 (1, прил. 35): 24.

57. Сурков А.Н., Гундобина О.С., Татьянина О.Ф., Комарова Е.В., Намазова-Баранова Л.С. Диагностические возможности ультразвуковой эластографии у детей с хроническими диффузными болезнями печени на амбулаторном этапе обследования. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2010; 2-3: М86.

58. Черников В.В., Сурков А.Н., Потапов А.С., Винярская И.В. Исследование качества жизни у детей с разными типами гликогеновой болезни. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2010; 2-3: М86.

59. Сурков А.Н., Кучеренко А.Г. Информативность сывороточного уровня гиалуроновой кислоты как маркера тяжести цирроза печени у детей. Вестник современной клинической медицины. 2010; 3 (Прил. 1): 171-172.

60. Сурков А.Н., Смирнов И.Е., Кучеренко А.Г., Потапов А.С. Сывороточный уровень гиалуроновой кислоты у детей с разной тяжестью цирроза печени по классификации Чайльда-Пью. Клиническая лабораторная диагностика. Материалы IV съезда научного общества специалистов клинической лабораторной диагностики России (15-17.10.2010 г., Москва). 2010; 9: 54.

61. Сурков А.Н., Лозоватор А.Л., Потапов А.С. Морфологические изменения печени у детей с гликогеновой болезнью. Актуальные вопросы морфологической диагностики заболеваний: материалы Республиканской научно-практической конференции (30 сентября – 1 октября 2010 г., Витебск, Белоруссия). Витебск: РИПЦ ВГМУ, 2010: 287-289.

62. Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Потапов А.С., Кучеренко А.Г., Гундобина О.С., Четкина Т.С. Взаимосвязи показателей ультразвуковой эластографии и сывороточных маркеров со стадией фиброза печени у детей. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2011; 2-3: М89.

63. Сурков А.Н., Черников В.В. Актуальные проблемы реабилитации детей с гликогеновой болезнью. Медико-социальная экспертиза и реабилитация детей с ограниченными возможностями. 2011; 1-2: 48-53.

64. Мазурова Н.В., Венгер А.Л., Сурков А.Н. Участие семьи в процессе лечения детей с гликогеновой болезнью. Сборник материалов XVI конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (24-27 февраля 2012 г., Москва). 2012: 439.

65. Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Татьянина О.Ф., Гундобина О.С. Опыт применения ультразвуковой эластографии в диагностике фиброза и цирроза у детей с хроническими диффузными болезнями печени. Сборник материалов XVI конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (24-27 февраля 2012 г., Москва). 2012: 736.

66. Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Гундобина О.С., Татьянина О.Ф. Выраженность фиброза у детей с хроническими диффузными болезнями печени по данным ультразвуковой эластографии. Сборник материалов XVII Российского конгресса «Гепатология сегодня» (19-21 марта 2012 г., Москва). 2012: 71.

67. Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Гундобина О.С., Татьянина О.Ф. Опыт применения ультразвуковой эластографии печени в амбулаторной педиатрической практике. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2012; 2-3: М85.

68. Черников В.В., Сурков А.Н. Взаимосвязи показателей качества жизни и клинико-лабораторных изменений у детей с печеночной формой гликогеновой болезни. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2012; 2-3: М105-М106.

69. Сурков А.Н. Особенности питания детей с хроническими болезнями печени. Практика педиатра. 2012; 4: 39-44.

70. Сурков А.Н., Лозоватор А.Л., Рязанов М.В., Семенова Н.Н. Опыт длительного ведения пациента с фосфорилазной недостаточностью. Справочник педиатра. 2012; 5: 53-61.

71. Сурков А.Н. Гликогеновая болезнь у детей. Редкий журнал. 2013; 2: 23.

72. Kurbatova O., Surkov A., Polyakova S., Miroshkina L., Semenova G., Samokhina I., Izmailova T., Kapustina E., Dukhova Z., Zakirov R., Freydlin E., Petrichuk S. Lymphocytes intracellular

enzymes activity in children with hepatic form of glycogen storage disease. Journal of Inherited Metabolic Disease. 2013; 36 (Suppl. 2): S226.

73. Сурков А.Н. Дифференциальная диагностика гепатолиенального синдрома у детей. Практика педиатра. 2013; 4: 7-15.

74. Surkov A.N., Polyakova S.I., Kustova O.V., Potapov A.S. The role of the computed tomography in diagnostics of hepatic type of glycogen storage disease in children. International GSD Conference (28-30 November 2013, Heidelberg, Germany). 2013: 126.

75. Сурков А.Н. Гликогеновая болезнь – последние новости из Германии. Редкий журнал. 2013; 3: 21.

76. Курбатова О.В., Полякова С.И., Сурков А.Н., Семенова Г.Ф., Мирошкина Л.В., Измайлова Т.Д., Самохина И.В., Капустина Е.Ю., Духова З.Н., Закиров Р.Ш., Савостьянов К.В., Пушков А.А., Фрейдлин Е.В., Петричук С.В. Особенности метаболизма лимфоцитов детей с генетически подтвержденным I типом гликогеновой болезни. Молекулярная диагностика. Сборник трудов VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Под ред. В.И. Покровского. Т.2. М.: ООО «Издательство МБА», 2014: 190-191.

77. Кондрахина И.И., Сурков А.Н., Батырова А.С., Сновская М.А., Кожевникова О.В. Опыт применения системы непрерывного мониторирования глюкозы (СНМГ) для диагностики гипогликемии у детей с гликогеновой болезнью (ГБ). Сборник материалов XVII конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (14-16 февраля 2014 г., Москва). 2014: 155.

78. Курбатова О.В., Измайлова Т.Д., Сурков А.Н., Полякова С.И., Петричук С.В., Мирошкина Л.В., Семенова Г.Ф., Самохина И.В., Капустина Е.Ю., Духова З.Н. Митохондриальная активность лимфоцитов у детей с подтвержденными молекулярно-генетическими исследованиями формами гликогеновой болезни I типа. Сборник материалов XVII конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (14-16 февраля 2014 г., Москва). 2014: 177.

79. Surkov A., Namazova-Baranova L., Potapov A., Smirnov I., Kutcherenko A. The significance of serum markers of liver fibrosis in children. Hepatology International. 2014; 8 (Issue 1 suppl.): S294-S295.

80. Суркова И.А., Цыгина Е.Н., Сурков А.Н., Потапов А.С., Веселова А.В. Опыт применения рентгенографии костей кистей для оценки костного возраста у детей с гликогеновой болезнью. Невский радиологический форум – 2014. СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2014: 281.

81. Карулина А.С., Сурков А.Н. Особенности течения гликогеновой болезни I типа у детей на фоне длительной комплексной терапии. Итоговая Всероссийская студенческая научная конференция с международным участием «Медицинская весна»: материалы конференции (30 апреля 2014 г., Москва). М.: Издательство Первого МГМУ им. И.М. Сеченова, 2014: 110.

82. Surkov A., Namazova-Baranova L., Potapov A., Smirnov I., Kutcherenko A. MMP-2, MMP-9 and TIMP-1 levels in children with different stages of hepatic fibrosis. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 2014; 58 (Suppl. 1): 423.

83. Kurbatova O., Surkov A., Polyakova S., Miroshkina L., Izmailova T., Semenova G., Samokhina I., Kapustina E., Dukhova Z., Zakirov R., Freydlin E., Petrichuk S. Lymphocytes intracellular dehydrogenases in children with hepatic form of glycogen storage disease. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 2014; 58 (Suppl. 1): 46.

84. Сурков А.Н., Намазова-Баранова Л.С., Потапов А.С. Опыт применения транзиентной эластографии печени у детей с гликогеновой болезнью. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2014; 102 (2): 65.

85. Черников В.В., Сурков А.Н., Потапов А.С., Винярская И.В. Качество жизни и клинико-лабораторные параллели у детей с гликогеновой болезнью. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2014; 105 (5): 87-88.

86. Kurbatova O., Surkov A., Polyakova S., Miroshkina L., Izmailova T., Samokhina I., Kapustina E., Savostyanov K., Pushkov A., Petrichuk S. Functional activity of lymphocytes mitochondria in children with genetically diagnosed glycogen storage disease of type I. European Journal of Human Genetics. 2014; 22 (Suppl. 1): 418.

87. Kurbatova O., Surkov A., Miroshkina L., Polyakova S., Izmailova T., Semenova G., Samokhina I., Kapustina E., Zakirov R., Petrichuk S. Diagnostic value of mitochondrial enzymes activity in children with the hepatic form of glycogen storage disease. FEBS Journal. 2014; 281 (Suppl. 1): 347.

88. Kurbatova O., Sukhorukov V., Surkov A., Polyakova S., Miroshkina L., Izmailova T., Semenova G., Samokhina I., Kapustina E., Dukhova Z., Zakirov R., Freydlin E., Petrichuk S. Features of mitochondrial dysfunction in children with hepatic form of glycogen storage disease. Abstract book of 9th International Conference on Mitochondrial Research EUROMIT 2014 (15-19 June 2014, Tampere, Finland). 2014: 230.

89. Kurbatova O., Miroshkina L., Surkov A., Polyakova S., Izmailova T., Semenova G., Samokhina I., Kapustina E., Dukhova Z., Zakirov R., Freydlin E., Petrichuk S. Cellular immunity characteristics and succinate dehydrogenase activity in children with hepatic form of glycogen storage disease. Journal of Inherited Metabolic Disease. 2014; 37 (Suppl. 1): S103.

90. Демичева Д.Ю., Намазова-Баранова Л.С., Сурков А.Н., Гаджиалиева М.М. Роль пункционной биопсии в оценке состояния ткани печени при гликогеновой болезни у детей. Вестник Российского государственного медицинского университета. 2015; 2: 746.

91. Kurbatova O., Miroshkina L., Surkov A., Polyakova S., Semenova G., Samokhina I., Dukhova Z., Freydlin E., Petrichuk S. T-cell immunity in children with hepatic form of glycogen storage disease. Abstract Book of 48th Annual Meeting of the ESPGHAN (6-9 May 2015, Amsterdam, Netherlands). 2015: 305.

92. Кондрахина И.И., Сурков А.Н., Батырова А.С., Сновская М.А., Кожевникова О.В., Геворкян А.К. Роль комплаентности у детей с печеночными формами гликогеновой болезни при проведении непрерывного мониторинга глюкозы. Сборник материалов XVIII Конгресса Союза педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (13-15.02.2015 г., Москва). 2015: 106.

93. Курбатова О.В., Сурков А.Н., Полякова С.И., Мирошкина Л.В., Самохина И.В., Семенова Г.Ф., Духова З.Н., Петричук С.В. Особенности функционирования NK-клеток у пациентов с печеночными формами гликогеновой болезни. Сборник материалов XVIII Конгресса Союза педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии» (13-15.02.2015 г., Москва). 2015: 118.

94. Курбатова О.В., Сурков А.Н., Закиров Р.Ш., Полякова С.И., Самохина И.В., Семенова Г.Ф., Мирошкина Л.В., Измайлова Т.Д., Петричук С.В. Особенности иммунного статуса и активность сукцинатдегидрогеназы в популяциях лимфоцитов у детей с гликогеновой болезнью печеночных форм. Медицинская иммунология. 2015; 17 (Специальный выпуск): 237.

95. Kurbatova O., Sukhorukov V., Miroshkina L., Surkov A., Polyakova S., Samokhina I., Izmailova T., Semenova G., Zakirov R., Petrichuk S. Activity of succinate dehydrogenase in lymphocytes subsets in children with genetically diagnosed glycogen storage disease type I. The 11th World Congress of the International Society for Adaptive Medicine. Abstract book (27-30 May 2015, Yonago, Japan). 2015: 85.

96. Kurbatova O., Zakirov R., Miroshkina L., Surkov A., Polyakova S., Samokhina I., Semenova G., Sukhorukov V., Petrichuk S. Activity of succinate dehydrogenase in T-lymphocytes subsets in children with genetically diagnosed glycogen storage disease type I. The FEBS Journal. 2015; 282 (Issue Supplement S1): 122.

97. Kurbatova O., Surkov A., Polyakova S., Izmailova T., Semenova G., Samokhina I., Zakirov R., Freydlin E., Petrichuk S. Energy metabolism in children with hepatic form of glycogen storage disease. Journal of World Mitochondria Society. 2015; 1: 137.

98. Surkov A., Baranov A., Namazova-Baranova L., Karulina A., Potapov A., Semjonova N., Gevorkjan A., Savost'janov K., Pushkov A., Zhurkova N., Shilova M. Dynamics of serum concentrations of glucose, lactate, ALT, AST and GGT in children with glycogen storage disease Ia anb Ib subtypes during long-term therapy. 26th International Congress of Pediatrics, 17-22 August 2016, Vancouver, Canada. Abstract Book. 2016: 216.

99. Savostyanov K.V., Pushkov A.A., Surkov A.N., Polyakova S.I., Nikitin A.G., Namazova-Baranova L.S., Baranov A.A. New method for molecular genetic diagnosis of glycogen storage disease in Russian patients using next-generation sequencing. Journal of Inherited Metabolic Disease. 2016; 39 (Suppl. 1): S203-S204.

100. Курбатова О.В., Сурков А.Н., Закиров Р.Ш., Мирошкина Л.В., Самохина И.В., Никитин А.В., Фрейдлин Е.В., Мельничук О.С., Семикина Е.Л., Петричук С.В. Возрастная динамика популяций В-клеток у детей с печеночными формами гликогеновой болезни. Лаборатория. 2016; 1: 28-29.

101. Курбатова О.В., Закиров Р.Ш., Сурков А.Н., Никитин А.В., Самохина И.В., Фрейдлин Е.В., Потапов А.С., Петричук С.В. Уровень сывороточных цитокинов при различных

стадиях фиброза печени у детей с печеночными формами гликогеновой болезни. Клиническая лабораторная диагностика. 2016; 61(9): 537.

102. Сурков А.Н., Черников В.В. Проспективное исследование качества жизни у детей с болезнями накопления гликогена. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. 2017; 1: 108.

103. Pushkov A., Savost'anov K., Namazova-Baranova L., Surkov A., Nikitin A., Pakhomov A. Glycogen storage disease type 9 is the most common among cohort of Russian pediatric patients with glycogenosis. Journal of Inborn Errors of Metabolism and Screening. 2017; 5: 343.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ASQ – Acoustic Structure Quantification
NK-клетка – натуральный киллер
P1NP – N-терминальный пропептид проколлагена 1 типа
sAPO-1/FAS рецептор – растворимый FAS-рецептор
sFAS-L – растворимый FAS-лиганд
TNF-α – фактор некроза опухолей-α
β-CrossLaps – С-терминальный телопептид сыворотки
АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспартатаминотрансфераза
БВ – болезнь Вильсона
ГБ – гликогеновая болезнь
ГБОУ ВПО – Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза
ГИС – гистологический индекс склероза
ГК – гиалуроновая кислота
ДЭРА – двуэнергетическая абсорбциометрия
ИГА – индекс гистологической активности
ИКР – интерквартильный размах
К2ЭДТА – этилендиаминтетраацетат
КЖ – качество жизни
кПа – килопаскаль
КТ – компьютерная томография
К-У – критерий Краскела-Уоллиса
КФК – креатинфосфокиназа
ЛД – левая доля
ЛДГ – лактатдегидрогеназа
МВ – муковисцидоз
ММП – матриксная металлопротеиназа
МПКТ – минеральная плотность костной ткани
МПС – мукополисахаридоз
М-У – критерий Манна-Уитни
НАДН-Д – никотинамидаденин-Н-дегидрогеназа
НИИ – научно-исследовательский институт
ОБ – общий балл
ОГК – окружность грудной клетки
ПБП – пункционная биопсия печени
ПД – правая доля
ПЗР – передне-задний размер
ПСИ – печеночно-селезеночный индекс
РНК – рибонуклеиновая кислота
РФ – Российская Федерация
СДГ – сукцинатдегидрогеназа
СКК – сырой кукурузный крахмал
СНГ – Содружество Независимых Государств
СНФП – степень нарушения функции печени
СФ – социальное функционирование
США – Соединенные Штаты Америки
ТИМП – тканевой ингибитор матриксных протеиназ
ТЭП – транзиентная эластография печени
ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России – Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации
ФДС – функционирование в детском саду
ФКУ – фенилкетонурия
ФП – фиброз печени
ФФ – физическое функционирование
ФШ – функционирование в школе
ШИК – Шифф-йодная кислота
ЩФ – щелочная фосфатаза
ЭВМ – электронно-вычислительная машина
ЭФ – эмоциональное функционирование