Державна установа «Інститут нефрології НАМН України»

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

УДК 616.611-002.151:616.61-002.2

КРУГЛІКОВА ІРИНА ВАДИМІВНА

ПЕРЕБІГ ХРОНІЧНОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ У ДІТЕЙ З ГЕРПЕСВІРУСНОЮ ІНФЕКЦІЄЮ

14.01.37 – нефрологія
22 Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук.
Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело _____ І.В. Круглікова

Науковий керівник – **Багдасарова Інгретта Вартанівна**, доктор медичних наук, професор

Київ – 2018

АНОТАЦІЯ

Круглікова І.В. Перебіг хронічного гломерулонефриту у дітей з герпесвірусною інфекцією

Дисертацією є рукопис на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.01.37 – нефрологія. – ДУ «Інститут нефрології НАМН України», Київ, 2018

На основі вивчення клінічної картини та змін імунного статусу дітей, хворих на хронічний гломерулонефрит з супутньою герпесвірусною інфекцією, були визначені показання для проведення противірусної терапії в їх комплексному лікуванні.

В проведеному дослідженні вперше встановлена частота виявлення активної герпесвірусної інфекції у дітей з хронічним гломерулонефритом. Проаналізовано, як саме впливає наявність даної інфекції на перебіг хронічного гломерулонефриту, а також обгрунтована доцільність призначення противірусних препаратів в комплексній терапії таких пацієнтів. Визначено оптимальні методи діагностики активної герпесвірусної інфекції дітей, хворих на хронічний гломерулонефрит. Проаналізований стан локального імунітету у пацієнтів з хронічним гломерулонефритом за наявності герпесвірусної інфекції, а також вивчені деякі показники загального імунного статусу (IgA, антитіла до C1q-компоненту комплементу).

Матеріали та методи дослідження.

Було обстежено 112 дітей віком від 2 до 17 років, які перебували на лікуванні у нефрологічному відділені ДКЛ №7 м. Києва. Клінічна верифікація діагнозу проводилася на підставі клініко-лабораторних досліджень відповідно протоколів лікування хронічного гломерулонефриту, затверджених МОЗ України.

Дітей, хворих на хронічний гломерулонефрит з супутньою герпесвірусною інфекцією було розподілено на 3 групи за клінічними варіантами перебігу захворювання.

І клінічна група – хворі на хронічний гломерулонефрит з еритроцитурією – 54 (48,2%) пацієнта.

ІІ клінічна група – діти з хронічним гломерулонефритом, нефротичним синдромом та стероїдчутливістю – 30 (26,8%) дітей.

ІІІ група – пацієнти з хронічним гломерулонефритом, нефротичним синдромом та стероїдрезистентністю 28 (25,0%) досліджуваних.

Групу порівняння склали пацієнти без герпесвірусної інфекції.

При виконанні роботи дотримані правила безпеки пацієнта, морально-етичні норми відповідно до положень GCP.

Діти були обстежені на віруси простого герпесу 1/2 типу (ВПГ), цитомегаловірус (ЦМВ) та вірус Епштейна-Барр (ЕБВ). Виявляли рівень специфічних IgG проти вірусів, наявність специфічних IgM, ДНК досліджуваних вірусів у сечі та осаді сечових клітин.

За наявності активної герпесвірусної інфекції дітям призначались противірусні лікарські засоби. Ефективність лікування оцінювалась через 3-12 міс. від початку противірусної терапії. Результат лікування оцінювали за клініко-лабораторними показниками.

47 дітям, хворим на хронічний гломерулонефрит та супутню герпесвірусну інфекцію та 9 умовно здоровим дітям відповідного віку визначено ІЛ-8, МСР-1, sIgA та SLIPI в сечі, а також IgA та антитіла до *C1q*-компонента комплементу в сироватці крові.

Для статистичної обробки результатів застосовували пакет програм Microsoft Office Excel for Windows 7 та STATISTICA 6 (версія 6.1).

Результати власних досліджень.

Активна герпесвірусна інфекція виявлялась у 79,5% пацієнтів з хронічним гломерулонефритом незалежно від віку і статі. Мікст-інфекція складала 43,5%

випадків, моноінфекція – 56,5%. В структурі інфікованості як моно- так і мікст-варіантів інфікування, вірус Епштейна-Барр складав 72,9%, цитомегаловірус – 55,3%, вірус простого герпесу 1/2 типу - 22,4%.

Визначено, що стероїдорезистентність асоціювалась з наявністю у дітей мікст-інфекції (52,7% проти 35,3% за наявності еритроцитурії і в 20,0% у стероїдочутливих). У пацієнтів з еритроцитурією частіше спостерігалась інфекція, викликана Ебштейн-Барр вірусом (33,3% порівняно з II групою – 16,7% і III групою – 17,9%).

Для дітей з хронічним гломерулонефритом та герпесвірусної інфекцією були характерні субфебрилітет, лімфаденопатія та гепатоспленомегалія. Крім того, за наявності стероїдрезистентності відмічався лімфоцитоз в периферичній крові. Після проведення противірусної терапії частота цих ознак вагомо зменшувалася.

Клінічна картина гломерулонефриту у пацієнтів I групи з активною герпесвірусною інфекцією характеризувалась протеїнурією (67,4 ± 7,2% проти 27,3 ± 13,4% у дітей без інфекції) із значно підвищеним рівнем альбуміну в сечі (A2 за KDIGO) в 60,5 ± 7,5% проти 27,3 ± 13,4% випадків ($p<0,05$). Після проведення комплексної терапії з включенням противірусних препаратів у пацієнтів I групи з супутньою герпесвірусною інфекцією знижувалась частота виявлення макрогематурії з 45,5 ± 8,7% до 15,2 ± 6,2%, артеріальної гіпертензії – з 18,2 ± 6,7% до 3,0 ± 2,9% та протеїнурії з 67,4 ± 8,2% до 30,3 ± 8,0% ($p<0,05$).

Кількість рецидівів в II групі складала 63,6 ± 14,5% та достовірно знижувалась до 9,0 ± 8,7% ($p<0,05$), в групі порівняння до лікування частота ранніх рецидивів нефротичного синдрому складала 25,0 ± 12,5%.

У пацієнтів III групи була відмічена еритроцитурія (95,8 ± 10,2%), артеріальна гіпертензія (75,0 ± 8,8%), генералізовані набряки (58,3 ± 10,1%) та порушення функції пирок (54,2 ± 10,2%). Після проведення комплексної терапії частота еритоцитурії зменшувалась до 43,2 ± 12,7%, набрякового синдрому – до 20,0 ± 10,3%, артеріальної гіпертензії – до 26,7 ± 11,4% ($p<0,05$).

Встановлено, що секреторний IgA (sIgA) у хворих на гломерулонефрит був знижений, однак у пацієнтів з нефротичним синдромом і герпесвірусною інфекцією

– підвищений (3,3/1,2-37,5 мкг/мл), в першу чергу у стероїдорезистентних пацієнтів (19,4/1,7-220,0 мкг/мл) різниця з групою порівняння статистично достовірна ($p<0,05$). Найбільші показники SLPI було відмічено за наявності герпесвірусної інфекції у пацієнтів I та II групи (1510/810-4800 пг/мл та 2665/1270-4200 пг/мл відповідно). Виявлено високі показники ІЛ-8 в сечі (5,2/0,9-16,5 пкг/мл), але при відокремленні пацієнтів з активою герпесвірусною інфекцією відмінності були відсутні (6,6/1,6-17,0 пкг/мл, проти 3,3/0,4-12,6 пкг/мл, $p>0,05$). У всіх клінічних групах MCP-1 суттево збільшувався за наявності герпесвірусної інфекції (214/132-352 пкг/мл проти 98/77-292 пкг/мл, $p<0,05$). Після отримання противірусної терапії рівень MCP-1 знижувався, а у хворих, які з певних причин не отримували противірусну терапію вміст цього хемокіну зростав.

Виявлено, що при нефротичному синдромі вміст *IgA* в сироватці крові різнився залежно від чутливості до стандартної стероїдної терапії. За умови стероїдрезитентності показник не відрізнявся від значень контрольної групи ($0,81 \pm 0,12$ г/л), а при стероїдчутливості – з`являлася тенденція до зростання його центральної тенденції ($1,30 \pm 0,28$ г/л, $p>0,05$). Таке співвідношення залишалося незмінним за наявності активної герпесвірусної інфекції ($0,78 \pm 0,11$ і $1,44 \pm 0,36$ г/л, відповідно, $p>0,05$). Рівень антитіл до *C1q*-компонента комплементу (маркеру активації комплементу) не виходив за межі фізіологічної норми, але з вищою центральною тенденцією у пацієнтів з герпесвірусною інфекцією ($1,56 \pm 0,27$ U/ml проти $0,63 \pm 0,12$ U/ml, $p<0,05$).

При обстеженні на герпесвірусну інфекцію дітей, хворих на хронічний гломерулонефрит, встановлено, що підвищення рівнів специфічних IgG в 4 і більше разів за норму при ІФА, а також виявлення в сечовому осаді ДНК вірусів методом ПЛР є найбільш діагностично значущі тести.

Висновки.

На основі проведених досліджень визначено, що активна герпесвірусна інфекція є досить поширена у пацієнтів з хронічним гломерулонефритом і виявляється в 79,5% випадків. Наявність супутньої герпесвірусної інфекції у дітей,

хворих на хронічний гломерулонефрит суттєво обтяжує перебіг захворювання. Призначення противірусних препаратів в комплексній терапії дітей з гломерулонефритом та герпесвірусною інфекцією підвищує ефективність лікування незалежно від клінічної форми захворювання. Запропоновано алгоритм діагностики активної герпесвірусної інфекції у дітей з хронічним гломерулонефритом та визначено показання для проведення противірусної терапії в комплексному лікуванні. Визначено, що зниження рівня MCP-1 в сечі дітей, хворих на гломерулонефрит з герпесвірусною інфекцією в динаміці лікування вказує на сприятливий прогноз захворювання, і, навпаки, його підвищення – на важкість подальшого перебігу. Крім того, для пацієнтів з хронічним гломерулонефритом та активною герпесвірусною інфекцією характерні високі показники SLPI та sIgA.

Ключові слова: діти, гломерулонефрит, нефротичний синдром, інфекція, Епштейн-Бар вірус, цитомегаловірус, вірус простого герпесу 1/2 типу.

ABSTRACT

Kruglikova I.V. The course of chronic glomerulonephritis in children with herpes virus infection

The dissertation is a manuscript for obtaining a scientific degree of candidate of medical science on the specialty 14.01.37 - nephrology. - State Institution “Institute of Nephrology, NAMS of Ukraine”, Kyiv, 2018

Based on the study of the clinical picture and changes in the immune status of children with chronic glomerulonephritis with associated herpes virus infection, indications for antiviral therapy in their complex treatment were determined.

In the conducted research for the first time the frequency of detection of active herpes virus infection in children with chronic glomerulonephritis was established. It was analyzed how the presence of this infection affected the course of chronic glomerulonephritis, as well as the appropriateness of the appointment of antiviral drugs in the complex therapy of such patients was justified. The optimal methods for diagnostics of active herpes virus infection in children suffering from chronic glomerulonephritis are determined. The condition of local immunity has been analyzed in patients with chronic glomerulonephritis in the presence of herpes virus infection, as well as some parameters of the general immune status (IgA, antibodies to C1q component of the complement) have been studied.

Materials and methods of research

112 children aged 2 to 17 years old who were treated at the nephrological department of the Children Clinical Hospital № 7 in Kyiv were screened. The clinical verification of the diagnosis was carried out on the basis of clinical and laboratory studies of the protocols of treatment of chronic glomerulonephritis, approved by the Ministry of Public Health of Ukraine.

Children, ill with chronic glomerulonephritis with concomitant herpes virus infection were divided into 3 groups according to the clinical variants of the disease.

I clinical group consisted of patients with chronic glomerulonephritis with erythrocyturia - 54 (48,2 %) patients.

II clinical group consisted of children with chronic glomerulonephritis, nephrotic syndrome and steroid susceptibility - 30 (26,8 %) children.

III clinical group consisted of patients with chronic glomerulonephritis, nephrotic syndrome and steroid resistance in 28 (25,0 %) subjects.

The comparison group consisted of patients without herpes virus infection.

In carrying out the work, the rules of patient safety, moral and ethical standards in accordance with the provisions of the GCP were observed.

The children were examined for herpes simplex virus (HSV) 1/2 type, cytomegalovirus (CMV) and Epstein-Barr virus (EBV). The level of specific IgG against

the viruses, the presence of specific IgM, DNA of the investigated viruses in the urine and the siege of the urinary cells were revealed.

In the presence of active herpes virus infection, antiviral drugs were prescribed to children. The effectiveness of the treatment was evaluated after 3-12 months from the start of antiviral therapy. The result of treatment was evaluated according to clinical and laboratory parameters.

At 47 children with chronic glomerulonephritis and associated herpes virus infection and 9 conditionally healthy children of the corresponding age IL-8, MCP-1, sIgA and SLIPI in urine, as well as IgA and antibodies to the C1q-component of the complement in the serum were determined.

For statistical processing of the results, the Microsoft Office Excel for Windows 7 and STATISTICA 6 (version 6.1) packages were used.

Results of own research

Active herpes virus infection was detected in 79,5% of patients with chronic glomerulonephritis, regardless of age and gender. Mixed infection was 43,5% of cases, single agent infection — 56,5 %. In the structure of infection as single and mixed variants of infection, the Epstein-Barr virus was 72,9%, cytomegalovirus – 55,3%, herpes simplex virus type 1/2 — 22,4%.

It has been determined that steroid resistance was associated with the presence of micro-infection in children (52,7% versus 35,3% in the presence of erythrocytes and 20,0% in steroids). Patients with erythrocytes were more likely to have an infection caused by Epstein-Barr virus (33,3% compared to Group II — 16,7% and Group III — 17,9%).

For children with chronic glomerulonephritis and herpes virus infection, subfebriity, lymphadenopathy and hepatosplenomegaly were characteristic. In addition, in the presence of steroid resistance, lymphocytosis in the peripheral blood was observed. After antiviral therapy, the frequency of these signs declined significantly.

The clinical picture of glomerulonephritis in patients of group I with active herpes virus infection was characterized by proteinuria (67,4 ± 7,2% versus 27,3 ± 13,4% in children without infection) with significantly elevated serum albumin levels (A2 for KDIGO) in 60, 5 ± 7,5% versus 27,3 ± 13,4% of cases ($p<0,05$). After complex therapy

with the inclusion of antiviral drugs in patients of I group with concomitant herpes virus infection, the frequency of detection of macrohematuria was reduced from 45,5 ± 8,7% to 15,2 ± 6,2%, arterial hypertension - from 18,2 ± 6,7% to 3,0 ± 2,9% and proteinuria from 67,4 ± 8,2% to 30,3 ± 8,0% ($p<0.05$).

The number of relapses in II group was 63,6 ± 14,5% and was reliably reduced to 9,0 ± 8,7% ($p<0,05$), in the comparison group to the treatment, the frequency of early relapses of the nephrotic syndrome was 25,0 ± 12,5%.

Patients in III group had erythrocyturia (95,8 ± 10,2%), arterial hypertension (75,0 ± 8,8%), generalized edema (58,3 ± 10,1%), and decreased kidney function (54,2 ± 10,2%). After complex therapy, the frequency of erythocythritia was reduced to 43,2 ± 12,7%, edema syndrome - up to 20,0 ± 10,3%, arterial hypertension — up to 26,7 ± 11,4% ($p<0,05$).

It has been found that secretory IgA (sIgA) in patients with glomerulonephritis has been reduced, however, in patients with nephrotic syndrome and herpes virus infection has been elevated (3,3/1,2-37,5 μg/ml), primarily in steroid-resistant patients (19,4 / 1,7-220,0 μg/ml), the difference with the comparison group is statistically significant ($p<0,05$). The highest values of SLPI were observed in the presence of herpes virus infection in patients I and II groups (1510 / 810-4800 μg/ml and 2665/1270-4200 μg/ml, respectively). High levels of IL-8 in urine were detected (5,2/ 0,9-16,5 μg/ ml), but there were no differences in the separation of patients with active herpes virus infection (6,6/1,6-17,0 μg/ml, versus 3,3/0,4-12,6 μg/ml, $p> 0,05$). In all clinical groups, MCP-1 significantly increased in the presence of herpes virus infection (214/132-352 μg/ml versus 98/77-292 μg/ml, $p<0,05$). After receiving antiviral therapy, MCP-1 was reduced, and in patients who for some reason did not receive antiviral therapy, the content of this chemokine increased.

It was found that in case of nephrotic syndrome, the IgA content of serum varies depending on the sensitivity to standard steroid therapy. Under the condition of steroid resistivity the index did not differ from the values of the control group (0,81 ± 0,12 g/l), and at steroid susceptibility - there was a tendency to increase its central tendency (1,30 ± 0,28 g/l, $p> 0,05$). This ratio remained unchanged in the presence of active herpes virus infection (0,78 ± 0,11 and 1,44 ± 0,36 g/l, respectively, $p>0,05$). The level of antibodies to

the C1q component of the complement (the complement activation marker) did not go beyond the physiological norm, but with a higher central tendency in patients with herpes virus infection (1,56 ± 0,27 μg/ml versus 0,63 ± 0,12 μg/ml, p <0,05).

In the examination of herpes virus infection in children with chronic glomerulonephritis, it was found that the increase of specific IgG levels by 4 times or more times the norm in ELISA, as well as the discovery in the urine of DNA viruses by the PCR method, are the most diagnostically significant tests.

Conclusions

On the basis of the conducted studies it was determined that active herpes virus infection was quite common in patients with chronic glomerulonephritis and is found in 79,5 % of cases. The presence of concomitant herpes virus infection in children suffering from chronic glomerulonephritis significantly aggravates the course of the disease. The appointment of antiviral drugs in the complex therapy of children with glomerulonephritis and herpes virus infection increases the effectiveness of treatment regardless of the clinical form of the disease. An algorithm for diagnosis of active herpes virus infection in children with chronic glomerulonephritis was proposed and indications for antiviral therapy in the complex treatment were determined. It was determined that the decrease in the level of MCP-1 in the urine of children with glomerulonephritis with herpes virus infection in the dynamics of treatment indicates a favorable prognosis of the disease, and, conversely, its increase - the severity of the further course. In addition, patients with chronic glomerulonephritis and active herpes virus infection are characterized by high levels of SLPI and sIgA.

Key words: children, glomerulonephritis, nephrotic syndrome, infection, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, herpes simplex virus type 1/2.

Список публікацій здобувача

1. Кругликова И. В., Фомина С. П., Багдасарова И. В. Герпесвирусная инфекция у детей с хроническим гломерулонефритом. *Современная педиатрия.* 2016. № 7. С. 117-119. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки, оформлена стаття).
2. Кругліков В.Т., Багдасароа І. В., Круглікова І. В., Корніліна О. М. Рівень противірусних антитіл та показники місцевого імунітету в динаміці лікування дітей, хворих на гломерулонефрит, за наявності герпесвірусної інфекції. *Український журнал нефрології та діалізу*. 2016. № 3. С. 22-27. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).
3. Багдасарова І. В., Круглікова І. В., Корніліна О. М., Кругліков В. Т. Неспецифічні фактори захисту та медіатори запалення сечі дітей, хворих на гломерулонефрит, за наявності герпесвірусної інфекції (Повідомлення 1). *Український журнал нефрології та діалізу*. 2016. № 1. С.52-59. (здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).
4. Багдасарова І. В., Круглікова І. В., Корніліна О. М., Кругліков В. Т. Неспецифічні фактори захисту та медіатори запалення сечі дітей, хворих на гломерулонефрит, за наявності герпесвірусної інфекції (Повідомлення 11). *Український журнал нефрології та діалізу.* 2016. № 2. С.42-54. (здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).
5. Кругліков В. Т., Багдасарова І. В., Круглікова І. В., Васильєва І. Г., Цюбко О. І. Герпесвірусна інфекція і гломерулонефрит у дітей. *Український журнал нефрології та діалізу*. 2015. № 2. С. 61-67. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, оформлена стаття).
6. Удосконалення діагностики герпесвірусної інфекції у хворих на гломерулонефрит: інформаційний лист / уклад. І. В. Багдасарова, С. П. Фоміна,

В. Т. Кругліков, І. Г. Васильєва, І. В. Круглікова, О. І. Цюбко; МОЗ України, Укрмедпатентінформ. Київ. 2015. 4 с. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, аналіз і статистична обробка отриманих даних, оформлено інформаційний лист).

7. Багдасарова І. В., Корніліна О. М., Круглікова І. В., Фоміна С. П., Кругліков В. Т. Спосіб оцінки ефективності противірусної терапії хронічного гломерулонефриту, асоційованого з герпесвірусною інфекцією: Патент на КМ UA № 108930 Україна. № u 2015 12782; заявл. 24.12.15 ; опуб. 10.08.16, Бюл. № 15. (здобувачем проведено обстеження хворих, обробка і аналіз даних, оформлено заявку на отримання патенту).
8. Круглікова І. В., Багдасарова І. В., Фоміна С. П. Перебіг хронічного гломерулонефриту на фоні герпесвірусних інфекцій. *Матеріали «IV з'їзду нефрологів України».* (17-18 жовтня, 2013р., м. Київ). Київ. 2013. С.94. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).
9. Круглікова І. В., Фоміна С. П., Багдасарова І. В. Інфікованість вірусами групи герпесу дітей, хворих на гломерулонефрит. *Матеріали X Конгресу педіатрів України «Актуальні питання педіатрії».* (6-8 жовтня, 2014р., м. Київ). Київ. 2014. С.38-39. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано публікацію до друку).
10. Фомина С. П., Багдасарова И. В., Кругликова И. В. Эпштейн-Барр вирусная инфекция и нефротический синдром у детей: опция терапии. *Сборник тезисов III конгресса нефрологов новых независимых государств.* (25-27 сентября 2014г., г. Тбилиси, Грузия). Тбилиси. 2014. С.227-230. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано публікацію до друку).
11. Фоміна С. П., Багдасарова І. В., Круглікова І. В., Виговська О.В. Інфікування вірусами групи герпеса та стероїдрезистентний нефротичний синдром: опції терапії. *Український журнал нефрології і діалізу*: матеріали науково-практичної

конференції «Нефрологія і діаліз: up to date». (8-9 жовтня, 2015р., м.Чернівці). Чернівці. 2015. С.48-49. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано публікацію до друку).

12. Багдасарова І. В., Круглікова І. В., Суслова Г. Д. Перебіг та наслідки нефротичної форми хронічного гломерулонефриту, що супроводжується герпесвірусною інфекцією. *Матеріали IX Конгресу педіатрів України.* (8-10 жовтня, 2013 р., м. Київ). Київ. 2013. С.11. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано публікацію до друку).
13. Фомина С. П., Багдасарова И. В., Кругликова И. В. Гематурическая форма гломерулонефрита у детей: сопутствующая инфекция, вызванная вирусами группы Herpes и опции терапии. *Материалы IV Конгресса ассоциации нефрологов новых независимых государств.* (29-30 сентября, 2016г., г. Минск, Беларусь). Минск. 2016. С.127. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень	14
ВСТУП	16
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	22
1.1.Роль вірусів групи герпесу у розвитку гломерулонефриту	22
1.2.Показники локального імунітету у хворих з патологією нирок	30
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	37
2.1.Загальноклінічна характеристика обстежених хворих	37
2.2.Методи дослідження	42
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ПРОВЕДЕНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	47
3.1.Частота та характер виявлення герпесвірусної інфекції у дітей з Хронічним гломерулонефритом	47
3.2.Хронічний гломерулонефрит з еритроцитурією	54
3.3.Нефротичний синдром хронічного гломерулонефриту у дітей з супутньою герпесвірусною інфекцією	64
РОЗДІЛ 4. ПОКАЗНИКИ ЛОКАЛЬНОГО ТА СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТ, ЗА НАЯВНОСТІ ГЕРПЕСВІРУСНОЇ ІІНФЕКЦІЇ	78
4.1.Клінічна характеристика хворих	78
4.2.Визначення факторів захисту siga та SLPI в сечі хворих на ГН	79
4.3. Визначення медіаторів запалення ІЛ-8 та МСР-1 в сечі хворих на ГН	84
4.4. Вивчення показників системного імунітету у дітей, хворих на ГН	91
4.5. Кореляційні зв‘язки між показниками локального та системного Імунітету хворих на ГН	97
4.6. Показники локального та системного імунітету в динаміці лікування дітей, хворих на ГН, з супутньою герпесвірусною інфекцією	101
РОЗДІЛ 5. ВИЯВЛЕННЯ ГЕРПЕСВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ У ДІТЕЙ З ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТОМ	108
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ ДАНИХ	120
ВИСНОВКИ	127
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ	128
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	130

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АГ	артеріальна гіпертензія
АУ	альбумінурія
ВПГ	вірус простого герпесу 1 та 2 типу
ГБМ	гломерулярна базальна мембрана
ГВ	віруси групи герпесу
ГВІ	герпесвірусна інфекція
ГК	глюкокортикостероїди
ГКІ	гостра кишкова інфекція
ГН	гломерулонефрит
ГРІ	гостра респіраторна інфекція
ГФГН	гематурична форма хронічного гломерулонефриту
ДІ	довірчий інтервал
ЕБВ	вірус Епштейн-Барр
ІГА	IgA-нефропатія
ІЛ	інтерлейкін
ІФА	імуноферментний аналіз
МГН	мембранозний гломерулонефрит
НС	нефротичний синдром
ПЛР	полімеразна ланцюгова реакція

ПФН	порушення функції нирок
СРНС	хронічний гломерулонефрит, нефротичний синдром із стероїдрезистентністю
СЧНС	хронічний гломерулонефрит, нефротичний синдром із стероїдчутливістю
ТП	торпідний перебіг
ФСГС	фокально-сегментарний гломерулосклероз
ХНН	хронічна ниркова недостатність
ХТМ	хвороба тонких мембран
ЦМВ	цитомегаловірус
ШКФ	швидкість клубочкової фільтрації
Ig	імуноглобулін
IgA	імуноглобулін *A*
IgG	імуноглобулін *G*
IgM	імуноглобулін *M*
MCP	моноцитарний хемотаксичний протеїн
sIgA	секреторний імуноглобулін *A*
SLPI	інгібітор секреторной лейкоцитарной протеази
C1q	*C1q*-компонент комплементу

ВСТУП

Актуальність теми

Проблема гломерулонефриту (ГН) у дітей привертає увагу дослідників у зв'зку з великою розповсюдженістю цього захворювання, часто прогресуючим перебігом, ранньою інвалідізацією й несприятливим прогнозом у плані розвитку хронічної ниркової недостатності [1, 3, 4, 5]. Порівняльна хронологічна характеристика захворюваності на гломерулонефрит у дітей за останні 20 років не виявляє зменшення її показників [1].

Останнім часом перебіг ГН характеризується розвитком затяжних та рецидивуючих форм захворювання з більш високою частотою гормонорезистентних варіантів, а також випадків важкого перпебігу ГН з формуванням порушення функції нирок (ПФН) [1, 4, 6, 7].

Важливим патогенетичним механізмом розвитку ГН є відкладення в клубочках нирок імунних комплексів, що включають IgG та різні, в тому числі і вірусні, антигени. Більшість досліджень, присвячені ролі вірусу гепатиту В та С в патології нирок [10, 12, 13, 14, 21, 22, 23]. Приводяться дані про роль вірусів групи герпесу, зокрема Ебштейн-Барр вірусу (ЕБВ), цитомегаловірусу (ЦМВ) та вірусу простого герпесу 1/2 типу (ВПГ) у пацієнтів з аллотрансплантантами нирок [7, 8, 9,11, 27, 38]. Системне ураження органів при хронічній герпесвірусній інфекції (ГВІ), що супроводжується вірусемією в період загострення інфекції, обумовило необхідність проведення спеціальних досліджень по вивченню частоти вивлення ГВІ у пацієнтів з ГН.

Незважаючи на існування досліджень, які вказують, що латентна ГВІ обтяжує клінічний перебіг нефротичного синдрому (НС) та рекомендують проводити даній групі пацієнтів противірусне лікування [8, 9]. Ведуться дискусії щодо показів для проведення обстеження на ГВІ, доцільності та строках призначення противірусної терапії, її обсягу.

На сучасному етапі стоїть питання про розроблення оптимального в інформативному та економічному плані алгоритму діагностики та лікування ГВІ. Ведутся дискусії яким саме методом обстежувати хворих, в яких випадках інфекцію вважати активною, коли саме і як починати лікування. Вибір та розмаїття препаратів ставлять у нелегке становище лікарів, тим паче , що в даному випадку річ іде про імуноскомпрометованих пацієнтів [7, 9, 13, 27, 28].

Дослідження порушень в імунному статусі у пацієнтів зт ГН та ГВІ виявили порушення інтерфероногенезу та сниження показників загального імунітету [8, 9, 10].

Таким чином, актуальність дослідження визначається необхідністю вивчення впливу активної ГВІ на клінічний перебіг гломерулонефриту, вирішення питання про необхідність, строки і обсяг обстеження на ГВІ для створення показань до диференційованого лікування гломерулонефриту у дітей.

Мета дослідження

Визначити показання для проведення противірусної терапії та підвищити ефективність лікування хронічного гломерулонефриту у дітей з герпесвірусною інфекцією, на основі вивчення клініко-лабораторної картини захворювання, змін у імунному статусі та результатів лікування.

Задачі дослідження

1. Визначити частоту та спектр виявлення активної герпесвірусної інфекції у дітей, хворих на хронічний гломерулонефрит.
2. Вивчити особливості перебігу та ефективність комплексної терапії у дітей, хворих на хронічний гломерулонефрит з еритроцитурією і активною герпесвірусною інфекцією.
3. Вивчити особливості перебігу та ефективність комплексної терапії у дітей з нефротичним синдромом хронічного гломерулонефриту та активною герпесвірусною інфекцією.

4. Вивчити клініко-імунологічні особливості та зміни в локальному імунному статусі у пацієнтів з хронічним гломерулонефритом та активною герпесвірусною інфекцією.
5. Підвищити ефективність лікування пацієнтів з хронічним гломерулонефритом та герпесвірусною інфекцією.

Об'єкт дослідження

Діти, хворі на гематуричну та нефротичну форми хронічного гломерулонефриту, що перебігає на фоні герпесвірусної інфекції.

Предмет дослідження

Перебіг гломерулонефриту у дітей з супутньою герпесвірусною інфекцією.

Методи дослідження

- Клінічні (аналіз скарг, анамнезу життя та хвороби, об'єктивного обстеження), лабораторні дослідження крові та сечі у відповідності до стандартів обстеження та інструментальні (УЗД нирок).
- Серологічні – виявлення специфічних IgG та IgM до вірусів групи герпесу (зокрема ВПГ1/2 типу, ЦМВ та ЕБВ) методом ІФА в сироватці крові.
- Молекулярно-генетичні – виявлення ДНК вірусу в сечі та крові методом ПЛР.
- Імунологічні – визначення рівня сироваткового ІЛ-8, MCP-1 та SLIPI в сечі, а також *C1q*-компонента комплементу та sIgA в крові хворих дітей.
- Статистичні (параметричні і непараметричні).

Наукова новизна отриманих результатів

Вперше встановлено, що серед дітей з хронічним гломерулонефритом активна герпесвірусна інфекція діагностується в 75,9% випадків. Найбільша частота виявлення активної герпесвірусної інфекції визначається у пацієнтів з нефротичним синдромом та стероїдрезистентністю (85,7%). В структурі інфікування, вірус

Ебштейна-Барр складає 72,9%, цитомегаловірус – 55,3%, вірус простого герпесу 1/2 типу - 22,4%.

Визначено клінічні особливості перебігу хронічного гломерулонефриту з активною герпесвірусною інфекцією, порівняно з пацієнтами без активної герпесвірусної інфекції: у пацієнтів з хронічним гломерулонефритом та еритроцитурією достовірно частіше виявляється протеїнурія (67,4% проти 27,3%) з високими цифрами альбуміну (А2 за KDIGO) в добовій сечі (60,5% проти 27,3%); у стероїдчутливих дітей з нефротичним синдромом хронічного гломерулонефриту перебіг обтяжується за рахунок артеріальної гіпертензії (33,3% проти 16,8%), порушення функції нирок (61,1% проти 16,8%), розвитку ранніх рецидивів нефротичного синдрому (61,1% проти 25,0%); у стероїдрезистентних пацієнтів - за рахунок еритроцитурії (95,8% проти 50%);

Доведено, що застосування в комплексі лікування противірусної терапії у пацієнтів з хронічним гломерулонефритом, еритроцитурією і герпесвірусною інфекцією достовірно знижує частоту епізодів макрогематурії (з 48,5% до 15,2%), АГ (з 18,2% до 3,0%) та протеїнурії (з 66,7% до 30,3%) ($p<0,05$); у пацієнтів нефротичним синдромом хронічного гломерулонефриту, стероїдчутливістю та супутньою герпесвірусною інфекцією - знижує кількість ранніх рецидивів з 61,1% до 9,0% ($p<0,05$); у пацієнтів з нефротичним синдромом хронічного гломерулонефриту, стероїдорезистентнісю і супутньою герпесвірусною інфекцією - призводить до зниження частоти тривалого набрякового синдрому (з 40,4% до 20%), порушення функції нирок (з 44,4% до 20%), артеріальної гіпертензії (з 66,7% до 26,6%) ($p<0,05$);

Вперше виявлено, що для пацієнтів з хронічним гломерулонефритом та активною герпесвірусною інфекцією характерне підвищення рівня показників локального імунітету: *MCP-1* (214/132;352 пкг/мл проти 98/77;292 пкг/мл у групі порівняння), *SLPI (*1800/1070;4200пкг/мл проти 960/700;2100 пкг/мл у групі порівняння);

Визначено, що зниження рівня MCP-1 в сечі дітей, хворих на гломерулонефрит з герпесвірусною інфекцією в динаміці лікування вказує на

сприятливий прогноз захворювання, і, навпаки, його підвищення – на важкість подальшого перебігу.

Практичне значення отриманих результатів.

На основі виявлення ДНК вірусів в сечовому осаді хворих та визначення 4-кратного і більше (порівняно з нормою) рівня противірусних IgG в сироватці крові можна діагностувати активну герпесвірусну інфекцію у пацієнтів з хронічним гломерулонефритом.

Запропоновано інформативний алгоритм діагностики герпесвірусної інфекції у пацієнтів з хронічним гломерулонефритом.

Призначення противірусної терапії в комплексному лікуванні хворих на хронічний гломерулонефрит з супутньою герпесвірусною інфекцією суттєво підвищує ефективність лікування.

Визначення рівню МСР-1 в сечі дітей, хворих на хронічний гломерулонефрит з супутньою герпесвірусною інфекцією є перспективним тестом для моніторингу активності запального процесу в нирках та оцінки ефективності противірусної терапії.

Особистий внесок здобувача

Автором данної дисертації самостійно проведений аналіз відчизняної та закордонної літератури, визначено мету і задачі роботи, сформовано групи дослідження. Особисто здійснювалося обстеження та клінічне ведення дітей, що війшли до проаналізованих груп. Виконаний аналіз та обробка даних, отриманих в результаті дослідження, підготовлено наукові публікації, всі розділи дисертації та автореферат. Автор приймала безпосередню участь в удосконаленні методів діагностики і лікування дітей хворих на хронічний гломерулонефрит з супутньою герпесвірусною інфекцією.

Апробація результатів дисертації

Матеріали дисертаційної роботи представлені на обговоренні на X конгресі педіатрів України «Актуальні проблеми педіатрії» (Київ, 6-8 жовтня, 2014р.), на науково-практичній конференції «Актуальні питання нефрології» (Чернігів, 14-15 травня, 2015р.), на науково-практичній конференції «Нефрологія і діаліз : up to date» (Чернівці, 8-9 жовтня, 2015р.), на IV Конгресі асоціації нефрологів нових незалежних держав (Мінськ, 29-30 вересня, 2016р.).

Публікації

Основні положення дисертації викладено у 11 наукових працях, з них 5 – у спеціалізованих журналах, рекомендованих ДАК МОН України, 6 в тезах наукових конференцій і конгресів.

Оформлено патент на корисну модель №108930UA, МПК[51] A61K 38/2, G01N 33/53, A61P 13/12, A61P 31/12 спосіб оцінки ефективності противірусної терапії хронічного гломерулонефриту, асоційованого з герпесвірусною інфекцією / ДУ «ІННАМНУ»; Багдасарова І.В., Корніліна О.М., Круглікова І. В., Фоміна С.П., Кругліков В.Т.; u21512782, 24.12.2015. Опуб. 10.08.2016, бюл.№15. – 4с.;

Видано інформаційний лист «Удосконалення діагностики герпесвірусної інфекції у хворих на гломерулонефрит» (Київ, 2015).

РОЗДІЛ І

ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Роль вірусів групи герпесу у розвитку гломерулонефриту

Останнім часом перебіг гломерулонефриту характеризується розвитком затяжних та рецидивуючих форм захворювання, більш високою частотою гормонорезистентних варіантів з торпідним перебігом та зниженням функції нирок [1, 3, 4, 5, 15].

Однією з можливих причин таких ускладнень вважають супутню вірусну інфекцію. Це цілком виправдано, оскільки із збільшенням застосування та поліпшенням якості антимікробної терапії такі відомі провокуючі агенти розвитку гломерулонефриту як бактерії, і в першу чергу стрептококи, втрачають своє першорядне значення і поступаються місцем більш активним вірусам [11, 12, 13, 20]. Дуже вразливими в цьому відношенні є діти, бо саме у дітей імунний захист є слабкішим, у зв'язку з незрілістю імунної системи у перші роки життя або пригніченням її через вплив несприятливих екологічних факторів. [27, 28, 29].

З усієї популяції вірусів найбільший інтерес представляють віруси групи герпесу (родина Herpesviridae). По-перше, це пов'язано з їх широкою розповсюдженістю – понад 90% населення земної кулі інфіковані представниками цієї групи [30, 35]. По-друге, первинне інфікування герпесвірусами переважно відбувається саме в дитячому віці і характеризується важким, гострим перебігом [31, 32]. По-третє, віруси групи герпесу не елімінуються з організму, а персистують там в різних клітинах, тканинах та органах впродовж

життя і при послабленні імунного захисту обумовлюють численні рецидиви [33, 34]. По-четверте, - і самі герпесвірусні інфекції виступають як провідний фактор формування вторинних імунодефіцитів в дитячому віці [18, 36, 37]. Крім того, патогенні властивості вірусів групи герпесу настільки вагомі, що вони здатні провокувати тяжкі реактивовані інфекції навіть у імунокомпетентних осіб [35].

Найбільш розповсюдженими представниками родини Herpesviridae є вірус простого герпесу (ВПГ), цитомегаловірус (ЦМВ) та Епштейн-Барр вірус (ЕБВ).

Усі віруси групи герпесу відносять до ДНК-вмісних. Вони схожі за морфологією, типом нуклеїнової кислоти, способом репродукції в ядрах інфікованих клітин, розмірами, а також за спільною здатністю індукувати латентну, гостру та хронічну інфекції у людини [32, 38, 39, 40]. Якщо раніше віруси групи герпесу відносили до так званих нейротропних вірусів, то в останні десятиліття на підставі великої кількості проведенних досліджень політропність цих вірусів уже не викликає сумніву [38, 41, 42, 43, 44]. На сьогодні відомо, що віруси родини Herpesviridae спроможні інфікувати практично всі органи та системи і характеризуються вираженою епітеліотропністю [32, 38, 39, 40]. Таким чином віруси групи герпесу вражають і епітелій клубочків та канальців нирки (ендотеліоцити, подоцити, мезангіоцити), їх виявляють і в зовнішньоклітинному матриксі (базальні мембрани, інтерстицій, мезангіальний простір) [39, 45, 46, 47, 48, 49].

Важливим патогенетичним механізмом розвитку ГН є утворення в клубочках нирок імунних комплексів, що включають IgG та різні, в тому числі й вірусні антигени [50, 51]. На цій підставі було навіть запропоновано розглядати герпесвірусну інфекцію, зокрема обумовлену ЕБВ, беспосередньо як етіологічний фактор розвитку гломерулонефриту у дітей [10, 52]. Свого часу В.В. Длин [8] запропонував, на наш погляд, дуже вдалий термін для визначення гломерулонефриту, пов’язаного з герпесвірусною інфекцією, - вірусасоційований гломерулонефрит і показав, що для нього характерні торпідний перебіг, розвиток резистентності до гормональної та цитостатичної терапії, погіршення прогнозу [53,

54]. Глобальність проблеми вірусасоційованого гломерулонефриту в подальшому була підтверджена широкомасштабним дослідженням «NEPHROVIR» [55].

За В.В. Длином [8, 53] основними ланками патогенезу вірусасоційованого гломерулонефриту є:

а) порушення противірусного імунітету, в тому числі й інтерфероногенезу, що сприяє вірусній персистенції та легкій реактивації вірусу;

б) парціальні порушення клітинної ланки імунітету, порушення елімінації вірусдетермінованих імунних комплексів і відкладання їх у клубочках;

в) пошкодження вірусом ниркових клітин, що призводить до розвитку тубулоінтерстиціального компоненту;

г) утворення вірусдетермінованих імунних комплексів та відкладання їх у гломерулах.

Особливості параметрів клітинної ланки імунітету, кількісна та якісна характеристики клітин з цитотоксичним потенціалом, а також інтерфероногенезу у людини визначають ефективність противірусного захисту. Діти, хворі на гломерулонефрит, складають групу ризику, щодо розвитку транзиторного вторинного імунодефіциту, реактивації латентної герпесвірусної інфекції, оскільки отримують імуносупресивну терапію [56, 57, 58]. Дослідження демонструють високу частоту виявлення персистуючої герпесвірусної інфекції у дітей з різною патологією нирок, в тому числі і при гломерулонефриті [7, 33, 37, 59, 60].

Суттєвим фактором, що впливає на персистенцію вірусів групи герпесу у хворих на гломерулонефрит, є порушення з боку інтерферонової системи та послаблення імунної відповіді клітинного імунітету [7, 44, 61]. Встановлено, що у всіх дітей з віруасоційованим гломерулонефритом, незалежно від клінічної форми або морфологічного варіанту, спостерігається виражене зниження продукції α- і γ-інтерферону.

Показано, що у дітей з гломерулонефритом при активації герпесвірусної інфекції терапія цитостатиками не дає ефекту без поєднання з противірусною та імуномодулюючою терапією [62].

На сучасному етапі основними патогенетичними механізмами вірусіндукованого ураження нирок є [63, 64, 65, 66]:

а) цитопатичнам дія – віруси групи герпесу запускають апоптоз – генетичну програму загибелі клітин, в даному випадку – клітин ниркової паренхіми, а також пошкодження інфікованих клітин ниркового епітелію імунними клітинами з цитотоксичною активністю (Т-кілери, NK-клітини) [65, 66, 67]. Механізмом цитопатичної дії є пригнічення вірусами синтезу клітинної ДНК, РНК, білків, руйнування клітинних лізосом зі звільненням лізосомальних ферментів;

б) інтеграційна дія – вбудова вірусної ДНК в клітинну ДНК. Вірусні антигени, як і клітинні, передаються спадково дочірнім клітинам під час поділу інфікованих клітин, що несуть інтегрований вірусний геном. Тому противірусна терапія не забезпечує елімінацію збудника з організму і не виявляє протирецидивну дію;

в) віруси групи герпесу часто провокують імунопатологічні, зокрема аутоімунні реакції, що обумовлені імунним лізисом клітин. При цьому в тканинах нирки відбувається депонування вірусвмісних імунних комплексів або формування їх in situ. В якості антигену можуть виступати і власні антигени ниркової тканини, модифіковані герпесвіруси, або схожі з антигенами вірусів за структурою (мімікрія), до яких продукуються аутоантитіла [49, 55, 65, 66, 67].

г) противірусна відповідь організму людини зі зміненою вродженою або набутою імунологічною реактивністю, що може супроводжуватися порушенням балансу цитокінів, які ініціюють виникнення патологічного процесу в тканині нирки [65, 66, 67, 68].

M. Shimada et al. [68] при хворобі мінімальних змін запропонували припущення про існування подвійного механізму порушення функції подоцитів: пряму стимуляцію подоцитів антигенами (зокрема вірусними), алергенами, прозапальними цитокінами та підвищену експресію CD80 на подоцитах внаслідок Т-клітинної дисфункції або порушень ауторегуляції [68].

Проведенні дослідження вказують на високий рівень інфікування вірусами групи герпесу дітей з нефротичним синдромом [60, 71]. А.О. Линдін вказує на провідну роль ЦМВ-інфекції у дітей з стероїдчутливим нефротичним синдромом

[71]. Виявлено високу частоту інфікування й іншими герпесвірусами при стероїдчутливому та стероїдзалежному нефротичному синдромі у дітей, що мали клінічні прояви алергії й сенсибілізацію до алергенів [60].

В літературі обговорюють питання ураження нирок, обумовлене вірусіндукованою поліклональною активацією В-лімфоцитів (гіпергаммаглобулінемія) і вторинним гемофагоцитарним синдромом [69, 70]. Данні багатьох авторів свідчать про наявність імунологічних розладів у дітей з ГН, асоційованим з ГВІ. Ці порушення впливають на функціонування макрофагально-моноцитарної системи, продукцію різних цитокінів імунними клітинами, фагоцитарну активність нейтрофілів, цитотоксичну активність природніх кілерів, інтерфероногенез, систему адаптивного імунітету [10, 54, 59, 60]. Порушення продукції інтерферонів має вторинний характер, в результаті імуностимулюючої терапії препаратами α-інтерферону відновлюється робота системи інтерферонів [64].

ВПГ ½ типу відноситься до родини α-Herpesviridae, має виражену тропність до тканин ектодермального походження (шкіра, слизові оболонки, нервова система), за умови вираженного імунодефіциту ймовірна генералізація інфекції з ураженням багатьох тканин та органів, в тому числі і нирок [38, 61, 72].

Серед нефрологічної патології, асоційованої з ВПГ-інфекцією, першорядне значення мають інфекції сечовивідних шляхів [38, 61]. Гострий і хронічний ГН зустрічаються рідше, зокрема у людей з герпетичним енцефалітом (при морфологічному дослідженні біоптатів нирки виявляють фокально-сегментарний гломерулосклероз з депозитами IgM, C3 та ВПГ- антигенів [47, 49]. За даними літератури, ВПГ частіше виступає в якості тригера у розвитку та загостренні гломерулонефриту, проте виявлення антигенів ВПГ в тканині нирки не виключає його етіологічної ролі при гломерулонефриті. В основному ВПГ-інфекція у дітей з гломерулонефритом, що отримують довготривалу стероїдну та/або цитостатичну терапію , більш виступає як опортуністична інфекція [4, 60, 73]. У хворих з різними варіантами гломерулонефриту за допомогою серологічних та гістологічних

скринінгових досліджень виявлено високий ступінь інфікування ВПГ з різною глибиною ураження як гломерулярного, так і тубулярного апарату нирки [53, 73].

При цьому було встановлено взаємозв'язок між локалізацією ВПГ в нефробіоптатах і розвитком найбільш прогностично несприятливих варіантів гломерулонефриту з нефротичним синдромом, резистентних до імуносупресивної терапії. Доведено участь ВПГ-інфекції у розвитку і прогресуванні гломерулонефриту.

Дослідженнями І.С. Лутошкіна [74] на підставі комплексного вірусологічного обстеження було встановлено, що у переважної більшості дітей з стероїдрезистентним нефротичним синдромом (84%) виявляється реактивована герпесвірусна інфекція, що майже у два рази частіше, ніж у групі дітей з стероїдчутливим варіантом (45%). Визначено високу частоту вірус-вірусних асоціацій, що складала 45,5% у дітей з різними варіантами вірусасоційованого гломерулонефриту.

Моофологічна картина гломерулонефриту, асоційованого з ВПГ, характеризується як ФСГС, хворобою мінімальних змін, мембранозно-проліферативним гломерулонефритом, IgA-нефропатією [4, 47, 49, 75].

ЦМВ відноситься до родини β-Herpesviridae. Більшість білків, що продукуються цим вірусом (близько 100 з 160), спрямовані на модулювання та пошкодження вродженої й адаптивної імунної відповіді хазяїна. ЦМВ маніпулює імунною системою організму-хазяїна через продукцію субстанцій (вірокіни), що подібні до цитокінів та хемокінів людини, рецепторів до цих цитокінів [38, 41, 64, 76].

Під час гострої інфекції більшість видів клітин та органів людини являються мішенями для ЦМВ. Інфікуванню піддаються клітини ендотелію, гладком'язеві клітини, фібробласти, нейрони, моноцити й макрофаги, дендритні клітини, лейкоцити, різні види епітеліальних клітин і, у тому числі, клітини ниркового епітелію [38, 76].

Якщо у людини імунна система функціонує нормально, первинна ЦМВ-інфекція, як правило, має безсимптомний перебіг або у формі гострої респіраторної

інфекції, можливий розвиток мононуклеозоподібного синдрому, гемолітичної анемії, тромбоцитопенії [38, 64, 76].

ЦМВ суттєво пригнічує імунну систему: знижує проліферацію Т-лімфоцитів, інгібує активність NK-клітин, зменшує цитотоксичний потенціал Т-кілерів, порушує функціонування моноцитарно-макрофагальної системи, зменшує експресію молекул МНС (Major histocompatibility complex - головний комплекс гістосумісності), порушуючи презентацію вірусних антигенів макрофагами. ЦМВ секретує гомолог ИЛ-10 людини – протизапального цитокіну, який також суттєво пригнічує імунну відповідь [38, 41, 64, 76].

При ЦМВ-інфекції часто відбувається формування ниркової патології. Це можуть бути гломерулопатії, тубулоінтерстиціальний нефрит, а також гострий та хронічний гломерулонефрит, при чому як при активній, так і при латентній формах ЦМВ-інфекції [77, 78].

Морфологічні зміни при гломерулонефриті, асоційованим з ЦМВ-інфекцією, класифікують як ендокапілярний гломерулонефрит, мезангіопроліферативний гломерулонефрит, IgA-нефропатію, мембранозний гломерулонефрит, мембранозно-проліферативний гломерулонефрит, фокально-сегментарний гломерулосклероз [4, 49, 59, 74, 78]. За результатами імуногістохімічного дослідження при гломерулонефриті у дітей показано високу частоту виявлення вірусурії, а в ниркових біоптатах – позитивна експресія антигенів вірусів групи герпесу, в тому числі і ЦМВ [59].

Клінічні форми хронічного гломерулонефриту, асоційованого з ЦМВ-інфекцією, характеризуються більш-важким перебігом. Імунологічні показники відрізняються зниженням Т-хелперів та підвищенням вмісту Т-кіллерів в крові, а також активацією системи комплементу зі збільшенням показників фагоцитарної активності [53, 66]. При герпесвірусній інфекції з перевагою ЦМВ відмічено прямий кореляційний зв'язок рівня інтерлейкіеів-8 та -18 в сечі у дітей [79].

Показано, що у дітей з гломерулонефритиом на тлі отримання імуносупресивної терапії відбувається реактивація ЦМВ-інфекції [4].

Активна (реактивована) ЦМВ-інфекція призводить до торпідного перебігу нефротичного синдрому, сприяє його поогресуванню, частим рецидивам нефротичного синдрому, а також нерідко є причиною часткової або повної стероїдорезистентності [4, 80, 81].

Слід зазначити, що ЦМВ є етіологічним фактором розвитку вродженого та інфантильного нефротичного синдрому при внутрішньоутробному інфікуванні. Зараження плоду може відбуватись гематогенно-трансплацентарним шляхом, висхідним, а також через інфіковані навколоплідні води [53, 75, 77, 82, 83].

Важливе значення в структурі гломерулонефритів, асоційованих з герпесвірусною інфекцією має ЕБВ-інфекція. Відома тропність вірусу до епітеліальних клітин, тому серед широкого спектру захворювань, обумовлених ЕБВ, певне місце займає й патологія нирок [4, 43, 86]. Ураження нирок виникає як при гострій, так і при хронічній формах ЕБВ-інфекції [39, 40]. До ЕБВ-асоційованих захворювань нирок відносять тубулоінтерстиціальний нефрит, гострий та хронічний гломерулонефрит, імунокомплексний гломерулонефрит, що проявляється гематуричною або нефротичною формою, гостре пошкодження нирок при гемолітико-уремічному синдромі [46, 48, 87, 88, 89, 90]. Ряд авторів вважають ЕБВ етіологічним фактором розвитку і прогресування гломерулонефриту [4, 10, 46].

Ураження нирок, як правило, виникає через декілька днів від моменту клінічних проявів інфекційного мононуклеозу (ЕБВ-інфекція) і представлено гематурією (65% випадків) різного ступеню вираженості, а також протеїнурією та нефротичним синдромом [46, 48, 87, 88, 89, 90]. Сечовий синдром може персистувати від кількох тижнів до декількох місяців. Прогноз в цьому випадку здебільш сприятливий. За розвитку нефротичного синдрому або гострого пошкодження нирок прогноз погіршується [49].

Морфологічна картина гломерулонефриту, асоційованого з ЕБВ, представлена ендокапілярним гломерулонефритом, ФСГС, мезангіопроліферативним гломерулонефритом, мембранозно-проліферативним гломерулонефритом, хворобою мінімальних змін, IgA-нефропатією [4, 49, 59, 74].

В дослідженні І. С. Лутошкіна [74] встановлено високий ступінь інфікування герпесвірусами (переважно ЕБВ) клітин ниркового епітелію та імунних клітин, за різних морфологічних варіантів гломерулонефриту, виявлено порушення в системі адаптивного імунітету, інтерфероногенезі.

В літературі наведено приклади несприятливих наслідків ЕБВ-асоційованих гломерулонефритів. K. Kano et al. [46] описали дитину 11 років з нефротичним синдромом, у якої за результатами біопсії було діагностовано ФСГС без відкладення імунних комплексів. У іншого пацієнта 12 років з реактивацією хронічної ЕБВ-інфекції – нефротичний синдром з ФСГС та ідентифікацією ЕБВ в ниркових біоптатах, верифікований вторинний імунодефіцит та швидкий вихід в ХНН [51, 73].

Таким чином, дослідженнями багатьох вчених було підкреслено актуальність та значимість герпесвірусної інфекції та її суттєвий вплив на перебіг гломерулонефриту.

1.2.Показники локального імунітету у хворих з патологією нирок

Характерними змінами імунного статусу при герпесвірусній інфекції, в тому числі і вірусасоційованому гломерулонефриті у дітей, є зниження продукції інтерферону, пригнічення фагоцитарної функції клітин, дизрегуляція системи інтерлейкінів. Захист організму проти вірусів, як правило, пов'язаний з гуморальним (імуноглобулін А) та клітинним імунітетом (мононуклеарні клітини). Проте дослідження системного імунітету не може дати повної інформації про етіопатогенез гломерулонефриту і виникає необхідність визначення ролі факторів місцевого імунітету, оскільки відомо, що у хворих на гломерулонефрит в нирковій тканині виявляються антигени вірусів групи герпесу як у клубочках, так і в тубулярному епітелії [6, 59], що вказує на те, що для герпесвірусної інфекції переважаючим є як імунокомплексний механізм, так і пошкодження нефротелію вірусом з розвитком тубулоінтерстиціального компонента. Переважання

тубулоінтерстиціальних ушкоджень встановлено і у дітей з вродженою цитомегаловірусною інфекцією [77].

Матеріальну основу місцевого імунітету складають антитіла, які відносяться до особливої форми імуноглобуліну А – секреторного (sIgA). Секреторний IgA, забезпечуючи «першу лінію захисту» слизової оболонки, діє як аглютинатор мікроорганізмів і нейтралізатор токсинів, інгібуючи зв'язування вірусів і бактерій з поверхнею слизових оболонок. Секреторний IgA проявляє активність у біологічних середовищах з високим змістом протеолітичних ферментів і його резистентність до дії протеолітичних ферментів обумовлена секреторним компонентом [91].

Виняткова важливість sIgA-антитіл у противірусному захисті обумовлена тим, що вони із самого початку присутні в місцях первинного контакту вірусу з епітеліальними клітинами слизових оболонок організму хазяїна, здатні частково блокувати процеси адгезії до епітеліальних клітин слизових оболонок не тільки вірусних частинок, але й бактеріальних організмів [92].

У високих концентраціях sIgA-антитіла блокують прикріплення вірусу до клітинної стінки, у низьких здатні пригнічувати клітинну реплікацію вірусу, не впливаючи на його адгезивні властивості. Зниження рівня sIgA призводить до хронічної патології. Низький рівень цього імуноглобуліну може бути пов'язаний з гнітючою дією вірусів на його синтез або виснаженням його продукції в умовах частого впливу вірусних інфекцій. Залишається нез’ясованим участь секреторного IgA у розвитку гломерулонефриту; завдяки визначенню рівня sIgA в сечі можна визначити інтенсивність його локального синтезу при запальній реакції в нирках.

Патогенез гломерулонефриту умовно можна поділити на дві стадії: імунну та запальну. Перша стадія включає різні ланки імунної відповіді на чужорідні або власні антигени і закінчується утворенням імунних комплексів (ІК), сенсибілізованих нефритогенних лімфоцитів та аутоантитіл. Друга стадія припускає ниркове запалення, яке запускається та пролонгується даними імунними агентами, і включає активацію різних клітин нирки, міграцію моноцитів, лімфоцитів, нейтрофілів в гломерулу та інтерстицій, а також вивільнення медіаторів тканинного пошкодження [14, 26]. Першими ефекторними клітинами, які надходять у вогнище

запалення, вивільняючи комплекс різних агентів, що порушують нормальну діяльність клітин, є нейтрофіли, тому їх переміщення з кровоносних судин в тканину нирки є важливим фактором розвитку багатьох ниркових захворювань [93]. Неконтрольований розвиток лейкоцитарної інфільтрації, клітинної проліферації, акумуляції екстрацелюлярного матриксу у гломерулах і інтерстицію відбувається на тлі порушення нормальної експресії молекул клітинної адгезії при обов'язковій участі цитокінів, які продукуються моноцитами/макрофагами, Т-лімфоцитами, резидентними нирковими клітинами у відповідь на пошкодження різними екзо- або ендогенними факторами. Однією з важливих функцій цитокінів є модуляція як системних, так і локальних механізмів захисту організму [94].

Самим раннім прозапальним цитокіном, який забезпечує контроль і регуляцію хемотаксису поліморфноядерних гранулоцитів, є інтерлейкін-8 (ІЛ-8), який виступає також в якості активуючого фактора для нейтрофілів, тому ІЛ-8 можна вважати потужним медіатором запалення. Підвищений рівень ІЛ-8 асоціюється з гострими і хронічними запальними станами при різних патологіях [95]. У хворих з різними захворюваннями, при яких в патологічний процес залучаються нирки, виявляється значне підвищення концентрації ІЛ-8 у сечі [96]. Доведено, що рівень ІЛ-8 в сечі може відображати ступінь запального процесу в нирці, а його підвищення, наприклад, в сечі хворих на пієлонефрит, було запропоновано вважати показником активності процесів ниркового фіброгенезу [97].

Експериментальні та клінічні дані свідчать про те, що ІЛ-8 належить важлива патофізіологічна роль в розвитку ГН з нефротичним синдромом – підвищення продукції хемокіну посилює лейкоцитарну інфільтрацію гломерул, сприяючи злиттю ніжок подоцитів [98]; може вносити свій внесок при пошкодженні гломерулярного ендотелію при ANCA-асоційованому гломерулонефриті [99], корелює з гломерулярною ендокапілярною проліферацією і з ступенем гематурії у хворих з IgA-нефропатією [100]. Виявлений високий рівень ІЛ-8 в сечі хворих на системний червоний вовчак пов'язаний з активністю ниркового ураження з тубулоінтерстиціальним ушкодженням [101]. Прямий кореляційний зв'язок був установлений між активністю нефротичного синдрому і рівнем ІЛ-8 в сечі дітей з

гормоночутливим варіантом нефротичної форми гломерулонефриту, в яких за даними вірусологічного обстеження виявлена висока частота герпесвірусної інфекції [79], але взаємозв'язку між рівнем ІЛ-8 та наявністю герпесвірусної інфекції встановлено не було. Вищезазначені дані вказують на патогенетичне значення ІЛ-8 в розвитку та прогресуванні гломерулонефриту як первинного, так і обумовленого системними захворюваннями. Проте недостатніми і суперечливими залишаються дані щодо клінічного значення визначення даного цитокіну в сечі хворих на гломерулонефрит за наявності активної (реактивованої) герпесвірусної інфекції .

У хворих на гломерулонефрит, в тому числі за наявності герпесвірусної інфекції, відкладення імунних комплексів в нирці або їх утворення *in situ* є пусковим механізмом для ланцюга запальних реакцій – після початкового ушкодження нирок відбувається активація комплементу, інфільтруючих імунних і резидентних клітин тканини органу і виділення великої кількості медіаторів запалення (протеолітичних ферментів, хемокінів, різних цитокінів і факторів росту), залучення циркулюючих лейкоцитів та ін. [102]. Серед хемокінів найбільш сильну хемотаксичну активність проявляє моноцитарний хемоаттрактантний протеїн (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1), який також вважається ключовим в патогенезі тубулоінтерстиціальних змін в нирці [103].

MCP-1 експресується у відповідь на дію широкого спектру цитокінів (ІЛ-6, ФНП-α, ІЛ-1β) переважно тубулярним епітелієм, а також мононуклеарними клітинами в зонах інтерстиціального запалення та ендотелієм судин інтерстицію. Саме цей цитокін є головним тригером, який забезпечує міграцію, адгезію і активацію мононуклеарних клітин, які виділяють комплекс прозапальних цитокінів (ФНП-α, ІЛ-6, ІЛ-8); сприяє підвищенню кількості активованих моноцитів/макрофагів поряд з канальцевими епітеліальними клітинами, ушкоджуючи їх; стимулює секрецію основного профіброгенного цитокіну – трансформуючого фактору росту (ТФР-β1). В умовах підвищеної продукції ТФР-β1 відбувається трансформація резидентних фібробластів в міофібробласти, які

володіють спроможністю продукувати у великій кількості компоненти екстрацелюлярного матриксу [104], що лежить в основі склеротичних змін паренхіми. Отже, в даний час є підстави припустити, що тубулоінтерстиціальна поразка є істотним чинником прогресування як первинно інтерстиціальних, так і гломерулярних захворювань.

Розвиток захисних запальних реакцій (у відповідь на інвазію патогенів, при взаємодії імунних комплексів з рецепторами на поверхні клітин) супроводжується вивільненням та активацією великої родини протеаз – серинових протеаз, екстрацелюлярних матриксних металопротеаз, які синтезуються й акумулюються в первинних лізосомальних гранулах поліморфноядерних лейкоцитів і відіграють основну роль в деградації компонентів екстрацелюлярного матриксу, і тим самим визначають характер та прогноз перебігу захворювання. Протеази можуть представляти небезпеку для тканин організму, якщо не реалізують свою фізіологічну функцію деградації аутологічних (або бактеріальних) структурних білків у середині активних фагоцитів, а в значній кількості вивільнюються у позаклітинне середовище. Регуляція рівня активності протеаз здійснюється системними та місцевими інгібіторами, які попереджають надмірний протеоліз. Основна функція антипротеаз – перешкоджання деструкції тканин при надмірній імунній відповіді. Одним з важливих інгібіторів є інгібітор секреторної лейкоцитарної протеази (secretory leukocyte protease inhibitor, SLPI). Відомо, що SLPI – катіонний неглікозильований білок з м. м. 11,7 кДа, включає 107 амінокислот, продукується епітеліальними клітинами, в тому числі епітеліальними клітинами ниркових канальців, нейтрофілами та макрофагами слизових оболонок і як учасник місцевого імунітету може забезпечувати контроль локальної запальної реакції [105] і виступати в якості важливого регулятора вродженого і адаптивного імунітету [105, 106]. SLPI здатний пригнічувати дію нейтрофільної еластази, в меншій мірі – трипсину та катепсину G; впливає на регуляцію продукції антизапальних цитокінів ІЛ-10 та ТФР-β макрофагами [106]. SLPI володіє як антипротеазною, так і антибактеріальною дією, є ефективним проти широкого

спектру грибів та вірусів [107]. Показано, що SLPI відіграє важливу роль в місцевій регуляції протеолітичної активності, оскільки при різних запальних станах у нирці порушується протеазо-антипротеазний баланс [108].

Даних щодо визначення рівня SLPI у хворих із захворюваннями нирок недостатньо. Зустрічаються окремі дані про підвищення рівня SLPI в сечі хворих на пієлонефрит [109], частіше – при захворюваннях бронхолегеневої системи та шлунково-кишкового тракту, де встановлено, що SLPI здатний індукувати хемотаксис нейтрофілів, знижувати їх апоптоз і при цьому не впливає на вивільнення IL-8, тому різні варіанти реагування інгібіторів можуть бути використані для оцінки стану хворих і хронізації патологічного процесу [110]. Дані щодо рівня SLPI при різних захворюваннях за наявності вірусної інфекції є суперечними – посилення його рівня в слині спостерігалось у хворих з ВІЛ-інфекцією [111] і зниження експресії SLPI в Епштейна-Барр-позитивних клітинах тканин у онкохворих [112]. Отже, значимість інгібіторів у регуляції внутрішньоклітинного протеолізу при розвитку патологічних процесів, в тому числі в нирці, залишається до кінця не розкритою.

Зацікавленість в проведенні дослідження щодо вмісту IgA та рівня анти-C1q антитіл в сироватці крові хворих на гломерулонефрит обумовлено їх можливістю приймати участь в патогенезі захворювання.

Так, антитіла класу IgA є надзвичайно важливими в захисті від вірусних інфекцій завдяки своїй спроможності обволікати віруси і перешкоджати проникненню їх у клітину-мішень, але нарівні з тим вони можуть утворювати імунні комплекси з ендо- та екзоантигенами, які відкладаються в судинах нирки - на базальній мембрані капілярів клубочків. Сформовані імунні комплекси викликають активацію системи комплемента за класичним шляхом (C1q – перший компонент класичного шляху активації комплементу). Комплемент приймає участь в захисті організма від бактерій, вірусів, клітин пухлин, однак при деяких захворюваннях, в тому числі гломерулонефриті, він сприяє розвитку запалення, оскільки руйнує клітинну стінку антигена-мішені, якою стає, крім безпосередньо антигенів, базальна

мембрана капілярів клубочків. В звичайних умовах антигени з імунного комплексу руйнуються за допомогою нейтрофілів та моноцитів, проте при гломерулонефриті комплекси осаджуються на базальній мембрані і фагоцитуючі клітини не можуть до них дістатися. При цьому лейкоцити виділяють речовини поряд з імунним комплексом, отже поряд з мембраною, в результаті чого базальна мембрана зазнає ушкодження.

Сучасні дані зарубіжної літератури показують, що антитіла проти 1-го субкомпоненту комплементу (анти-C1q антитіла) відіграють роль в генезі імунокомплексних захворювань, сприяючи утворенню імунних комплексів та відкладенню їх в гломерулах, результатом чого стає місцеве запалення і розвиток гломерулонефриту [113,114]. S. Y. Hu з співавт. не пов'язують наявність анти-C1q-антитіл в сироватці крові з тяжкістю ушкодження нирки у пацієнтів з аутоімунним захворюванням нирок, обумовлених анти-GBM, хоча анти-C1q-антитіла в низькому титрі визначались в 60 % хворих, як із відкладенням C1q-депозитів в нирці, так і без [115]. Тому значення цих антитіл до кінця не визначено, а думки стосовно їх ролі суперечливі.

Таким чином анти-C1q антитіла, з одного боку, можуть бути частиною вродженого імунітету і приймати участь в розпізнаванні чужорідних мікроорганізмів, вірусів і запуску системи комплементу за класичним шляхом; з другого – здатні розвивати та підтримувати запалення - порушувати нормальний кліренс імунних комплексів при хронічній патології, особливо при збільшенні розмірів імунних комплексів та їх накопиченні як в циркуляторному руслі, так і місцево, в тканинах - молекула C1q зв'язує імуноглобулін у складі імунних комплексів і може слугувати потенційним антигеном для анти-C1q антитіл. Крім того, анти-C1q антитіла можуть впливати на фізіологічну роль C1q після зв'язку з імунними комплексами, що може порушувати динамічну рівновагу з іншими субкомпонентами C1 та активацію останнього.

Слід зазначити, що антитіла до C1q-компоненту комплемента зустрічаються у великій кількості при аутоімунних захворюваннях нирок і мають важливе діагностичне значення [116, 117, 118].

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Загальноклінічна характеристика обстежених хворих

Було обстежено 112 дітей віком від 2 до 17 років, які перебували на лікуванні у нефрологічному відділенні ДКЛ№7 м. Києва (клінічна база державної установи «Інститут нефрології АМН України») з хронічним гломерулонефритом (ГН) і еристроцитурією та нефротичним синдромом (НС) хронічного гломерулонефриту.

Клінічна верифікація діагнозу проводилася на підставі традиційних клініко-лабораторних досліджень відповідно до класифікації хронічного гломерулонефриту за протоколами МОЗ України [2]. Усі діти пройшли комплексне стандартне клініко-лабораторне обстеження з вивченням анамнезу захворювання.

Критерії включення в дослідження: пацієнти з хронічним гломерулонефритом (давність захворювання не менше 1-го року), згода на участь у дослідженні.

Критерії виключення з дослідження: давність захворювання менше 1-го року, відмова від обстеження на наявність герпесвірусної інфекції, виявлення інших супутніх інфекцій.

При виконанні роботи дотримані правила безпеки пацієнта, морально-етичні норми відповідно до положень GCP.

Серед обстежуваних було 65 хлопчиків (58%) та 47 дівчаток (42%), віком від 2 до 6 років – 39 дітей (34,8%), 7-11 років – 39 дітей (34,8%), старших 11 років – 34 (30,4%).

Розподіл пацієнтів відповідно до статті та форми ГН представлено у таблиці 2. 1. 1.

Таблиця 2.1.1 - Розподіл пацієнтів відповідно до статті, віку та форми гломерулонефриту

Форма ГН		Абс. кількість	%	стать			
				Хлопчики		дівчатка	
				абс.	%	абс	%
ГФ		54	48,2	29	44,6	25	53,2
НФ	ГЧ	30	26,8	19	29,2	11	23,4
	ГР	28	25	17	26,2	11	23,4
Усього:		112	100	65	100	47	100

Всі діти були поділені на 3 клінічні групи: діти з хронічним гломерулонефритом та еритроцитурією – клінічна група гематурична форма хронічного гломерулонефриту (ГФГН) - 54 (48,2 %) пацієнта, групу з хронічним гломерулонефритом, нефротичним синдромом та стероїдчутливістю - клінічна група стероїчутливий нефротичний синдром(СЧНС) – 30 дітей (26,8 %), групу з хронічним гломерулонефритом, нефротичним синдромом та стероїдрезистентністю – клінічна група стероїдрезистентний нефротичний синдром (СРНС) - 28 дітей (25 %). В кожній клінічній групі порівнювалися діти з гломерулонефритом без герпесвірусної інфекції (ГВІ), діти з гломерулонефритом та ГВІ, що отримували противірусну терапію та діти з гломерулонефритом і супутньою ГВІ, які з певних причин (відмова батьків) не отримували противірусну терапію. Усі діти отримували терапію основного захворювання згідно протоколів лікування гломерулонефриту у дітей затверджених МОЗ України [2]. Давність захворювання в досліджуваних групах становила від 1 до 10 років (4 ± 2,5 років). Кількість рецидивів при нефротичному синдромі коливалася від 1 до 6 (в середньому 1,5 ± 1,6).

Співвідношення хлопчиків і дівчаток в цілому складало 1,4:1, розрізняючись при різних клінічних варіантах гломерулонефриту від 1,16:1 при ГФГН, до 1,7:1 при СЧГН, що, вочевидь, зумовлено особливосями вибірки. Середній віковий склад при порівнянні груп дітей достовірно не відрізнялись ($p>0,05$), але при аналізі груп з

стероїдчутливою та стероїдрезистентною формою виявлено статистичні відмінності ($p<0,05$). Серед дітей з гематуричною формою переважали діти від 7 до 11 років (40,7 %). Стероїдчутливий гломерулонефрит частіше розвивався у дітей віком до 6 років

(46,7%), а стероїдрезистентній гломерулонефрит частіше виявлено у дітей старших 11 років (57,2 %). Такий розподіл згідно віку корелює з даними літератури, згідно яких дітям молодшого віку частіше характерний стероїдчутливий варіант перебігу гломерулонефриту, а підлітки частіше хворіють на стероїдрезистентний нефротичний синдром. (табл. 2.1.2)

Таблиця 2.1.2 - Розподіл хворих за віком та клінічним варіантом захворювання

Форма ГН		Вік хворих (роки)					
		<6		7-11		>11	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
ГФ (n=54)		19	35,2	22	40,7	13	24,1
НФ (n=58)	СЧ (n=30)	14	46,7	11	36,7	5	16,6
	СР (n=28)	6	21,4	6	21,4	16	57,2

Дебюту гломерулонефриту передували гостра респіраторна інфекція (ГРІ), ангіни, кишкові інфекції. При порівнянні структури тригерних факторів при хронічному гломерулонефриті з еритроцитурією та нефротичному синдромі хронічного гломерулонефриту можна відмітити, що в обох випадках частіше захворюванню передувала ГРІ (63 % та 70,6 %,), що може опосередковано вказувати на порушені механізми противірусного захисту, а також про здатність вірусів запускати імунозапальні процеси в організмі. Також ідентичність тригерних факторів в обох групах з переважанням вірусних інфекцій свідчить про важливу

роль вірусів та факторів противірусного захисту в механізмі формування захворювань нирок. При порівнянні частоти виявлення тригерних факторів залежно від форми гломерулонефриту достовірних відмінностей не було (p>0,05) (табл. 2.1.3)

Таблиця 2.1.3 - Захворювання, що передували маніфестації гломерулонефриту у досліджуваних груп дітей

Захворювання	ГФ (n=54)		НФ (n=58)			
			СЧ (n=30)		СР (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
ГРІ	34	63	20	66,7	21	75
Ангіна	6	11,1	5	16,7	4	14,3
ГКІ	6	11,1	1	3,3	2	7,1
Випадково	5	9,3	4	13,3	1	3,6
Вакцинація	3	5,5	0	0	0	0

За стандартними лабораторними обстеженнями показники в гострому періоді захворювання відповідали важкості патологічного процесу в нирках в рамках нозологічної форми ГН. Середні значення показників отриманих при стандартному обстеженні, переважно мало відрізнялися в межах однієї нозологічної форми захворюванняння.

У період загострення ГН пацієнти отримували комплексну терапію, відповідно формі захворювання, та противірусну терапію при наявності супутньої герпесвірусної інфекції. Проведена терапія включала базисне лікування (режим, дієту, антибактеріальні засоби, за показаннями інфузійну терапію, діуретики, гіпотензивні препарати та інші). При ГФГН додатково призначалась метаболічна терапія (поліненасичені жирні кислоти, вітаміни Е, гепатопротектори,

цитопротектори, кристалолітики, фолієва кислота, вітаміни групи В), препарати амінохінолінового ряду строком 3-12 міс. При НС окрім базисного лікування пацієнти отримували терапію за протоколами діагностики і лікування гломерулонефриту МОЗ України [2], що передбачають лікування глюкокортикоїдами (ГК) та цитостатиками (ЦС) у різних комбінаціях. ГК призначались у дозі 1,5-2 мг/кг маси тіла (за преднізолоном) тривалістю 6-8 тижнів з переходом на підтримуючу терапію (зниження 5 мг/день до повної відміни і наступним цикловим прийомом тричі на тиждень 30-50% від максимальної дози). У динаміці підтримуюча доза знижувалась на 2,5 мг кожні 8 тижнів. Загальна тривалість лікування становила 9-15 місяців. При значному набряковому синдромі використовувалися парентеральні ГК (зі збільшенням дози в 1,5-2 разив зв'язку з прискореною елімінацією препарату) з наступним переходом на пероральні препарати. Послідовно до монотерапії ГК підключали ЦС. Серед цитостатиків призначали хлорбутін (максимальна доза 0,15-0,2 мг/кг), циклофосфан (10-15 мг/кг довенно1р/3 тижні або 2-3 мг/кг при пероральному прийомі), мофетилумікофенолат (500мг/м^2 12-18 міс). На 8-10 тижні лікування ЦС переходили на половинну дозу, яку пацієнти отримували 8-12 міс (одночасно з цикловим прийомом ГК). У частини дітей терапія доповнювалася антиагрегантами та антикоагулянтами. Максимальні дози препаратів призначалися тільки в умовах стаціонару.

Крім того всі діти проходили обстеження на ГВІ, а саме на віруси простого герпесу 1/2 типу (ВПГ), цитомегаловірус (ЦМВ), вірус Ебштейна-Барр (ВЕБ). При наявності хронічної ГВІ, дітям призначалась противірусна терапія, що включала ациклічні нуклеозидні аналоги (ацикловір, валацикловір), препарати α-інтерферону, пробіотики та імунотропні препарати.

Треба відзначити, що серед обстежених дітей 27 (21,4%) не мали супутньої хронічної ГВІ, у 75,9% (85 дітей) – виявлена активна (реактивована) ГВІ. Окремо виділено групу дітей, котрі з певних причин (брак коштів, відмова батьків) відмовилися від противірусної терапії – 26 дітей.

Ефективність лікування оцінювалась через 3-12 місяців від початку противірусної терапії.

Результат лікування (наприкінці застосування максимальних доз ГК та ЦС) оцінювали за клініко-лабораторними показниками, що характеризували важкість захворювання (макрогематурія, АГ, ПФН тощо), а також за наявністю рецидивів захворювання (при СЧГН) та тривалістю ремісії (при СРГН).

2.2. Методи дослідження

Для досягнення мети дослідження та вирішення поставлених завдань використовували клініко-лабораторні, серологічні, молекулярні, іммунологічні та морфологічні методи обстеження.

Із клінічних методів обстеження використовували огляд, загальний та біохімічний аналізи крові, загальний аналіз сечі, аналіз сечі за Нечипоренком, визначення добової протеїнурії. Функціональний стан нирок оцінювали за рівнем креатинінемії, ШКФ та концентраційної спроможності нирок в пробі Зимницького. Згадані обстеження проводилися на різних етапах терапії ГН згідно з протоколами лікування хронічного ГН МОЗ України. У період проведення патогенетичної терапії пацієнта обстежували стаціонарно кожні 3 міс, після її відміни – щорічно.

Рівень специфічних IgG проти вірусів групи герпесу (ВПГ, ЦМВ, ЕБВ) досліджено за допомогою тест-систем для іммуно-ферментного аналізу (ІФА) 4-го покоління (Herpes Simplex Virus Type 1+2 IgG ELISA, CMV IgG ELISA, Epstein-Barr Virus (EBNA-1) IgG ELISA, Epstein Barr Virus (VCA) IgG ELISA, "DRG" Німеччина; з використанням імуноферментного аналізатора "Stat Fax 2100" (США) згідно інструкції виробника. При застосуванні цих тест-систем рівень Ig до досліджуваного вірусу потрапляв в зони оптичної щільності, які різнилися діагностичною значимістю (табл. 2.2.1).

Таблиця 2.2.1 - Зони результатів виявлення специфічних IgG у сироватках крові в ІФА та їх діагностичне значення

Зона	Перевищення максимальних показників оптичної щільності, %	Діагностичне значення результату
А	<15	негативний результат ("норма"): відсутність контакту з вірусом
Б	15-20	«сіра зона»: контакт з вірусом можливий
В	21-60	позитивний результат: є інфікування з не уточненим рівнем активності
Г	>60	позитивний результат: діагностично значимий рівень підтвердження активної імунної відповіді на активну (реактивовану) вірусну інфекцію

Згідно інструкції виробника при відсутності контакту з вірусом максимальні показники оптичної щільності ІФА не перевищують 15% після виключення середньої щільності абсорбції в контролі (зона А), що відповідає негативному результату чи «нормі» (референтні значення у неінфікованих осіб згідно інструкції до тест-системи). В періоді активної фази вірусної інфекції (або її реактивації) з інтенсивною імунною відповіддю організму рівень противірусних антитіл IgG зростає в 4 і більше разів (зона Г) (рис. 2.2.1).

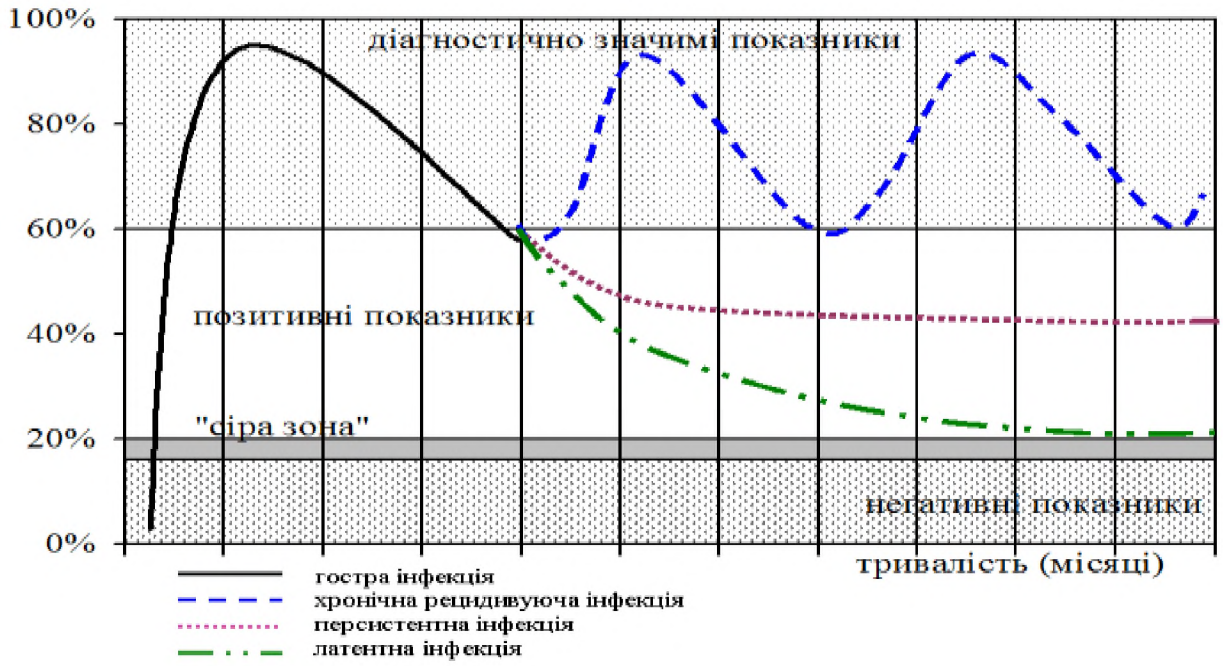


Рис. 2.2.1- Динаміка специфічних *IgG* у сироватках хворих з ГВІ

Дослідження наявності специфічних *IgM* проведено якісним методом з використанням імуноферментного аналізатора *"Stat Fax 2100"* США, тест система Вектор Бест (РФ).

Визначення *IgG* та *IgM* виконано в лабораторії мікробіології ДУ "ІН НАМНУ" (свідоцтво про атестацію № ПТ-375/13 від 23.10.2013) та в комерційних лабораторіях м. Києва (Діла: *http://dila.ua*, ДНК-лабораторія: *http://www.dnk-lab.com.ua*).

Для виявлення ДНК досліджуваних вірусів використано сечу. ДНК-діагностику методом ПЛР проводили у відділі нейробіохімії ДУ «Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України» (свідоцтво про атестацію №ПТ – 221/14 від 04.07.2014р.), використовуючи ампліфікатор «Терцик» (РФ). Детекцію ДНК проводили за допомогою електрофоретичного аналізу в агарозному гелі. В постановці ПЛР застосовували праймери «Ампли Сенс» виробництва ТОВ «Інтерлабсервіс» (РФ). Додаткові ДНК-дослідження проводили в приватних лабораторіях м. Києва (Діла: *http://dila.ua*, ДНК-лабораторія: *http://www.dnk-lab.com.ua*).

Через низький відсоток виявлення вірусів герпесу при використанні сечі було запропоновано використовувати осад сечі для збільшення кількості суспензованих клітин і, відповідно, вірогідності знайти вірус-вмісткі клітини.

У 47 дітей, хворих на ГН, та 9 умовно здорових дітей відповідного віку виконували дослідження окремих показників системного та локального імунітету методом ІФА: кількісне визначення *sIgA* та ІЛ-8 у ранковій сечі (набори реактивів фірм «Хема» та «Вектор Бест», РФ), *MCP-1* (тест-система фірми *«Bioscience»*, Австрія), *SLPI* (тест-система фірми *«Hycult Biotech»*, Нідерланди) та рівню антитіл до *C1q*-компоненту комплемента (тест-система фірми *Orgentec Diagnostika*, Німеччина). Крім того, визначали рівень сироваткових *IgA* методом радіальної імунодифузії по *Manchini*.

У 43 хворих в процесі терапії чи по її завершенні для уточнення лікувальної тактики проведено черезшкірну біопсію нирки з використанням біопсійних голок *Unicut* (*17-gange, Angiomed*: Німеччина) під контролем ультразвукового сканера. Отриманий стовпчик тканини досліджували безпосередньо після біопсії світлооптично для корекції обсягу матеріалу. Від коркового шару в краплі глютаральдегіду лезом відокремлювали шматочок до 2 мм для електронної мікроскопії та занурювали в розчин глютеральдегіду. Ще третину нефіксованого матеріалу заморожували для імунофлюоресцентного дослідження. В подальшому заморожені зрізи товщиною 2-4 мкм обробляли міченими люоресцеїном ізотіоционатом поліклональними антитілами до *IgA, IgG, IgM*, легких ланцюгів κ і λ. Препарати переглядали у люмінесцентному світлі з синім збуджуючим фільтром. Залишок нефробіоптату занурювали в 10% розчин формаліну (на фосфатному буфері з *pH* 7,4) на 12-24 годин для підготовки до світлооптичного дослідження, потім зневоднювали в спиртах висхідної міцності і фіксували парафіном. З парафінових блоків роторним мікротомом виготовляли серійні зрізи товщиною 2-4 мкм, які фарбували гематоксилін еозином, трихромом (за Масоном), пікрофуксином (за Ван-Гізоном), конго красним, основним–гематоксиліном, виконували перйодне

кисле метенамінове срібне забарвлення за Джонсом-Моурі та перйодне кисле забарвлення за Шифом.

Кількість клубочків в нефробіоптаті склала 12/9;22. При виконанні гістологічного дослідження застосовували, також імунофлюоресцентні методики та електронну мікроскопію. Діагноз формулювався згідно уніфікованої морфологічної класифікації.

Для статистичної обробки результатів застосовували пакет програм Microsoft Office Excel for Windows 7 та STATISTICA 6 (версія 6.1). При цьому розраховували значення середньої величини показника (M), середнього квадратичного відхилення (SD), медіани вибірки (Me), нижнього (25%) та верхнього (75%) перцентилів. Для виявлення міжгрупових відмінностей використовували параметричний t-критерій Ст'юдента, Критерій Пірсона (χ^2) та точний критерій Фішера(φ). Кореляційні зв'язки оцінювали за допомогою коефіцієнта кореляції Спірмена (ρ). Рівень значимості вважали достовірним при $p<0,05$ (довірча вірогідність на рівні 95%) з уточненням реальної величини p до третього знаку .

РОЗДІЛ 3

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Частота та характер виявлення герпесвірусної інфекції у дітей з хронічним гломерулонефритом

При обстеженні 112 дітей з гематурчною та нефротичною формами хронічного гломерулонефриту, у 85 (75,9 %) було виявлено діагностично значуще підвищення титрів антитіл до вірусів групи герпесу. 27 пацієнтів (24,1 %) з відсутніми діагностично значущими титрами антитіл до названих вірусних агентів були зачисленні до контрольної групи.

По структурі інфікованості виявлено, що 37 дітей мали мікст-інфекцію (43,5 %), а 48 пацієнтів (56,5 %) інфіковані одним типом вірусу. Більш детально структура розподілу хронічної ГВІ представлена на рисунку 3.1.1.

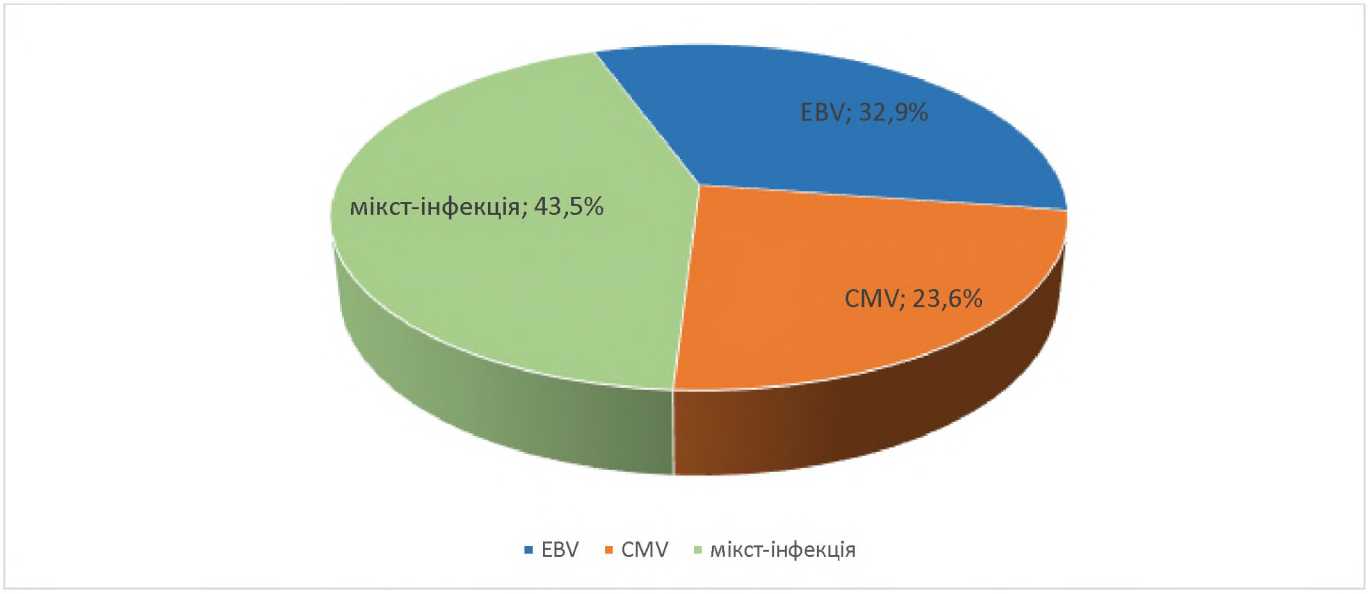
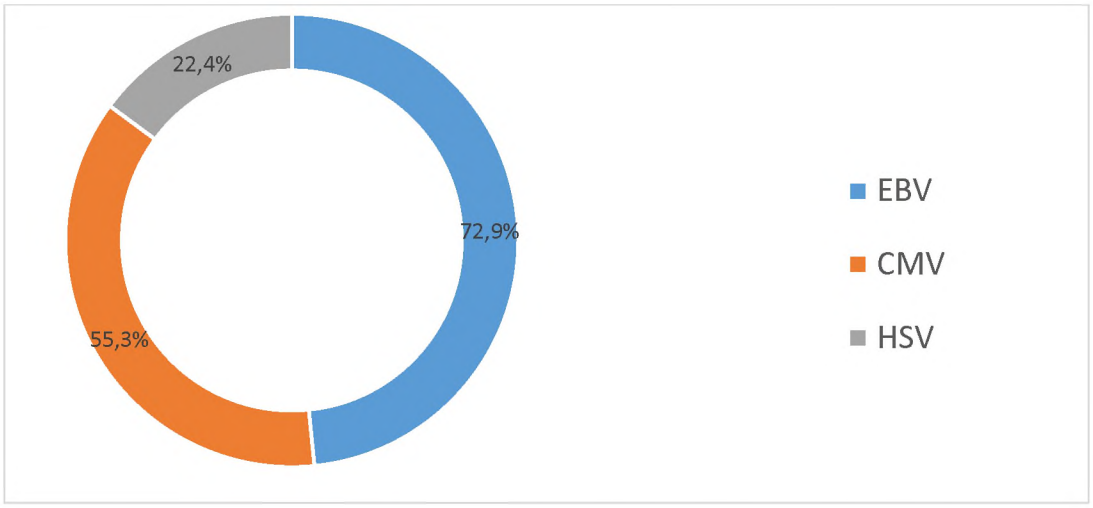


Рис. 3.1.1 - Структура розподілу хронічної ГВІ у дітей з ГН

Найбільша частка в структурі хронічної ГВІ припадала на мікст-інфекцію в різних варіантах. Серед хворих з виявленим одним типом вірусу частіше

зучтрічалась ЕБВ-інфекція 28 (32,9 %), на другому місці ЦМВ-інфекція 20 (23,6 %) дітей, тобто у кожного 3-го та 4-го досліджуваного відповідно. Серед мікст-інфікування частіше виявлено поєднання саме ЕБВ та ЦМВ - 21,2 % хворих, тобто у кожного 5-го пацієнта.

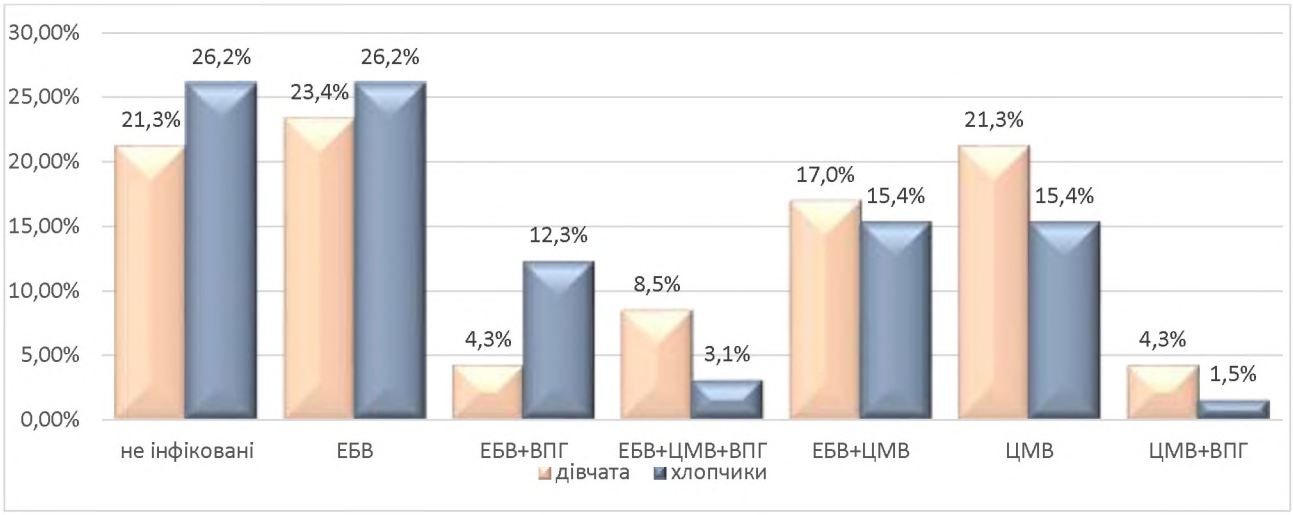
Загальна зустрічаємість кожного типу вірусу у моно- та мікст-інфекціях виглядає таким чином (рис.3.1.2). Так само, як і в попередньому розподілі частка ЕБВ-інфекції переважає над іншими і складає 64 (72,9 %), ЦМВ зустрічається у 47(55,3%) дітей і найменша частина припадає на ВПГ – 29 (22,4 %).



* загальна частота перевищує 100%, так як у одного пацієнта могли виявлятися специфічні антитіла до декількох вірусів.

Рис.3.1.2 - Вірусні агенти у складі моно- та мікст-інфекцій

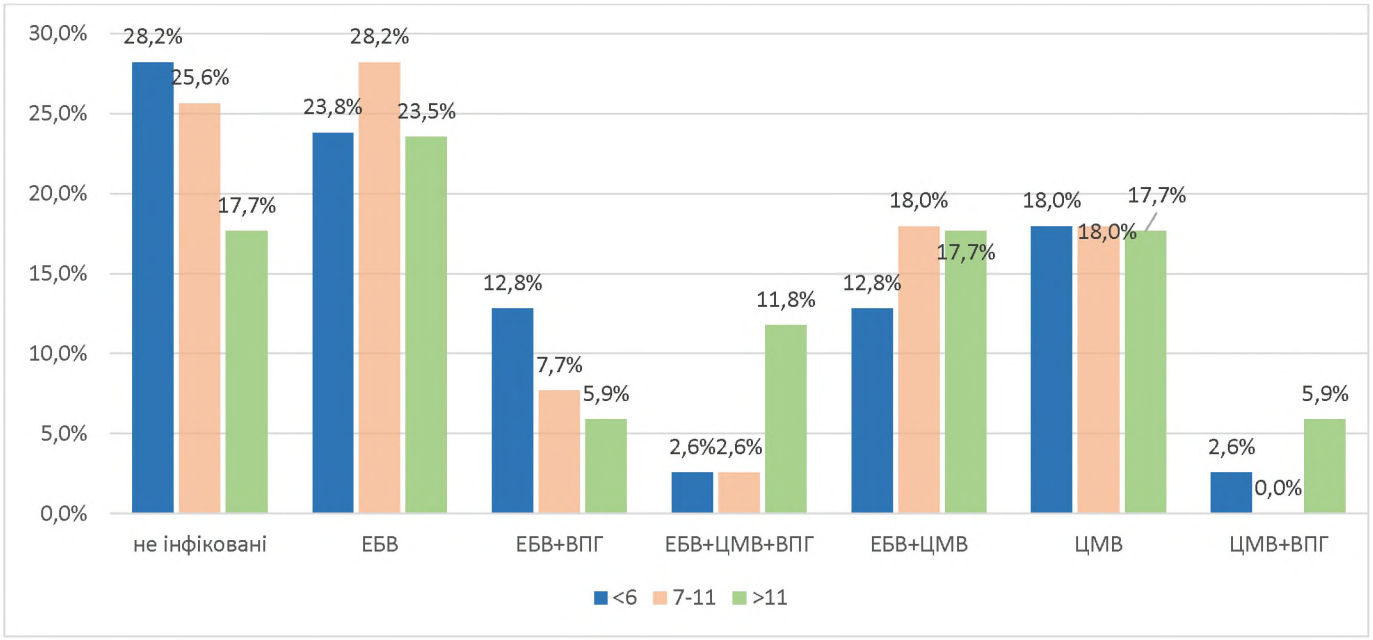
Серед дітей контрольної групи, та пацієнтів з хронічню ЕБВ-інфекцією переважали хлопчики (26,2 %). Але суттєвої різниці за статтю не відмічалось. Серед дітей з ЕБВ+ЦМВ переважали дівчата, але також без суттєвої різниці. Цікавим є спостереження, що у всіх дітей з ЦМВ-інфекцією в складі мікст-, або моноваріанту переважала частка дівчаток. При статистичному порівнянні відмінності недостовірні ($p>0,05$) (рис. 3.1.3).



*Критерій Пірсона (χ^2) p>0,05

Рис. 3.1.3- Розподіл пацієнтів з ГВІ за статтю

Аналогічним чином представлений розподіл дітей в залежності від віку (рис 3.1.4).



*Критерій Пірсона (χ^2) p>0,05

Рис. 3.1.4- Розподіл дітей з герпесвірусною інфекцією в залежності від віку

В контрольній групі переважали діти раннього віку, що можна пояснити тим, що ці дити, як правило не відвідували дошкільні навчальні заклади, де найбільш часто відбувається знайомство з вірусним агентом. Спостерігалась також однакова частота ЦМВ моноінфекції у всіх вікових групах, однак статистична

обробка не виявила між групами достовірних відмінностей. Отже це випадковість, а не закономірність (p>0,05). Інфікування трьома вірусами одночасно візначалось в 4 рази частіше у групі дітей старших 11 років.

Загальна частота активної/реактивованої ГВІ не залежала від віку пацієнтів. В той же час серед пацієнтів молодше 6 років частіше виявлялись серонегативні діти по відношенню до старших пацієнтів (p>0,05).

При подальшому аналізі окремо розглянуто структуру ГВІ при різних клінічних формах гломерулонефриту.

При аналізі структури герпесвірусної інфекції у дітей з гематуричною формою хронічного гломерулонефриту виявлено, що на мікстінфекцію припадає 35,3 % пацієнтів, найчастіше це інфікування ЕБВ+ЦМВ (13,0 %). На моноінфекцію, викликану ЕБВ (33,3 %), тобто майже стільки ж, як і на мікст-інфекцію. Контрольна група складає 20,4 %. Великий відсоток дітей, що увійшли до контрольної групи, а також пацієнтів з моно-інфекцією може бути пов'язаний з більш сталим імунітетом, оскільки в протоколи лікування даної клінічної форми ГН не входять імуносупресанти (рис. 3.1.5).

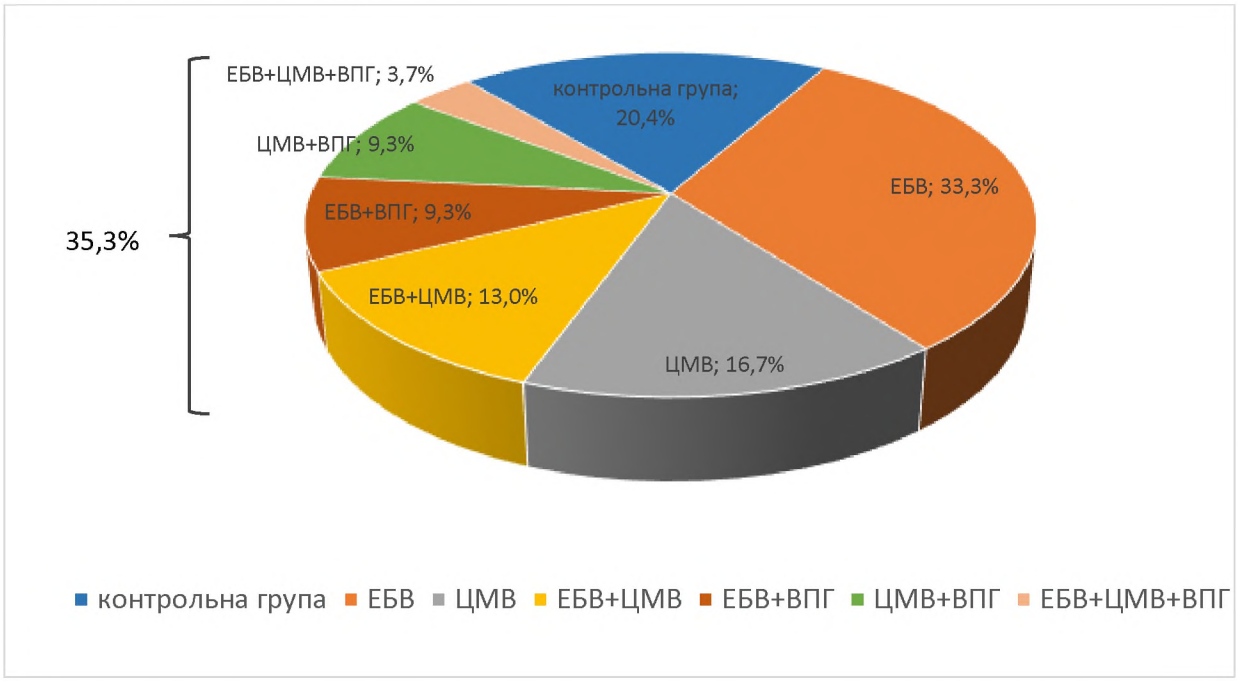


Рис 3.1.5 - Хронічний гломерулонефрит з еритроцитурією та герпесвірусна інфекція

В групі дітей з СЧНС відмічено великий відсоток інфікування одним типом вірусу 40 %. Зросла кількість пацієнтів з ЦМВ, що складала 23,3 % проти 16,7 % у групі з ГФГН. Відповідно в цій групі менша частка ЕБВ-інфекції в моноваріанті порівняно з гематуричною формою (16,7 % проти 33,3 %). Контрольна група склала 36,7 %, на відміну від 20,4 % у дітей з гематуричною формою ГН. Асоціацій трьох вірусів та ЦМВ+ВПГ не виявлено взагалі. Мікст-інфекції ЕБВ+ЦМВ та ЕБВ+ВПГ склали по 10 % кожна. (рис 3.1.6)

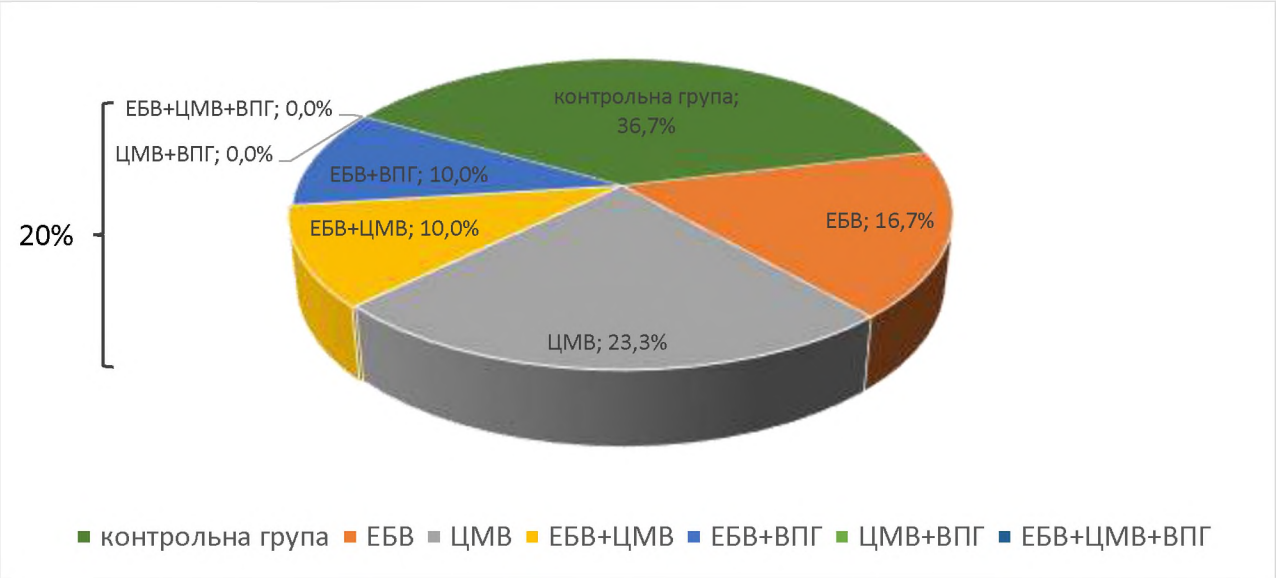


Рис.3.1.6 - СЧНС та герпесвірусна інфекція

Найбільша частка дітей з СРНС припадала на мікст-інфекцію (52,7 %), частіше зустрічались поєднання ЕБВ та ЦМВ (27,6 %). В моноваріанті ці два вірусі складали 17,9 % - ЕБВ та 14,3 % - ЦМВ. Порівняно з попередніми даними виросла частка вірусних асоціацій. Вірогідно, наявність вірусних асоціацій відображає некомпетентність противірусного захисту та імунної системи в цілому, обумовлену важким перебігом основного захворювання та імуносупресивною терапією (рис 3.1.7).

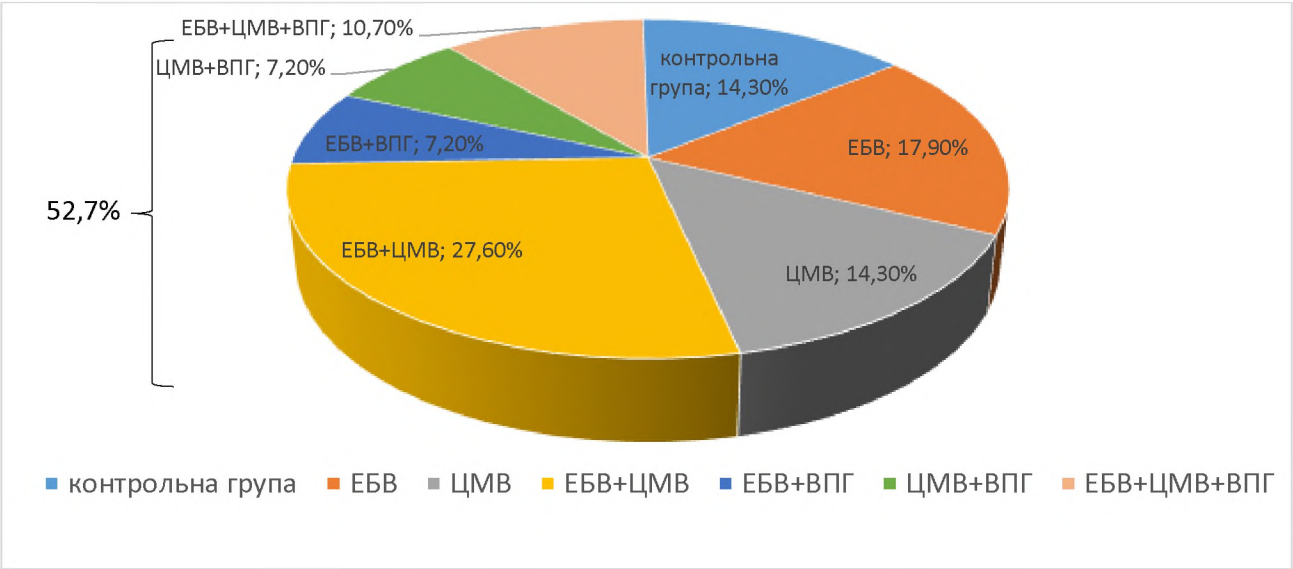


Рис. 3.1.7- СРНС та герпесвірусна інфекція

Узагальнено структура герпесвірусної інфекції в залежно від форми гломерулонефриту представлена в таблиці 3.1.1.

Таблиця 3.1.1 - Структура герпесвірусної інфекції залежно від форми ГН

Захворювання	ГФ (n=54)		НС (n=58)			
			СЧ (n=30)		СР (n=28)	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Відсутня ГВІ	11	20,4*	11	36,7*	4	14,3*
ЕБВ	18	33,3*	5	16,7*	5	17,9*
ЦМВ	9	16,7*	7	23,3*	4	14,3*
ЕБВ+ЦМВ	7	13*	3	10*	8	27,6*
ЕБВ+ВПГ	5	9,3*	3	10*	2	7,2*
ЦМВ+ВПГ	5	9,3*	0	0	2	7,2*
ЕБВ+ЦМВ+ВПГ	2	3,7*	0	0	3	10,7*

*Критерій Пірсона (χ^2) $p<0,01$

Серед дітей з СРНС найменший відсоток пацієнтів без ГВІ (14,3 %) та висока кількість вірусних асоціацій порівняно з іншими двома групами, що свідчить про скомпроментованість імунної системи внаслідок імуносупресивної терапії та важкого перебігу захворювання. Відмінності між групами достовірні на рівні $p<0,05$.

Таким чином, узагальнюючи отримані дані можна виділити деякі особливості персистенції ГВІ та перебігу хронічного ГН у дітей:

- У пацієнтів з гломерулонефритом відмічався високий процент активації (реактивації) вірусів родини герпесу, що в ряді випадків наближався до 90 %.
- Суттевих відмінностей за статтю та віком між пацієнтами з хронічним ГН і ГВІ та групою порівнянняне відмічалось.
- Серед усіх пацієнтів з хронічним ГН та ГВІ переважала мікст-інфекція в різних варіантах (43,5 %), серед моноінфекцій частіше зустрічалась ЕБВ (32,9 %)
- Основним компонентом структури ГВІ в складі моно- та мікст-варіантів виступає вірус Ебштейна-Барр (72,9 %).
- На фоні СРГН відмічається більш високий ступінь вірус-вірусних асоціацій (52,7 %) проти 35,3 % та 20 % при ГФГН та СЧНС відповідно.
- Кількість пацієнтів без активної ГВІ була найменшою серед пацієнтів з СРНС і складала 14,3 %, при ГФГН та СЧНС ці показники складали 20,4 % та 36,7 % відповідно. Отже, тривала імуносупресивна терапія є фактором ризику для активації (реактивації) ГВІ.

3.2. Хронічний гломерулонефрит з еритроцитурією у дітей на фоні герпесвірусної інфекції

Клінічний перебіг гломерулонефриту і характер супутніх захворювань були вивчені у 54 дітей з гематуричною формою хронічного гломерулонефриту. Діти були поділені на 3 групи: група 1 (n=11) – діти з хронічним гломерулонефритом та еритроцитурією без хронічної герпесвірусної інфекції (група порівняння); група 2 (n=33) – діти з хронічним гломерулонефритом, еритроцитурією та активною (реактивованою) герпесвірусною інфекцією, які отримували противірусну терапію; група 3 (n=10) – діти з хронічним гломерулонефритом, еритроцитурією та активною (реактивованою) герпесвірусною інфекцією, які з певних причин не отримували противірусну терапію.

Хронічна ГВІ була виявлена у 43 (79,6 %) дітей з гематуричною формою хронічного гломерулонефриту. У 22 (51,2 %) досліджуваних ГВІ розцінена як хронічна активна, яку підтверджували наявність високих титрів IgG (більше ніж в 4 рази за норму) та наявність ДНК вірусу в сечі (сечовому осаді) або крові методом ПЛР. У 21 (49,8 %) дітей виявлена хронічна ГВІ без ознак активності, ці діти мали високі титри IgG (більше ніж в 4 разі за норму), але ДНК вірусу при дослідженні сечі не виявлена. Дослідження сечового осаду методом ПЛР цим дітям не проводилося. Достовірних відмінностей в клініко-лабораторних даних між цими двома групами не виявлено ($p>0,05$).

Тривалість захворювання складала від 2 до 9 років (4 ± 2 роки). Дебют захворювання відбувався у віці від 3 до 15 років (8 ± 3,7роки).

При оцінці об'єктивного статусу враховували наявність субфебрильної температури тіла, лімфоцитозу, лімфаденопатії, частих ГРІ, гепатоспленомегалії .

Для групи дітей з хронічною ГВІ був характерний субфебрилітет, що зустрічався у кожного третього пацієнта (32,6 %). Підвищення числа лімфоцитів периферичної крові також зустрічалося у кожного третього пацієнта в даній когорті (39,5%), однак різниця з групою порівняння статистично недостовірна ($p>0,05$). Лімфоцитоз в периферичній крові пацієнтів може свідчити про хронічну приховану

вірусну інфекцію, однак така сама картина може триматися деякий час після ГРІ і бути характерною для частохворіючих дітей. У переважної кількості дітей з ГВІ виявлено лімфаденопатію (51,2 %) проти 18,2 % у контрольній групі ($p<0,05$), що свідчить про тривале вірусне навантаження, та напруження імунної системи. Більше половини досліджуваних відмічали часті ГРІ в групі з герпесвірусною інфекцією (65,1%), в групі без ГВІ ця частка складала лише 36,5 %, проте достовірних відмінностей не виявлено ($p>0,05$). У жодної дитини в когорті без інфікування не виявлено гепатоспленомегалії, у дітей з інфекцією збільшення печінки та селезінки відмічалось в кожному четвертому випадку(25,6 %) (таб. 3.2.1).

Таблиця 3.2.1- Клінічна характеристика хворих на ГФ ГН в залежности від наявності ГВІ (P±p%)

Ознака	ГФ ГН з ГВІ, (n=43)	ГФ ГН без ГВІ,(n=11)	p
Субфебрилітет	32,6 ± 7,2	9,1 ± 8,7	$p<0,05$
Лімфоцитоз	39,5 ± 7,5	18,2 ± 11,6	$p>0,05$
Лімфаденопатія	51,2 ± 7,6	18,2 ± 11,6	$p<0,05$
Часті ГРІ	65,1 ± 7,3	36,4 ± 14,5	$p>0,05$
Гепатоспленомегалія	25,6 ± 6,65	0	

Отримані дані переконливо свідчать про інфікування дітей вірусами родини Herpesviridae в різних варіантах перебігу ГВІ, від стертих форм до активного клінічного перебігу, а також про дефекти противірусного захисту.

При аналізі сечового синдрому розглядали ступінь вираженості еритроцитурії та протеїнурії. Еритроцитурія у дітей розцінювалась як незначна (до 100 ер в п/з), помірна (100-500 в п/з), виражена (все п/з). При аналізі порівнюваних груп виявилося, що в групі без ГВІ еритроцитурія частіше була представлена незначними цифрами, а в групі з ГВІ у кожного другого спостерігалась виражена еритроцитурія.

Проте статистично значущих відмінностей між цими групами не відмічалось (p>0,05) (Рис. 3.2.1).

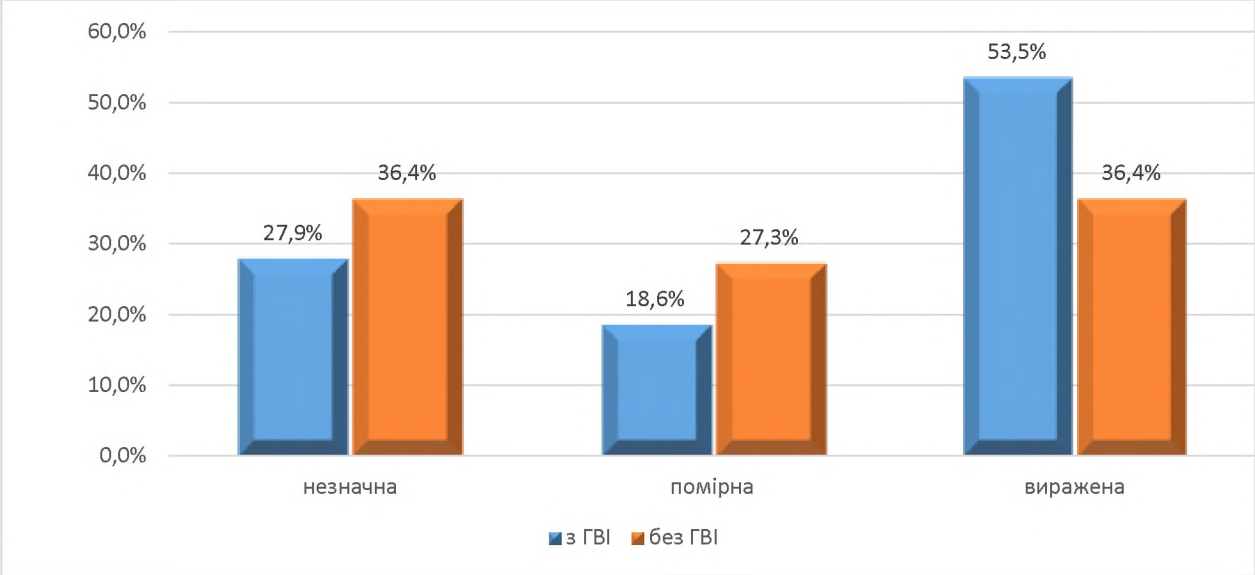


Рис. 3.2.1 - Ступінь еритроцитурії у дітей з ГН

В 67,4 % випадків в групі з ГВІ окрім еритроцитурії спостерігалась протеїнурія, при чому в 27,6 % більше за 1 г/л. В когорті без ГВІ протеїнурія була виявлена лише в 27,3 % досліджень. При чому ступінь протеїнурії не перевищував 1 г/л. Різниця між вибірками статистично достовірна (p<0,05).

Важкість перебігу захворювання оцінювали за наявністю макрогематурії, протеїнурії, артеріальної гіпертензії, підвищеного альбуміну добової сечі (АУ) до рівнів А2 за KDIGO, порушення функції нирок (табл. 3.2.2).

Таблиця 3.2.2 - Перебіг ГФГН на фоні ГВІ (P±p%)

Ознака	З ГВІ	Без ГВІ	p
Макрогематурія	48,8 ± 7,6	27,3 ± 13,4	p>0,05
Протеїнурія	67,4 ± 7,2	27,3 ± 13,4	p<0,05
Артеріальна гіпертензія	16,28 ± 5,6	9 ± 8,7	p>0,05
АУ	60,5 ± 7,5	27,3 ± 13,4	p < 0,05
ПФН	39,5 ± 7,5	18,2 ± 11,6	p>0,05

Макрогематурія зустрічалась майже у половини дітей з ГВІ, проти 27,3 % дітей контрольної групи, проте відмінності статистично не значущі. Порушення функції нирок діагностувалося в два рази частіше у дітей групи з ГВІ, ніж у контрольній групі. Одна дитина в групі з інфекцією сформувала ХНН. За рівнем артеріальної гіпертензії статистично значущих відмінностей не відмічалось. Середнє значення АУ в групі з супутньою ГВІ складало 105,9 ± 24,1, в контрольній групі – 26,9 ± 13,2. При чому в групі з вірусним навантаженням максимальне значення АУ складало 465 мг/д, проти 87,7 у групі порівняння ($p<0,05$) (рис. 3.2.2).

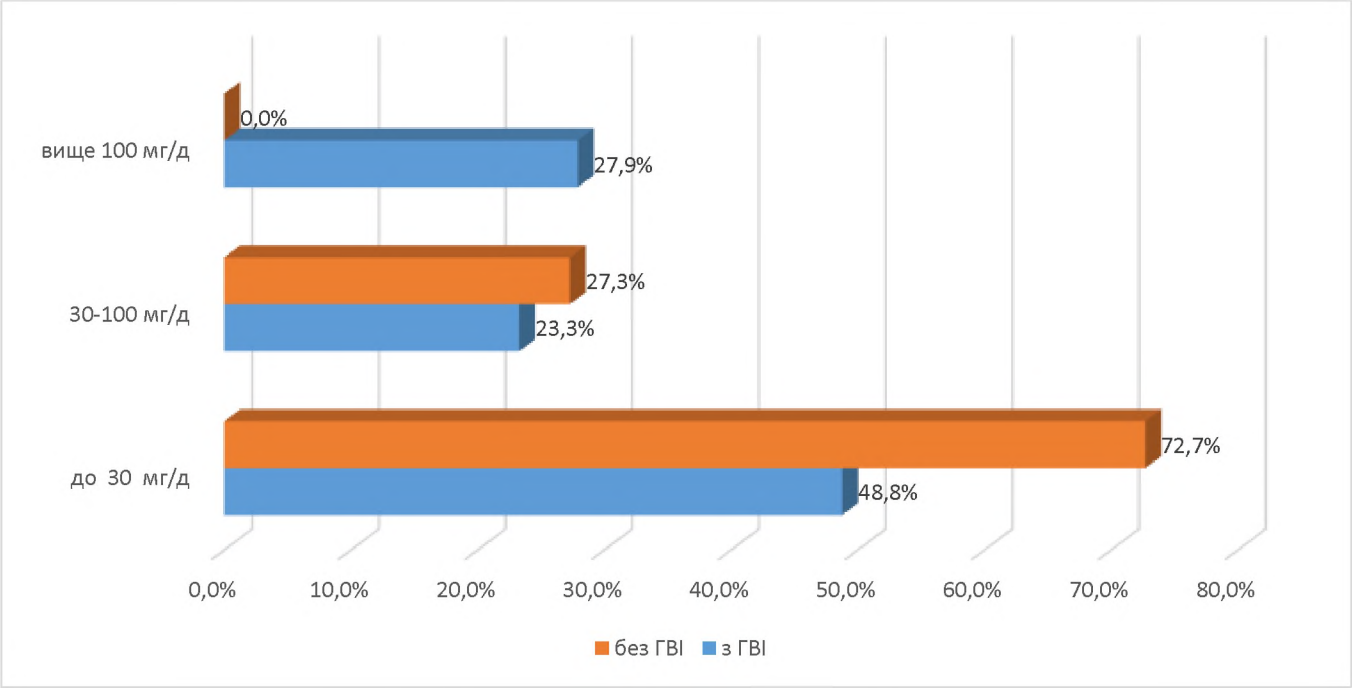


Рис. 3.2.2 - Рівень АУ в залежності від ГВІ

72 % дітей контрольної групи мали показники альбумінурії, які не перевищували норму, в пацієнтів з ГВІ цей відсоток складав лише 48,8 %. В жодної дитини групи порівняння не спостерігалось підвищення альбуміну сечі вище 100 мг/д.

Усі пацієнти з ГФГН отримали лікування згідно з протоколами МОЗ України, яке включало метаболічну терапію (поліненасичені жирні кислоти, вітаміни Е, гепатопротектори, цитопротектори, кристалолітики, фолієва кислота, вітаміни групи В) та препарати амінохінолінового ряду строком 3-12 міс. Крім того, при

документованій супутній герпесвірусній інфекції додатково призначалася комбінована противірусна терапія, яка включала декілька компонентів, основними серед яких були нуклеозидні аналоги та імуноорієнтовані препарати. Докладніше схеми терапії описані в главі «Матеріали та методи».

Серед дітей з виявленою хронічною герпесвірусною 10 пацієнтів (23,3 %) не отримували противірусну терапію з певних причин.

Результати лікування оцінювались через 3-12 міс від початку терапії. Оцінка результатів здійснювалась за клініко-лабораторними показаниками та показниками ІФА і ПЛР (у дітей, які отримували лікування). У хворих, які відмовилися від противірусного лікування, повторно стан інфікованості не визначали.

Ефективність противірусної терапії оцінювалась за клінічними та лабораторними показниками. А також за рівнем зниження титрів специфічних IgG до вірусів групи герпесу та наявністю ДНК вірусу в крові та сечі хворого. Лише у двох дітей залишався позитивним тест на наявність ДНК методом ПЛР, в усіх інших випадках ДНК вірусу було відсутнє. Титри специфічних IgG. до вірусів групи герпесу оцінювались за кількістю разів в які була перевищена норма (кількість норм). У пацієнтів, що отримували противірусну терапію відмічалось зниження титрів специфічних IgG. Дітям, які з певних причин не отримували противірусну терапію при наявності високих титрів специфічних IgG повторне серологічне обстеження не проводилось.

При аналізі клінічної симптоматики, характерної для ГВІ у пацієнтів, що отримували противірусну терапію, відмічалось зниження частоти субфебрилітету, лімфаденопатії та нормалізація розмірів печінки та селезінки ($p<0,05$). Частота ГРІ та лімфоцитозу в загальному аналізі крові статистично не відрізнялись. Однак після проведенної противірусної терапії відсоток частохворіючих дітей знизився з 63,6 % до 39,4 %. Що свідчить про стабілізацію імунної системи (Таб. 3.2.3).

Таблиця 3.2.3 - Клінічні ознаки ГВІ до та після противірусної терапії (P±p%)

Ознака	До терапії	Після терапії	p
Субфебрилітет	39,4±8,5	15,2±6,2	p<0,05
Лімфоцитоз	33,3±8,2	21,2±7,1	p>0,05
Лімфаденопатія	51,5±8,7	24,2±7,5	p<0,05
ГРІ	63,6±8,4	39,4±8,5	p>0,05
гепатоспленомегалія	27,3±7,8	8,2±6,7	p<0,05

Наглядно дані таблиці представлені на (рис. 3.2.3)

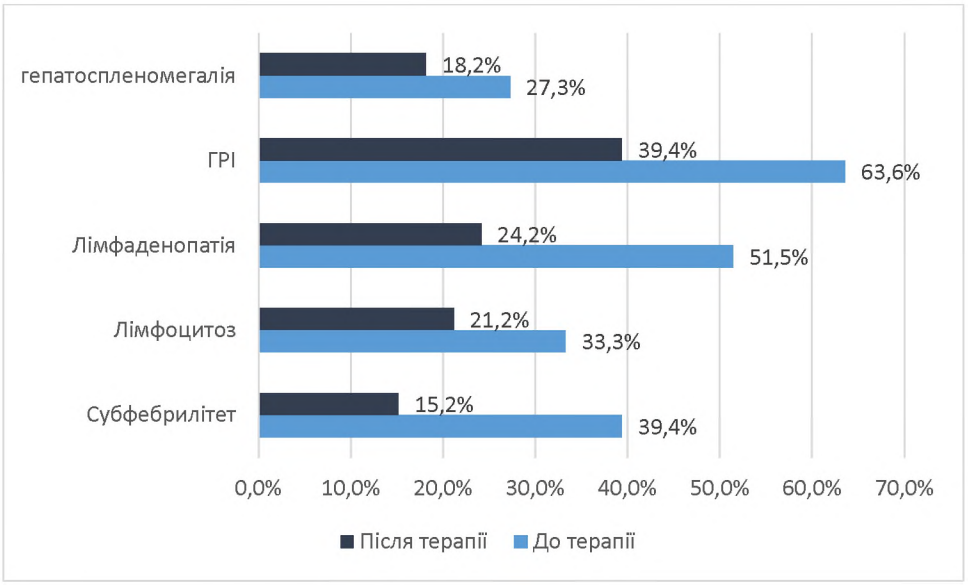


Рис.3.2.3 - Клінічні ознаки ГВІ до та після противірусної терапії

Перебіг гематуричної форми хронічного гломерулонефриту оцінювався за рівнем макрогематурії, протеїнурії, наявністю артеріальної гіпертензії, показниками АУ та ПФН під час першого та повторного обстеження. Оцінювали як змінилися показники у всіх групах при першому і повторному обстеженнях, а також порівнювали перебіг захворювання у пацієнтів після лікування.

Таблиця 3.2.4 - Перебіг гломерулонефриту у дітей без ГВІ (Р±р %)

Ознака	Перше обстеженя	Повторне обстеження	p
Макрогематурія	36,4 ± 14,5	18,2 ± 11,6	p>0,05
АГ	9,0 ± 8,7	0	p<0,05
Протеїнур3ія	27,3 ± 13,4	36,4 ± 14,5	p>0,05
АУ	27,3 ± 13,4	27,3 ± 13,4	p>0,05
ПФН	18,2 ± 11,6	0	

При повторному обстеженні в жодної дитини не виявлено АГ та ПФН. Частота макрогематурії знизилась з 36,6% до 18,2% , але різниця не достовірна. Частота протеїнурії залишалась приблизно однаковою, з невеликим зростанням. Частота підвищення АУ залишилась сталою. В цілому відмічалось полегшення перебігу захворювання за рахунок нормалізації функції нирок та показників АТ(табл 3.2.4)

Аналіз перебігу ГН до та після терапії виявила достовірне зниження ступеню макрогематурії, АГ, протеїнурії. В жодної дитини не зафіксовано порушення функції нирок. Частота високої АУ також знизилась 51,5% до 27,3%, але різниця не достовірна (табл 3.2.5).

Таблиця 3.2.5 - Перебіг ГФГН на фоні противірусної терапії (Р±р %)

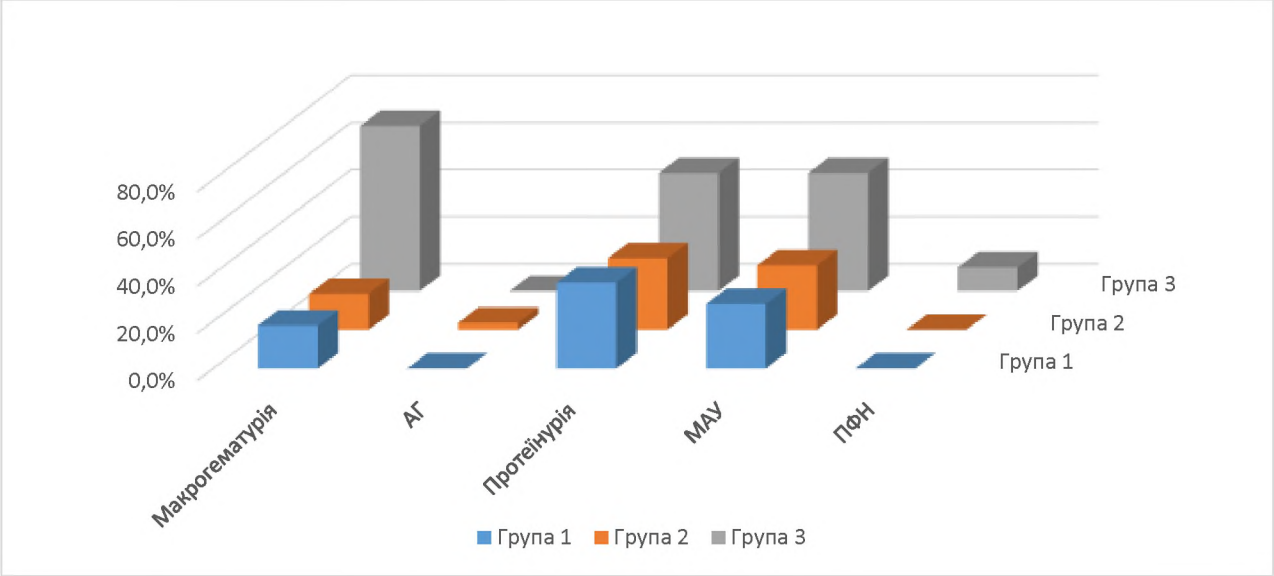
Ознака	До терапії	Після терапії	p
Макрогематурія	48,5±8,7	15,2±6,2	p<0,05
АГ	18,2±6,7	3,0±2,9	p<0,05
Протеїнурія	66,7±8,2	30,3±8,0	p<0,05
МАУ	51,5±8,7	27,3±7,8	p>0,05
ПФН	42,4±8,6	0	

Перебіг ГН на фоні ГВІ без противірусної терапії в цілому не змінився, статистична різниця відмічена лише за ступенем АГ. За іншими ознаками показники приблизно однакові. Тенденції до полегшення перебігу не відмічається (Табл. 3.2.6).

Таблиця 3.2.6 - Перебіг ГН на фоні ГВІ, без противірусної терапії (Р±р %)

Ознака	Перше обстеженя	Повторне обстеження	p
Макрогематурія	70,0 ± 14,5	70,0 ± 14,5	p>0,05
АГ	10,0 ± 9,5	0	
Протеїнурія	60,0 ± 15,5	50,0 ± 15,8	p>0,05
МАУ	50,0 ± 15,8	50,0 ± 15,8	p>0,05
ПФН	30,0 ± 14,5	10,0 ± 9,5	p>0,05

Наглядно перебіг ГФ ГН у всіх трьох групах при двократному обстеженні зображено на рисунку 3.2.4.



*Група 1 – діти з ГФГН без активної ГВІ
Група 2 – діти з ГФГН та активною ГВІ, що отримували противірусну терапію
Група 3 – діти з ГФГН та активною ГВІ, які не отримували противірусні препарати

Рис. 3.2.4 - Перебіг ГН при повторному обстеженні

Порівняльний аналіз перебігу ГФГН після лікування виявив, що група 1 після лікування ГН та група 2 між собою майже не відрізнялись за перебігом захворювання. Між групами 2 та 3 відмічено відмінності по всіх ознаках крім рівня АУ. При чому в групі 2 перебіг ГН достовірно легший. За ступенем АУ статистично значущої різниці не виявлено, проте в пролікованих від ГВІ дітей ця цифра складає 27 %, проти 50 % у групі, що не отримувала терапію. Така картина може бути

пояснена повільним зниженням ступеню АУ та невеликим терміном катамнестичного обстеження. У групах 1 та 3 статистичні відмінності відмічено лише за рівнем макрогематурії та ПФН. При чом еритроцитурія у групі порівняння зустрічалась у кожної 5-ої дитини, а у групі, що не отримала противірусної терапії – в 70 %. В цілому у когорті 3 перебіг ГН був більш важким (Табл. 3.2.7).

Таблиця 3.2.7 - Результати лікування пацієнтів з ГФГН та ГВІ (P±p %)

Ознака	Група 1	p_{1-2}	Група 2	p_{2-3}	Група 3	p_{1-3}
Макрогематурія	18,2±11,6	p>0,05	15,2±6,2	p<0,05	70,0±14,5	p<0,05
АГ	0		3,0±2,9	p<0,05	0	
Протеїнурія	36,4±14,5	p>0,05	30,3±8,0	p<0,05	50,0±15,8	p>0,05
МАУ	27,3±13,4	p>0,05	27,3±7,8	p>0,05	50,0±15,8	p>0,05
ПФН	0		0		10,0±9,5	p<0,05

*Примітка: Група 1-пацієнти з ГФГН без ГВІ
Група 2 – пацієнти з ГФГН та ГВІ, що отримали противірусну терапію
Група 3 – пацієнти з ГФГН та ГВІ, що не отримували противірусну терапію

При морфологічному обстеженні серед дітей з ГФГН переважала хвороба тонких мембран (ХТМ) (71,4 %). Лише одна дитина з даної когорти входила до контрольної групи. Моно-інфекція виявлена у 50 %, мікст - у 14,3 %. В 40 % досліджуваних виявлена активна ЕБВ-інфекція, у 30 % - ЦМВ-інфекція. У всіх пацієнтів при електронній мікроскопії виявлено дифузне зтоншення гломерулярної базальної мембрани (ГБМ). Слід відмітити, що у 4 досліджуваних, в яких виявлена активна ГВІ, окрім стоншення ГБМ, відмічались ознаки мезангіальної проліферації в 1-3 клубочках, а також поодинокі клубочки з явищами склерозу.

IgA-нефропатія виявлена у 4-х хворих з ГФГН. Одна дитина належала до контрольної групи, 3 - переносили супутню ГВІ. В цих 3-х випадках IgA-нефропатія супроводжувалась паттерном дифузного мезангіопроліферативного ГН, в морфологічному матеріалі виявлені склерозовані клубочки з напівмісяцями. Клінічно в обох дітей в дебюті захворювання відмічено порушення функції нирок.

У пацієнта контрольної групи, склерозованих клубочків в морфологічному матеріалі не виявлено.

Частота та структура ГВІ не відрізнялись та не залежали від морфологічного варіанту гломерулонефриту (Табл. 3.2.8).

Таблиця 3.2.8 - Морфологічна характеристика ГФГН у дітей з супутньою ГВІ

Морфологічний тип ГН	%	Наявність супутньої ГВІ (абсолютна кількість)						Контрольна група (абсолютна кількість)
		ЕБВ	ЦМВ	ЕБВ+ ЦМВ	ЕБВ+ ВПГ	ЦМВ+ ВПГ	ЕБВ+ ЦМВ+ ВПГ	
Хвороба тонких мембран (n=10)	71,4	4	3	1	-	-	1	1
IgA-нефропатія (n=4)	28,6	1	-	1	-	1	-	1
Усього (n=14)	100 %	5	3	2	-	1	1	2

Таким чином можна виділити деякі особливості перебігу гематуричної форми хронічного гломерулонефриту на фоні герпесвірусної інфекції.

- Хронічна активна ГВІ виявлялась у 79,6 % хворих, у 51,2 % інфекція підтверджена наявністю ДНК вірусу при ПЛР сечового осаду
- Субфебрилітет, лімфаденопатія та гепатоспленомегалія є характерними ознаками наявності ГВІ у дітей з ГФГН ($p<0,05$)
- ГФ ГН на фоні ГВІ характеризується більш важким перебігом, для якої характерна протеїнурія у 67,4 % випадків та підвищення МАУ у 60,5 % обстежень ($p<0,05$)
- У пацієнтів з ГФГН, що перебігала на фоні ГВІ відмічались більш високі цифри АУ (105,9 ± 24,1 мг/добу проти 26,9 ± 13,2 мг/добу) $p<0,05$

- Противірусна терапія призводила до зниження частоти субфебрилітету, лімфаденопатії та гепатоспленомегалії у пацієнтів з ГФГН на фоні ГВІ ($p<0,05$).
- Пічля комплексної терапії з додаванням противірусних препаратів у пацієнтів з ГФГН та ГВІ знижувався рівень еритроцитурії, протеїнурії та нормалізувалися показники АТ, чого не відмічалось у хворих з ГВІ та ГФГН, які не отримували противірусну терапію ($p<0,05$).
- Застосування комбінованої метаболічної та противірусної терапії підвищує вірогідність позитивного ефекту від лікування у дітей з ГФ ГН на фоні ГВІ.

3.3. Нефротична форма хронічного гломерулонефриту у дітей на фоні герпесвірусної інфекції

Клінічний перебіг основного захворювання і характер супутніх інфекцій вивчені у 58 дітей з нефротичною формою хронічного гломерулонефриту. З них у 30 дітей (51,7 %) діагностовано стероїдчутливу форму, а у 28 (48,3 %) стероїдрезистентну форму хронічного гломерулонефриту.

Хронічна ГВІ була виявлена у 18 (60 %) дітей з СЧНС. З них у 10 (55,6 %) досліджуваних ГВІ розцінена як активна, яку підтверджували наявність високих титрів IgG (більше ніж в 4 разі за норму) та наявність ДНК вірусу в сечі або крові методом ПЦР. У 8 (44,4 %) дітей мали високі титри IgG (більше ніж в 4 разі за норму), але ДНК вірусу при дослідженні не виявлена. Достовірних відмінностей в клініко-лабораторних даних між цими двома групами не виявлено ($p>0,05$).

Тривалість захворювання складала від 2 до 15 років (5 ± 3,4роки). Дебют захворювання відбувався у віці від 3 до 16 років (7,5 ± 4 роки).

Оцінка клінічної симптоматики включала в себе наявність симптомів, характерних для хронічної ГВІ (субфебрилітет, лімфоцитоз в крові, лімфаденопатії, часті ГРІ, гепатоспленомегалія), а також відхилень в об'єктивному статусі, що характеризують важкість гломерулонефриту (абдомінальній синдром, біль у

попереку, набряки, еритроцитурія, підвищений альбумін в добовій сечі та протеїнурія вижче 6г/л під час періоду активних проявів ГН, артеріальна гіпертензія, наявність ранніх рецидивів в анамнезі (РР), ПФН.

Серед симптомів ГВІ достовірно частіше зустрічались субфебрилітет, лімфоцитоз, лімфаденопатія та гепатоспленомегалія. Часті захворювання на ГРІ відмічались у кожного 2-го пацієнта, а у групі контролю – у кожного третього пацієнта. Тобто для даної когорти дітей, як і для пацієнтів з ГФГН характерно інфікування ГВІ в різноманітних клінічних формах, від стертих до активної інфекції. Такє розмаїття клінічної симптоматики опосередковано свідчить про несталість системи імунного захисту. Гепатоспленомегалія відмічалась в третині випадків групи з супутньою інфекцією, проти 16 % в групі контролю ($p<0,05$) (Табл. 3.3.1)

Таблиця 3.3.1 - Клінічна характеристика хворих на СЧНФ в залежности від наявності ГВІ (P±p%)

Ознака	СЧНС з ГВІ (n=18)	СЧНС без ГВІ (n=12)	p
Субфебрилітет	44,4 ± 11,7	0	
Лімфоцитоз	61,1 ± 11,5	16,7 ± 10,8	p<0,05
Лімфаденопатія	66,7 ± 11,1	25,0 ± 12,5	p<0,05
Часті ГРІ	50,0 ± 11,8	33,3 ± 13,6	p>0,05
Гепатоспленомегалія	33,3 ± 11,1	16,7 ± 10,8	p<0,05

За частотою виявленя еритроцитурії в обох групах достовірної різниці не було, в одного пацієнта відмічалась макрогематурія. Ступінь вираженості набрякового синдрому в обох групах статистично не відрізнявся. Проте в групі з ГВІ можна відмітити, що частота генералізованих набряків (анасарки) зустрічалась в 44,4 % випадків, а в контрольній когорті лише в 16,8 %, хоча різниця статистично недостовірна ($p>0,05$). Абдомінальний синдром зустрічався у кожного другого хворого з супутньою ГВІ, частота болю в попереку була приблизно однаковою і зустрічалася рідко (16 % досліджуваних). Порушення функції нирок в періоді розгорнутих клінічних проявів в 60,1% зустрічалося в основній, а в контрольній групі цей показник був в 3 рази нижчий, що може свідчити про роль супутної ГВІ ,

як обтяжуючого фактора перебігу СЧНС. Також когорта з ГВІ характеризувалася схильністю до АГ та достовірно частішим розвитком ранніх рецидивів нефротичного синдрому (Табл. 3.3.2).

Таблиця 3.3.2 - Перебіг СЧНС на фоні ГВІ (P±p%)

Ознака		СЧНС з ГВІ	СЧНС без ГВІ	p
Еритроцитурія		55,6 ± 11,7	33,3 ± 13,6	p>0,05
Набряки	анасарка	44,4 ± 11,7	16,8 ± 10,8	p>0,05
	периферичні	55,6 ± 11,8	83,3 ± 10,8	p>0,05
Абдомінальний с-м		50,0 ± 11,8	26,8 ± 10,8	p>0,05
Біль у попереку		16,7 ± 8,8	16,8 ± 10,8	p>0,05
ПФН		61,1 ± 11,5	16,8 ± 10,8	p<0,05
АГ		33,3 ± 11,1	16,8 ± 10,8	p<0,05
РР		61,1 ± 11,5	25,0 ± 12,5	p<0,05
Протеїнурія (г/л)		7,04 ± 6,1	4,11 ± 4,17	p>0,05
АУ(мг/добу)		520±102,3	223±101,7	p<0,05

Упацієнтів з СЧНС та супутньою ГВІ відмічався більш високий середній рівень протеїнурії, який складав 7,04 ± 6,1г/л проти 4,11 ± 4,17 г/л у дітей контрольної групи, але різниця статистично недостовірна (p>0,05). Наглядно клінічний перебіг СЧНФ зображено на рисунку 3.3.1.

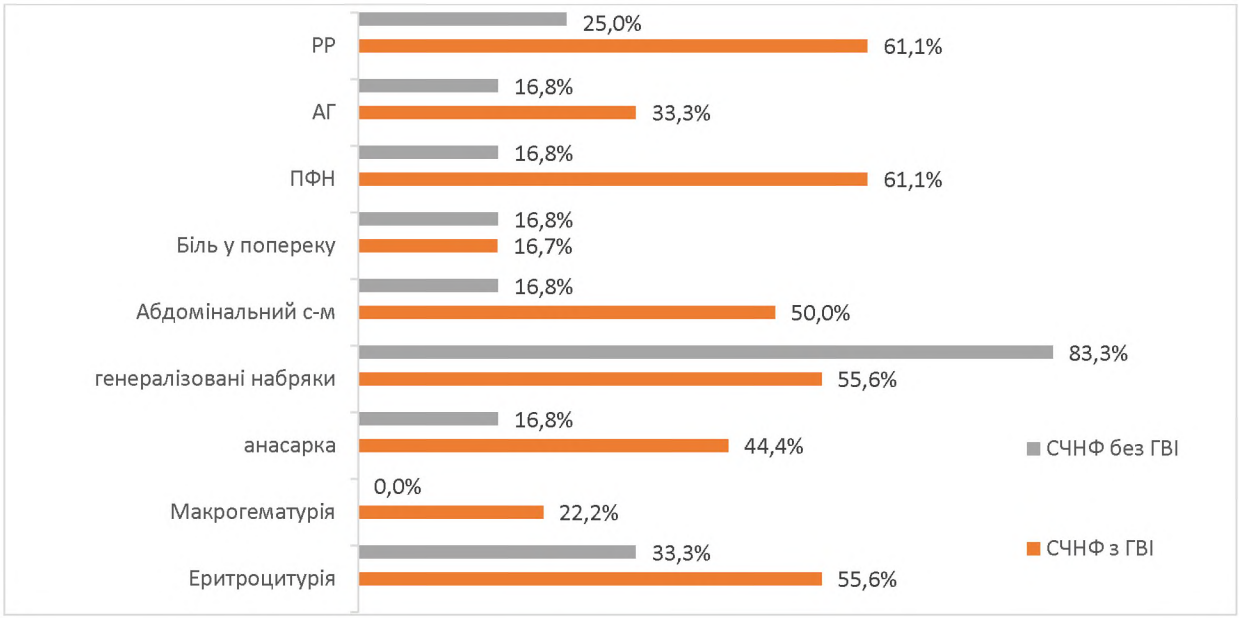


Рис.3.3.1 - Перебіг СЧНС на фоні ГВІ

Більш тонким показником для оцінки ступеню ураження ниркових клубочків є екскреція мікроальбуміну в добовій сечі. В основній групі рівень альбуміну сечі був

достовірно вижчим і складав 520 ± 102,3 мг/добу, проти 223 ± 101,7 мг/добу в контрольній групі. Характерні клініко-лабораторні зміни, що убумовлюють важкий перебіг СЧНФ на фоні ГВІ, скоріше за все є наслідком високого інфекційно-токсичного навантаження на нирку через наявність хронічної інфекції.

Враховуючі отримані дані, можна припустити, що важкий початок нефротичного синдрому, та ранні рецидиви захворювання опосередковано свідчать про наявність у пацієнта супутньої ГВІ.

Динаміка клінічних ознак ГВІ представлена на таблиці 3.3.3. Достовірних відмінностей при оцінці клініки ГВІ в обох групах не відмічалось, що може бути пов'язано з більш повільним зворотнім розвитком захворювання у дітей на імуносупресивній терапії. Відмічалась тенденція до зниження клінічної симптоматики в першій групі, при цьому у групі, що не отримувала противірусну терапю більшість показників не змінилися взагалі, а частота ГРІ виросла.

Таблиця 3.3.3 - Клінічні ознаки ГВІ до та після противірусної терапії (P±p%)

Ознака	СЧНС з ГВІ, що отримували пртивірусну терапію (n=11)		СЧНС з ГВІ, що не отримували противірусну терапію (n=7)	
	До лікування	Після лікування	Перше обстеженя	Повторне обстеження
Субфебрилітет	36,4 ± 14,5*	18,2 ± 11,6*	57,1 ± 18,7◊	42,9 ± 18,7◊
Лімфоцитоз	45,5 ± 15,0*	18,2 ± 11,6*	85,7 ± 13,2◊	57,1 ± 18,7◊
Лімфаденопатія	61,6 ± 14,5*	27,3 ± 13,4*	57,1 ± 18,7◊	57,1 ± 18,7◊
ГРІ	54,6 ± 15,4*	36,4 ± 14,5*	42,9 ± 18,7◊	71,4 ± 17,0◊
гепаспленомегалія	36,4 ± 14,5*	18,2 ± 11,6*	28,6 ± 17,1◊	28,6 ± 17,1◊

*p>0,05
◊ p>0,05

Для оцінки ефективності комплексного лікування порівнювалась частота рецидивів за 12 міс до лікування та в динаміці через 12 міс після лікування.

Кількість рецидівів в основній групі складала 63,6 ± 14,5 % та достовірно знизилась до 9 ± 8,7 % (p<0,05), в групі контролю до лікування частота ранніх рецидивів НС складала 25,0 ± 12,5 %, після закінчення курсу патогенетичної терапії впродовж 12 міс в жодної дитини не зафіксовано рецидиву НС. В когорті дітей які не отримували

противірусну терапію частота ранніх рецидивів також знизилась (85,0 ± 13,2 % проти 42,8±18,7 %) , але відсоток дітей з ранніми рецидивами залишався досить високим і складав майже половину досліджуваних, різниця статистично не значуща (p>0,05). Вочевидь така ситуація пов'язана з імуносупресивною терапією та субкомпенсованими імунними зсувами. Найбільш стабільний перебіг захворювання відмічався у дітей без ГВІ. .

- Таким чином: Наявність субфебрилітету, лімфоцитозу у аналізі крові, лімфаденопатії та гепатоспленомегалії єпоказанням для обстеження дітей з СЧНС на наявність ГВІ.
- Для пацієнтів з СЧНС та супутньою ГВІ характерній тяжкий клінічний перебіг ГН з наявністю абдомінального синдрому, ПФН, АГ, високих цифр МАУ та розвитком ранніх рецидивів.
- Наявність хронічної персистенції герпесвірусів в організмі є фактором ризику по збільшенню частоии рецидивів СЧНФ.
- Противірусна терапія сприяє зменшенню кількості загострень захворювання.

Група пацієнтів з СРГН налічевала 28 дітей. З них 4 (14,3%) дитини без супутньої ГВІ, 15 пацієнтів (53,5%) мали супутню активну ГВІ і отримували комплексну терапію, 9 (31,1%) досліджуваних з герпесвірусною інфекцією, з певних причин не отримували противірусну терапію.

Хронічна ГВІ була виявлена у 24 (85,7%) дітей з СРНФ. З них у 13 (54%) досліджуваних виявлені високі титри IgG (більше ніж в 4 разі за норму) та наявність ДНК вірусу в сечі або крові методом ПЦР. У 11 (46%) дітей відмічено високі титри IgG (більше ніж в 4 разі за норму), але ДНК вірусу при дослідженні не виявлена. Достовірних відмінностей в клініко-лабораторних даних між цими двома групами не виявлено (p>0,05).

Тривалість захворовання складала від 1 до 10 років (5±2,3 роки). Дебют захворювання відбувався у віці від 2 до 17 років (11±4,7 роки).

Оцінка клінічної симптоматики включала в себе наявність симптомів, характерних для хронічної ГВІ (субфебрилітет, лімфоцитоз в крові, лімфаденопатії, часті ГРІ, гепатоспленомегалія), а також відхилень в об'єктивному статусі, що характеризують важкість гломерулонефриту: абдомінальній синдром, біль у попереку, набряки, еритроцитурія, підвищений альбумін в добовій сечі, артеріальна гіпертензія, наявність ранніх рецидивів в анамнезі (РР), ПФН.

Серед клінічних ознак ГВІ в об'єктивному статусі дітей групи 2 і 3 найчастіше зустрічалась лімфаденопатія (62,5 ± 9,9 %). У кожної другої дитини відмічено субфебрилітет (46,7 ± 12,9 %). Лімфоцитоз в периферичній крові складав 37,5±9,9%, гепатоспленомегалія зустрічалася в 45,8 ± 10,2 %. В цілому для дітей даної групи була характерна яскрава клінічна картина симптомів ГВІ, що обумовлено тривалою імуносупресивною терапією та виснажливим перебігом даної клінічної форми хронічного гломерулонефриту. Лише 4 дитини з СРНС не мали активної ГВІ, що також обумовлено активацією вірусів на фоні важкого перебігу ГН та вираженної імуносупресії. Серед них 2 дитини відмічали часті ГРІ, в двох була лімфаденопатія, у 1 пацієнта виявлена гепатоспленомегалію. Субфебрилітету та лімфоцитозу в периферичній крові в даній когорті не зафіксовано. При статистичній обробці достовірні відмінності між групою з СРНС та ГВІ та групою порівняння виявлено лише за наявністю субфебрилітету ($p<0,05$, $\varphi=0,04$).

Для дітей з СРНС та ГВІ був характерний важкий клінічний перебіг ГН з великим відсотком форування артеріальної гіпертензії (75,0 ± 8,8 %), кожна друга дитина на початку дослідження мала ПФН (54,2 ± 10,2 %), майже у всіх пацієнтів виявлена еритроцитурія (95,8 ± 10,2 %), при чому у половини з них відмічалася масивна еритроцитурія на все п/зр (58,3 ± 10,2 %). Набряковий синдром частіше характеризувався анасаркою (58,3 ± 10,1 %). Абдомінальній синдром зустрічався в 37,5 ± 9,9 %, біль у попереку був нехарактерний (8,3 ± 5,6 %) (рис. 3.3.2).

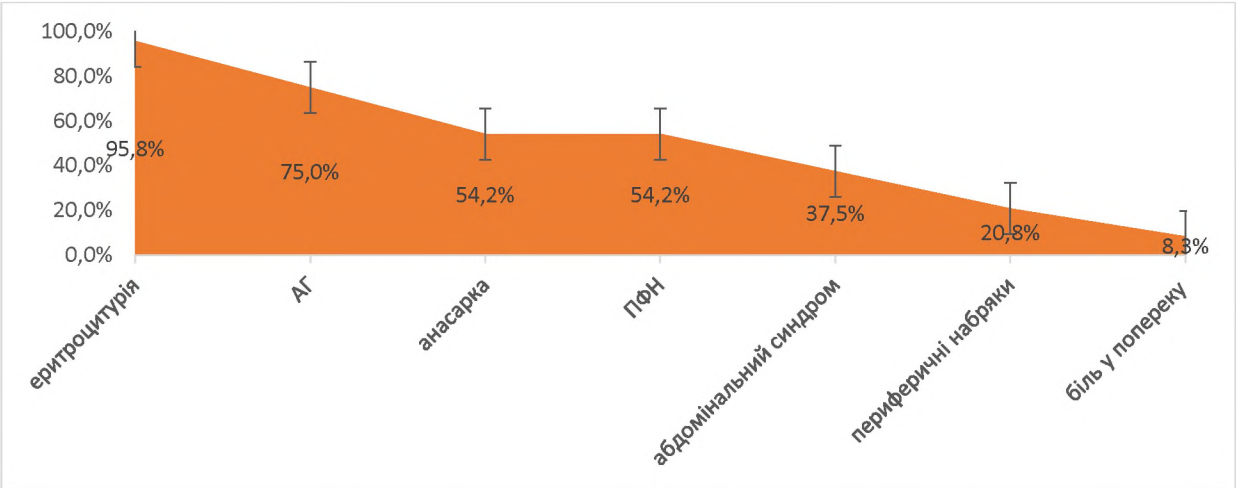


Рис.3.3.2 - Клінічна симптоматика СРГН на фоні ГВІ

У пацієнтів без ГВІ порушення функції нирок відмічено у одної дитини, АГ у двох пацієнтів, дві дитини мали еритроцитурію до 100 в п/зр. Набряковий синдром у 2-х досліджуваних характеризувався анасаркою, у одного досліджуваного набряки були відсутні. На біль у попереку та абдомінальний синдром діти групи порівняння не скаржилися. Статистичні відмінності порівняно з групою СРНС та ГВІ виявлено лише за наявністю еритроцитурії ($p<0,05$, $\varphi=0,04$). У всіх дітей з СРНС незалежно від наявності ГВІ відмічено массивну протеїнурію, яка перевищувала 3 г/л. При цьому альбумін добової сечі у дітей з СРНС та ГВІ у порівнянні з дітьми без ГВІ коливався в межах 322-1250 мг/доб (632 ± 239,2 мг/доб) проти 238-925 мг/доб (497,2 ± 285,6 мг/доб)($p>0,05$).

У дітей, котрі отримували патогенетичну терапію та противірусні препарати при повторному обстеженні виявлено достовірне зниження частоти субфебрилітету та лімфаденопатії. За показниками лімфоцитозу та частих ГРІ відмінності були недостовірні, але відмічалась тенденція до їх зниження майже в два рази. Таку ситуацію можна пояснити виснаженням імунної системи, внаслідок чого, незважаючи на противірусну терапію, діти хворіли на ГРІ. Частота гепатоспленомегалії в обох групах залишалась однаковою (табл. 3.3.4).

Таблиця 3.3.4 - Клінічні симптоми ГВІ на фоні противірусної терапії (P±p%)

Ознака	СРНС до лікування	СРНС після лікування	p
Субфебрилітет	46,7 ± 12,9	13,3 ± 8,8	p<0,05
Лімфоцитоз	40,0 ± 12,6	20,0 ± 8,8	p>0,05
Лімфаденопатія	62,5 ± 12,7	20,7 ± 11,4	p<0,05
Часті ГРІ	66,7 ± 12,2	46,4 ± 12,9	p>0,05
Гепатоспленомегалія	20,0 ± 10,3	20,0 ± 10,3	p>0,05

Аналогічним чином розглянута група дітей, які не отримували противірусної терапії. За ознаками, характерними для ГВІ, пребіг СРНС до та після курсу патогенетичної терапії суттєво не відрізнявся. Відмічалсь збільшення відсотку дітей з частими ГРІ, але без достовірної різниці (p>0,05). Частота субфебрилітету та лімфоцитозу периферичної крові залишились сталими, інші показники незначно зменшилися (табл. 3.3.5).

Таблиця 3.3.5 - Клінічна симптоматика ГВІ у дітей з СРНФ (P±p%)

Ознака	СРНС перше обстеження	СРНС повторне обстеження	p
Субфебрилітет	66,7 ± 15,7	66,7 ± 15,7	p>0,05
Лімфоцитоз	44,4 ± 16,2	44,4 ± 16,2	p>0,05
Лімфаденопатія	66,7 ± 15,7	55,6 ± 16,6	p>0,05
Часті ГРІ	44,4 ± 16,2	55,6 ± 16,6	p>0,05
Гепатоспленомегалія	88,9 ± 10,5	77,8 ± 13,9	p>0,05

При порівнянні даних обох груп під час повторного обстеження виявлено, що частота ГРІ та лімфоцитозу в обох групах достовірно не відрізняється, але в першій групі все ж нижча. Всі інші ознаки у групі дітей, які не отримували противірусну терапію були суттево частішими (p<0,05) (табл. 3.3.6).

Таблиця 3.3.6 - Симптоматика ГВІ на фоні противірусної терапії (P±p%)

Ознака	СРНС + противірусна терапія	СРНС без противірусної терапії	p
Субфебрилітет	13,3 ± 8,8	66,7 ± 15,7	p<0,05
Лімфоцитоз	20,0 ± 8,8	44,4 ± 16,2	p>0,05
Лімфаденопатія	20,7 ± 11,4	55,6 ± 16,6	p<0,05
Часті ГРІ	46,4 ± 12,9	55,6 ± 16,6	p>0,05
Гепатоспленомегалія	20,0 ± 10,3	77,8 ± 13,9	p<0,05

Після отриманого лікування, через 12-24 міс була проведена оцінка перебігу гломерулонефриту. Повна клініко-лабораторна ремісія була досягнута лише у одної дитини, що хворіла на СРНС без супутньої ГВІ. Частотта порушення функції нирок знизилася в два рази, хоча достовірної різниці не було, 3 дитини сформували ХНН. Відмічалась вагоме зниження еритроцитурії в досліджуваній групі з 93,3 ± 6,4 % до 43,2 ± 12,7 %. Періодичні набряки залишились лише у 20 ± 10,3 % хворих. Рівень протеїнурії залишався вижчим 3 г/л у 26,6 ± 11,4 % хворих, у 33,3 % з них вона не перевищувала 1,5 г/л і у 46,7% утримувалася в межах нижче 1 г/л, рівень АУ складав 349 ± 312,9 мг/л, а коливання в когорті за цим показником від 58 мг/доб до 1200 мг/добу (табл. 3.3.7).

Таблиця 3.3.7 - Перебіг СРНС на фоні патогенетичної та противірусної терапії (P±p%)

Ознака	СРНС до лікування	СРНС після лікування	p
Еритроцитурія	95,8 ± 6,4	43,2 ± 12,7	p<0,05
Набряки	86,7 ± 8,8	20,0 ± 10,3	p<0,05
ПФН	58,3 ± 12,9	20,0 ± 10,3	p>0,05
АГ	73,3 ± 11,4	26,7 ± 11,4	p<0,05

У групі яка не отримувала противірусну терапію достовірних відмінностей між показниками до та після патогенетичного лікування не виявлено (p>0,05).

Рівень протеїнурії залишався вижчим 3 г/л у 66,7 % хворих, АУ 460 ± 183,3 мг/добу, амплітуда розмаху складала від 320 до 1010 мг/добу (табл. 3.3.8).

Таблиця 3.3.8 - Перебіг СРНС у дітей, що не отримували противірусну терапію (P±p%)

Ознака	СРНС перше обстеження	СРНС повторне обстеження	p
Еритроцитурія	88,9 ± 10,5	66,7 ± 15,7	p>0,05
Набряки	77,8 ± 13,9	44,4 ± 16,6	p>0,05
ПФН	55,6 ± 16,6	44,4 ± 16,6	p>0,05
АГ	77,8 ± 13,4	66,7 ± 15,7	p>0,05

При порівнянні групи пацієнтів , що отримували противірусну терапію, та когорти з супутньою ГВІ, які отримали лише патогенетичну терапію достовірні відмінності виявлено за частотою збереження набрякового синдрому, наявності ПФН, та артеріальною гіпертензією. Рівень еритроцитурії в обох групах майже не змінився (табл 3.3.9).

Таблиця 3.3.9 - Порівняльна характеристика груп пацієнтів в залежності від проходження курсу противірусної терапії (P±p%)

Ознака	СРНС після лікування	СРНС повторне обстеження	p
Еритроцитурія	43,2 ± 12,7	66,7 ± 15,7	p>0,05
Набряки	20,0 ± 10,3	44,4 ± 16,6	p<0,05
ПФН	20,0 ± 10,3	44,4 ± 16,6	p<0,05
АГ	26,7 ± 11,4	66,7 ± 15,7	p<0,05

Середній вік пацієнтів, яким проведено нефробіопсію при нефротичній формі ГН складав 12 ± 4,2 роки, а тривалість захворювання 5,0 ± 2,2 роки. Як і при ГФГН відмінностей у віці і тривалості захворювання не відмічалось. До данної групи увійшли 5 пацієнтів з СЧНС та 24 з СРНС.

Найбільший відсоток хворих морфологічно характеризувався фокально-сегментарним гломерулосклерозом (ФСГС) – 34,9 %. Клінічно у 12 пацієнтів даної когорти діагностована СРНС гломерулонефриту, у 3 – СЧНС з частими рецидивами

(понад 3 рецидиви). Жодна дитина з ФСГС не війшла до контрольної групи. У 73 % досліджуваних діагностовано мікст-інфекцію. У 4 пацієнтів виявлений ФСГС тип «NOS», 4 випадки характеризувались варіантом «tip», в 4 пацієнтів виявлено «tip lesions», в двох випадках – клітинний варіант та у одного пацієнта – колапсуючий варіант прогресуючого ФСГС. 6 досліджуваних з даною морфологічною картиною сформували термінальну ХНН.

Мембранозний гломерулонефрит виявлено у 3-х пацієнтів. Клінічно в них діагностовано СРНС з супутньою ГВІ. Морфологічна картина характеризувалася мезангіальною проліферацією, білковими, жировими та гідропічними змінами звивистих канальців, дифузним нерівномірним потовщенням ГБМ. Після проведення комплексної терапії, в продовж року ці діти вийшли в ремісію ГН.

У 8-х дітей з хворобою мінімальних змін (ХМЗ) клінічно діагностовано СРНС гломерулонефриту. З них у 5-ти віявлено моноінфекцію, в 3-х - мікст-інфекцію. Клінічно відмічався торпідний перебіг захворювання, з пізнім терапевтичним ефектом, важким початком хвороби. В одної дитини СРНС трансформувалася в СЧНС. Морфоллогічно виявлено нерівномірне потовщення ГБМ, вакуольні зміни подоцитів, одиничні дрібні мезангіальні електронно-щільні депозити, поодинокі пінисті клітини.

В 3-х пацієнтів з НС хронічного ГН без супутньої ГВІ відмічено IgA-нефропатію. Після проведення патогенетичної терапії у цих пацієнтів відмічався повільний вихід в ремісію ГН (табл. 3.3.10).

Таблиця 3.3.10 - Морфологічна характеристика НС у дітей з супутньою ГВІ.

Морфологічний тип ГН	%	Наявність супутньої ГВІ (абсолютна кількість)						Контрольна група (абсолютна кількість)
		ЕБВ	ЦМВ	ЕБВ+ ЦМВ	ЕБВ+ ВПГ	ЦМВ+ ВПГ	ЕБВ+ ЦМВ+ ВПГ	
Фокальний сегментарний гломерулосклероз (n=15)	51,7	2	2	4	3	2	2	0
Мембранозний гломерулонефрит (n=3)	10,3	1	-	1	-	-	1	-
Хвороба мінімальних змін (n=8)	27,7	3	2	2	1	-	-	-
IgA-нефропатія (n=3)	10,3	1	-	1	-	1	-	1
Усього (n=29)	100 %	5	3	2	-	1	1	2

Отже, аналізуючи показники клініко-лабораторних даних у пацієнтів з СРГН та супутньою ГВІ, були отримані наступні дані:

- ГВІ, що супроводжує СРНС протікає з яскравою клінічною картиною, для якої характерні субфебрилітет, лімфаденопатія, лімфоцитоз в периферичній крові та гепатоспленомегалія.
- У пацієнтів з СРНС та ГВІ на фоні проведення противірусної терапії відмічається повільна ліквідація симптомів ГВІ.

- Призначення комбінованої терапії дітям з СРНС та супутньою ГВІ призводить до більш більш вираженого ефекту від лікування порівняно з патогенетичною терапією ($p<0,05$).

Основний зміст даного розділу дисертації знайшов відображення в наступних опублікованих працях здобувача:

1. Кругликова И. В., Фомина С. П., Багдасарова И. В. Герпесвирусная инфекция у детей с хроническим гломерулонефритом. *Современная педиатрия.* 2016. № 7. С. 117-119. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки, оформлена стаття).
2. Кругліков В. Т., Багдасарова І. В., Круглікова І. В., Васильєва І. Г., Цюбко О. І. Герпесвірусна інфекція і гломерулонефрит у дітей. *Український журнал нефрології та діалізу.* 2015. № 2. С. 61-67. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, оформлена стаття).
3. Круглікова І. В., Багдасарова І. В., Фоміна С. П. Перебіг хронічного гломерулонефриту на фоні герпесвірусних інфекцій. *Матеріали «IV з'їзду нефрологів України».* (17-18 жовтня, 2013р., м. Київ). Київ. 2013. С.94. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).
4. Круглікова І. В., Фоміна С. П., Багдасарова І. В. Інфікованість вірусами групи герпесу дітей, хворих на гломерулонефрит. *Матеріали X Конгресу педіатрів України «Актуальні питання педіатрії».* (6-8 жовтня, 2014р., м. Київ). Київ. 2014. С.38-39. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано публікацію до друку).
5. Фомина С. П., Багдасарова И. В., Кругликова И. В. Эпштейн-Барр вирусная инфекция и нефротический синдром у детей: опция терапии. *Сборник тезисов*

III конгресса нефрологов новых независимых государств. (25-27 сентября 2014г., г. Тбилиси, Грузия). Тбилиси. 2014. С.227-230. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано публікацію до друку).

6. Фоміна С. П., Багдасарова І. В., Круглікова І. В., Виговська О.В. Інфікування вірусами групи герпеса та стероїдрезистентний нефротичний синдром: опції терапії. *Український журнал нефрології і діалізу*: матеріали науково-практичної конференції «Нефрологія і діаліз: up to date». (8-9 жовтня, 2015р., м.Чернівці). Чернівці. 2015. С.48-49. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано публікацію до друку).
7. Багдасарова І. В., Круглікова І. В., Суслова Г. Д. Перебіг та наслідки нефротичної форми хронічного гломерулонефриту, що супроводжується герпесвірусною інфекцією. *Матеріали IX Конгресу педіатрів України.* (8-10 жовтня, 2013 р., м. Київ). Київ. 2013. С.11. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано публікацію до друку).
8. Фомина С. П., Багдасарова И. В., Кругликова И. В. Гематурическая форма гломерулонефрита у детей: сопутствующая инфекция, вызванная вирусами группы Herpes и опции терапии. *Материалы IV Конгресса ассоциации нефрологов новых независимых государств*. (29-30 сентября, 2016г., г. Минск, Беларусь). Минск. 2016. С.127. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).

РОЗДІЛ 4

ПОКАЗНИКИ ЛОКАЛЬНОГО ТА СИСТЕМНОГО ІМУНІТЕТУ У ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТ, ЗА НАЯВНОСТІ ГЕРПЕСВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

4.1. Клінічна характеристика хворих

Було обстежено 47 дітей, хворих на ГН, віком від 3 до 18 років (11 ± 3,8 років), з яких у 24 діагностований хронічний хломерулонефрит з НС, у решти 23 дітей – хронічний гломерулонефрит з еритроцитурією. Пацієнти отримували терапію ГН згідно протоколу лікування хронічного гломерулонефриту у дітей, затвердженого МОЗ України [2]. Відповідь на терапію класифікували як: ремісія (повна ремісія - нормалізація біохімічних показників та аналізів сечі; часткова ремісія - покращення біохімічних показників, зменшення протеїнурії <2 г/доба при НС, значне зменшення або ліквідація гематурії при ГН з еритроцитурією); торпідний перебіг (відсутність ефекту впродовж 3-х і більше місяців - збереження активності НС або ступеню еритроцитурії при ГН з еритроцитурією, рецидив ГН). Хворі з НС додатково розподілені на стероїдочутливих (СЧНС, n=12) та стероїдорезистентних (СРНС, n=12) залежно від чутливості до глюкокортикостероїдів на 6-му тижні терапії. З числа всіх обстежених хворих у 28 пацієнтів відзначався торпідний перебіг; 19 хворих знаходились в стадії клініко-лабораторної ремісії; за перебігом хвороби всі хворі були розподілені на дві групи – з важким перебігом (тривалий генералізований набряковий синдром, некоригована артеріальна гіпертензія, порушення функції нирок, наявність ускладнень з боку інших органів, n=18) та середньої важкості (швидка ліквідація набрякового синдрому, відсутність тривалої гіпертензії, нормальна функція нирок, перебіг без ускладнень з боку інших органів, n=29). Контрольну групу склали 10 умовно здорових дітей відповідного віку.

Діти, в яких була виявлена активна ГВІ, були розподілені на дві групи: до I групи увійшли 20 дітей, що отримували стандартне лікування і адекватну

противірусну терапію; II групу склали такі самі хворі (n=17), що проходили курс стандартного лікування без противірусної терапії.

4.2.Визначення факторів захисту sIgA та SLPI в сечі хворих на ГН

У дітей, хворих на ГН, спостерігалось зниження рівня sIgA в сечі порівняно до здорових осіб. Але серед 37 хворих дітей, в яких виявлено активну (реактивовану) ГВІ, у 5 пацієнтів відмічено суттєве його підвищення (до 2,12–4,9 мкг/мл), що сприяло зростанню інтерквартільного діапазону (табл. 4.2.1). Ймовірно, підвищення секреторного IgA пов'язано з тим, що він є важливим компенсаторним резервом організму, який забезпечує захист від вірусів та сприяє елімінації збудників.

В цілому по групі не було встановлено відмінностей при порівнянні рівня sIgA в сечі від хворих з різними клінічними формами ГН. Проте аналіз хворих в залежності від наявності ГВІ показав незначне перебільшення медіани для sIgA у хворих з НС та з ГВІ порівняно до хворих з еритроцитурією. І навпаки, хворі без ГВІ з НС мали достовірно низький (відносно контролю) вміст у сечі sIgA, а з еритроцитурією – відмічено його зростання. Аналіз результатів щодо рівня sIgA у хворих з НС виявив, що підвищення показника спостерігалось у хворих з стероїдорезистентним варіантом, і особливо у хворих на ГН за наявності ГВІ. Високий вміст sIgA у СР хворих вказує на дисбаланс в імунній системі і може розглядатися як прояв хронічного запального процесу, до якого, ймовірно, приєднався ще й аутоімунний компонент.

В сечі хворих дітей в стадії ремісії медіана для sIgA була достовірно зниженою відносно контролю, тільки міжквартільний діапазон показника у дітей з ГВІ був більшим, ніж у хворих без ГВІ, що вказує на відповідну імунну реакцію з боку В-клітин слизової нирки. Відсутність ремісії у хворих на ГН супроводжувалась достовірним збільшенням рівня sIgA відносно хворих в стадії ремісії, в першу чергу, за рахунок хворих з ГВІ, що підтверджує посилення компенсаторних механізмів місцевого імунітету для перешкоджання адгезії вірусів на клітинах ниркової тканини.

Таблиця 4.2.1 - Рівень sIgA в сечі хворих з різними клінічними формами ГН, в залежності від чутливості до гормонів, перебігу та тяжкості захворювання

Групи обстежених	n	Рівень sIgA, $x10^{-2}$ мкг/мл	
		Me	25%–75 %
Контрольна група	9	15,0	3,1 – 40,0
Хворі на ГН - заг. група	47	1,7	1,0 – 17,0
- з ГВІ	37	1,9	1,0 – 17,8
- без ГВІ	10	1,8 *	1,2 – 2,3
Варіанти клінічного перебігу			
Хворі на ГН, НС - заг. група	24	1,8	1,2 – 19,4
- з ГВІ	19	3,3	1,2 – 37,5
- без ГВІ	5	1,6 *	1,2 – 1,8
Хворі на ГН з еритроцитурією - заг. група	23	1,8	0,7 – 17,0
- з ГВІ	18	1,5 *	0,2 – 13,8
- без ГВІ	5	2,0	1,8 – 17,0
Чутливість до гормонів			
Хворі з НС, СЧ - заг. гр.	12	1,6 *	1,0 – 4,6
- з ГВІ	9	1,6 *	0,9 – 7,0
Хворі з НС, СР - заг. гр.	12	9,7 ♣	1,6 – 129,0
- з ГВІ	10	19,4 ♣	1,7 – 220,0
Ефективність терапії			

Ремісія - заг. група	19	1,6 *	0,7 – 7,2
- з ГВІ	15	1,0 *	0,8 – 8,3
- без ГВІ	4	1,7 *	1,4 – 1,8

Продовження табл. 4.2.1

Групи обстежених	n	Рівень sIgA, $x10^{-2}$ мкг/мл	
		Me	25%–75 %
Торпідний перебіг - заг. група	28	3,2 •	1,4 – 29,7
- з ГВІ	22	3,5 •	1,4 – 36,7
- без ГВІ	6	2,2	1,0 – 17,0
Перебіг гломерулонефриту			
Важкий - заг. група	18	11,6 ∇	1,7 – 65,0
- з ГВІ	16	11,6 ∇	1,7 – 142,5
Середньої важкості - заг. група	29	1,4 *	0,8 – 3,7
- з ГВІ	21	1,4 *	0,7 – 8,3
- без ГВІ	8	1,7 *	1,1 – 1,9

Примітки:

1. * - достовірні відмінності ($p<0,05$) відносно групи контролю;

2. ♣ - достовірні відмінності ($p<0,05$) відносно відповідної групи стероїдочутливих хворих;

3. • - достовірні відмінності ($P<0,05$) відносно групи хворих з ремісією;

4. ∇ - достовірні відмінності ($P<0,05$) відносно групи хворих з перебігом середньої тяжкості

Важкий перебіг захворювання характеризувався підвищенням величини медіани для sIgA у сечі в порівнянні до хворих з перебігом середньої важкості, у

яких цей показник залишався достовірно зниженим відносно норми. Наявність ГВІ сприяла підвищенню міжквартільного діапазону для sIgA - у 25 % таких дітей рівень даного імуноглобуліну перевищував 1,42 мкг/мл.

Таким чином, знижений в цілому у хворих на ГН рівень секреторного IgA частіше підвищувався у пацієнтів з НС і з виявленою ГВІ, в першу чергу, у стероїдорезистентних пацієнтів. Зростання рівня sIgA спостерігалось у пацієнтів за відсутності ремісії і часто тяжким перебігом ГН, при цьому в більшій мірі у хворих з ГВІ.

Визначення рівня SLPI

Проведені дослідження щодо визначення в сечі хворих на ГН дітей концентрації SLPI показали, що у більшості пацієнтів виявлявся високий рівень SLPI при порівнянні із здоровими особами, а наявність ГВІ сприяла більшому зростанню показника. У дітей без ГВІ рівень SLPI був також достовірно підвищений відносно контролю (табл. 4.2.2). Слід зазначити, що у 34 (74,0 %) дітей рівень SLPI не перевищував верхню межу фізіологічної норми (4000 пг/мл) і середнє значення становило (1800 ± 2195) пг/мл; у 12 пацієнтів (26,0 %) показники були набагато вище – від 4000 до 22500 пг/мл, (11075,0 ± 1922,8) пг/мл; різниця між середніми рівнями достовірна ($p<0,05$).

При порівнянні груп хворих дітей в залежності від клінічного варіанту ГН найбільше перевищення рівня SLPI спостерігалось у хворих з гематурією , а серед хворих НСГН більші значення мали СР пацієнти і, саме, за наявності ГВІ.

Таблиця 4.2.2 - Рівень SLPI в сечі хворих з різними клінічними формами ГН, в залежності від чутливості до гормонів, перебігу та тяжкості захворювання

Групи обстежених	n	Рівень SLPI, пг/мл	
		Me	25%–75 %
Контрольна група	6	435	370 – 510

Хворі на ГН - заг. група	46	1800*	950 – 4050
- з ГВІ	37	1800*	1070 – 4200
- без ГВІ	9	960*	700 – 2100

Продовження табл. 4.2.2

Групи обстежених	n	Рівень SLPI, пг/мл	
		Me	25%–75 %
Варіанти клінічного перебігу			
Хворі на ГН, НС - заг. група	24	1355 *	700 – 3425
- з ГВІ	19	1510 *	810 – 4800
- без ГВІ	5	700 *	530 – 820
Хворі на ГН з еритроцитурією - заг. група	22	2340 *	1270 – 4050
- з ГВІ	18	2675 *	1270 – 4200
- без ГВІ	4	2000 *	1430 – 2150
Чутливість до гормонів			
Хворі з НС, СЧ - заг. група	12	900 *	700–1565
- з ГВІ	9	1070 *	810–1650
Хворі з НС, СР - заг. група	12	2260 *	880–8550
- з ГВІ	10	2835 *	1230–12000
Ефективність терапії			
Ремісія - заг. група	19	1480 *	700 – 2500
- з ГВІ	15	1500 *	810 – 3600
- без ГВІ	4	760 *	590 – 1510
Торпідний перебіг - заг. група	27	2200 *	1100 – 4200
- з ГВІ	22	2665 *	1230 – 5100
- без ГВІ	5	1900 *	960 – 2100

Перебіг гломерулонефриту			
Важкий - заг. група	17	1670 *	1100 – 4000
- з ГВІ	16	1590 *	1025 – 4550
Середньої важкості - заг. група	29	1800 *	820 – 3600
- з ГВІ	21	2200 *	1070 – 4200
- без ГВІ	8	890*♦	615– 2000

Продовження табл. 4.2.2

Примітки:

1. * - достовірні відмінності ($p<0,05$) відносно групи контролю;

2. ♦ - достовірні відмінності ($p<0,05$) відносно групи хворих з ГВІ

Хворі на ГН мали підвищений ($p<0,05$) рівень SLPI в сечі в порівнянні з групою контролю не тільки за відсутності ремісії, а й в стадії часткової ремісії. За наявності ГВІ спостерігалось зростання рівня SLPI в обох групах, в більшій мірі у хворих за відсутності ремісії.

Різний характер перебігу ГН майже не впливав на рівень SLPI в сечі хворих дітей – достовірно високий рівень був виявлений в обох підгрупах хворих. Серед хворих дітей із середньоважким перебігом хвороби встановлено достовірне зростання медіани для SLPI у дітей з ГВІ відносно хворих без інфекції.

Таким чином, в сечі дітей, хворих на ГН, спостерігалось суттєве підвищення рівня SLPI, що можливо обумовлено не тільки реакцією організму на запалення, а й застосуванням кортикостероїдів, які здатні посилювати синтез антизапальних білків, до яких відноситься і інгібітор секреторной лейкоцитарної протеази. Найбільше його зростання визначалось у хворих з ГН та еритроцитурією, у СР хворих з НС, за відсутності ремісії і за наявності ГВІ. Підвищення рівня SLPI в сечі хворих на ГН в межах фізіологічної норми можна розглядати як позитивний момент, направлений на відновлення протеазо-антипротеазного балансу, проте значне зростання рівня інгібітору у окремих пацієнтів може спричинювати й негативні процеси, одним з

яких є посилення синтезу ТФР-β макрофагами, який вважають основним профіброгенним цитокіном.

4.3. Визначення медіаторів запалення ІЛ-8 та MCP-1 в сечі хворих на ГН

У дітей, хворих на ГН, спостерігалось незначне підвищення медіани та інтерквартільного діапазону для ІЛ-8 при порівнянні показників в сечі із здоровими особами; збереження такого рівня спостерігалось і у хворих на ГН дітей за наявності ГВІ (табл. 4.3.1). Слід зазначити, що у 13 хворих дітей визначались занадто високі (більше 15 пг/мл) рівні ІЛ-8 в сечі, у решти – величина хемокіну була в межах норми; середні величини становили, відповідно, (47,1 ± 6,7) пг/мл та (3,86 ± 0,67) пг/мл, різниця достовірна ($p<0,05$).

Таблиця 4.3.1 - Рівень ІЛ-8 в сечі хворих з різними клінічними формами ГН, в залежності від чутливості до гормонів, перебігу та тяжкості захворювання

Групи обстежених	n	Рівень ІЛ-8 пг/мл	
		Me	25%–75 %
Контрольна група	6	3,50	3,0 – 5,6
Хворі на ГН - заг. група	47	5,20	0,9 – 16,5
- з ГВІ	37	6,60	1,6 – 17,0
- без ГВІ	10	3,25	0,4 – 12,6
Варіанти клінічного перебігу			
Хворі на ГН, НС - заг. група	24	2,25	0,15 – 14,15
- з ГВІ	19	4,8	0,2 – 16,5
- без ГВІ	5	0,80	0,05 – 2,50
Хворі на ГН з еритроцитурією - заг. група	23	8,0	2,75 – 37,50
- з ГВІ	18	7,45	2,75 – 37,50
- без ГВІ	5	9,5	4,0 – 13,5

Чутливість до гормонів			
Хворі з НС, СЧ - заг. група	12	0,50	0,08 – 4,55
- з ГВІ	9	0,20	0,10 – 6,60
Хворі з НС, СР - заг. група	12	7,95 ♣	1,90 – 16,35
- з ГВІ	10	7,95 ♣	2,0 – 17,0

Продовження табл. 4.3.1

Групи обстежених	n	Рівень ІЛ-8 пг/мл	
		Me	25%–75 %
Ефективність терапії			
Ремісія - заг. група	19	1,60	0,10 – 9,60
- з ГВІ	15	1,60	0,10 – 9,60
- без ГВІ	4	1,65	0,42 – 37,75
Відсутність ремісії - заг. група	28	8,10 •	2,38 – 24,25
- з ГВІ	22	8,10 •	2,75 – 37,50
- без ГВІ	6	6,75	0,45 – 12,60
Перебіг гломерулонефриту			
Тяжкий - заг. група	18	10,40	4,80 – 17,00
- з ГВІ	16	8,10	3,40 – 24,20
Середньої тяжкості - заг. група	29	2,75	0,45 – 9,60
- з ГВІ	21	3,50	1,50 – 10,50
- без ГВІ	8	1,65	0,25 – 6,75

Примітки:

1. ♣ - достовірні відмінності ($p<0,05$) відносно відповідної групи стероїдочутливих хворих;
2. • - достовірні відмінності ($P<0,05$) відносно групи хворих з ремісією

Можна уявити, що саме у цих 13 хворих, в 12 з яких виявлена активна ГВІ, на момент обстеження відбувалось загострення запального процесу в нирці, проявленням якого є викид у сечу прозапальних цитокінів, одним з яких є ІЛ-8.

При порівнянні хворих з різними клінічними формами ГН спостерігалось зростання рівня ІЛ-8 у хворих з ГН та еритроцитурією, але достовірних відмінностей не було встановлено. При цьому більш широкий інтерквартільний діапазон для ІЛ-8 виявлено за наявності ГВІ у хворих обох форм ГН. Незважаючи на те, що у хворих без ГВІ величина медіани для ІЛ-8 значно відрізнялась від контрольної, достовірної різниці не встановлено, оскільки коливання показника були суттєві – у хворих з НС хронічного гломерулонефриту від 0 до 12,6 пг/мл, у хворих з ГН та еритроцитурією – від 0,46 до 73,0 пг/мл. При аналізі значень ІЛ-8 серед пацієнтів з високим та нормальним рівнем цього показника відмінностей не спостерігалось зовсім: у хворих з НС (n=6, всі СР пацієнти) та ГН з еритроцитурією (n=7) і з високим вмістом ІЛ-8 в сечі встановлені такі середні величини – (43,6 ± 13,3) пг/мл та (50,1 ± 6,0) пг/мл; у хворих з ГН НС (n=18) та ГН з еритроцитурією (n=16) і з нормальним вмістом ІЛ-8 в сечі середні значення дорівнювали (2,8 ± 0,9) пг/мл та (5,1 ± 1,0) пг/мл відповідно.

Достовірне підвищення рівня ІЛ-8 спостерігалось у СР хворих при порівнянні з СЧ хворими, в тому числі за наявності ГВІ, і кількість епізодів з високим рівнем показника у СР пацієнтів була більшою (33,3 % проти 16,7 %).

В сечі хворих дітей в стадії ремісії медіана для ІЛ-8 була зниженою відносно хворих за відсутності ремісії ($p<0,05$), а також контролю ($p>0,05$). Міжквартільний діапазон був широким в обох порівняльних підгрупах хворих за рахунок 13 дітей з високим рівнем ІЛ-8: 9 дітей характеризувались відсутністю ремісії (у 100 % виявлена ГВІ), у чотирьох – встановлена часткова ремісія (у 75 % - ГВІ).

Важкий перебіг захворювання характеризувався підвищенням величини медіани для ІЛ-8 в порівнянні з перебігом середньої важкості. Наявність ГВІ сприяла підвищенню міжквартільного діапазону для ІЛ-8 в сечі дітей обох підгруп.

Високий рівень ІЛ-8 визначався у 7 з 13 (53,8 %) хворих з тяжким перебігом захворювання.

Таким чином, в сечі хворих на ГН дітей було виявлено незначне підвищення рівня ІЛ-8 і тільки у 13 дітей (27,6 %) визначалось суттєве зростання рівня хемокіну, яке, можливо, обумовлено загостренням запального хронічного процесу в нирках. Підвищення рівня ІЛ-8 частіше спостерігалось у пацієнтів з гематурією, за наявності СР варіанту ГН, за відсутності ремісії і з тяжким перебігом захворювання, в багатьох випадках за наявності герпесвірусної інфекції. Підвищення в сечі вмісту ІЛ-8 в межах фізіологічної норми можна розглядати як компенсаторну реакцію організму на пошкодження ниркової тканини, обумовленої ендо- та екзогенними факторами (імунними комплексами, бактеріями, вірусами тощо), а суттєве його збільшення свідчить про загострення ситуації.

Проведені дослідження щодо концентрації іншого хемокіну – МСР-1 у сечі хворих на ГН показали, що у всіх хворих дітей рівень даного хемокіну був достовірно вищим, ніж у здорових осіб, а наявність ГВІ сприяла підвищенню МСР-1 (виявлена тенденція до зростання) (табл. 4.3.2). Коливання концентрації МСР-1 у хворих з ГВІ спостерігалось в межах від 46 пг/мл до 2880 пг/мл, в групі порівняння (без ГВІ) - від 62,4 пг/мл до 552,0 пг/мл.

При порівнянні хворих дітей в залежності від клінічного варіанту ГН спостерігалось незначне перевищення рівня МСР-1 у хворих з НС порівняно до хворих з еритроцитурією, хоча у половини пацієнтів з НС ГН рівень МСР-1 був нижче (медіана становила 176,0 пг/мл), ніж у хворих з ГН та еритроцитурією (*Me*=200,8 пг/мл), в той же час інтерквартільний діапазон був вище і дорівнював 87,6–680,0 пг/мл.

Таблиця 4.3.2 - Рівень МСР-1 в сечі хворих з різними клінічними формами ГН, в залежності від чутливості до гормонів, перебігу та тяжкості захворювання

Групи обстежених	n	Рівень МСР-1, пг/мл	
		Me	25%–75 %

Контрольна група	8	58,0	52,7 – 95,2
Хворі на ГН - заг. група	47	188,0 *	106,0 – 552,0
- з ГВІ	37	213,6 *	132,0 – 552,0
- без ГВІ	9	98,4 *	76,8 – 292,0
Варіанти клінічного перебігу			
Хворі на ГН, НС - заг. група	24	176,0 *	87,6 – 680,0
- з ГВІ	19	232,0 *	106,0 – 720,0
- без ГВІ	5	76,8 ♦	64,0 – 98,4
Хворі на ГН та еритроцитурією - заг. група	22	200,8 *	132,0 – 292,0

Продовження табл.4.3.2

Групи обстежених	n	Рівень МСР-1, пг/мл	
		Me	25%–75 %
- з ГВІ	18	200,8 *	148,0 – 272,0
- без ГВІ	4	206,0 *	108,0 – 302,0
Чутливість до гормонів			
Хворі з НС, СЧ- заг. гр.	12	102,2 *	76,0–174,0
- з ГВІ	9	132,0 *	98,4–184,0
Хворі з НС, СР - заг. гр.	12	612,0 * ♣	344,0–804,0
- з ГВІ	10	680,0 * ♣	520,0–888,0
Ефективність терапії			
Ремісія - заг. група	19	148,0 *	98,4 – 213,6
- з ГВІ	15	152,0 *	102,0 – 213,6
- без ГВІ	4	87,6	70,4 – 195,2
Торпідний перебіг- заг. група	27	272,0 * ●	132,0 – 672,0
- з ГВІ	22	335,2 * ●	168,0 – 688,0
- без ГВІ	5	120,0 *	96,0 – 312,0

Перебіг гломерулонефриту			
Тяжкий - заг. група	17	552,0 * ∇	176,0 – 720,0
- з ГВІ	16	536,0 * ∇	172,0 – 804,0
Середньої тяжкості - заг. група	29	148,0 *	98,4 – 232,0
- з ГВІ	21	152,0 *	106,0 – 232,0
- без ГВІ	8	97,2	70,4 – 206,0

Примітки:

1. * - достовірні відмінності (p<0,05) відносно групи контролю;
2. ♦ - достовірні відмінності (p<0,05) відносно групи хворих з ГВІ
3. ♣ - достовірні відмінності (p<0,05) відносно відповідної групи стероїдочутливих хворих;

Продовження табл.4.3.2

4. • - достовірні відмінності (P<0,05) відносно групи хворих з ремісією;
5. ∇ - достовірні відмінності (P<0,05) відносно групи хворих з перебігом середньої важкості

Медіани для МСР-1 серед хворих с НС ГН та ГН з еритроцитурією і з ГВІ майже не відрізнялися між собою, але мали достовірні відмінності порівняно до контрольної величини. Коливання концентрацій МСР-1 у хворих з ГН з еритроцитурією і з ГВІ мало відрізнялися від таких у хворих без виявленої інфекції. В той же час хворі діти з НС ГН та з ГВІ мали достовірно підвищений рівень хемокіну в сечі, ніж хворі без ГВІ, що може усугубляти перебіг захворювання та провокувати його прогресування.

Більш детальний аналіз отриманих результатів щодо рівня МСР-1 у хворих на ГН з НС показав, що у хворих з стероїдочутливістю медіана концентрації МСР-1 та інтерквартільний діапазон були достовірно нижче, ніж аналогічні показники у хворих з стероїдорезистентним варіантом НФ. Таке суттєве зниження рівня МСР-1 в сечі СЧ хворих, йомовірно, обумовлено більш значним, ніж у СР хворих,

пригніченням транскрипції його генів в проксимальних канальцевих клітинах під впливом стероїдних препаратів, оскільки згідно сучасним уявленням останні чинять антихемокінову дію через вплив на ядерний фактор *NF-kB* . Збереження високої концентрації МСР-1 в сечі СР хворих свідчить про продовження запального процесу і необхідність корекції схеми лікування. Зростання вмісту хемокіну в сечі спостерігалось знов за рахунок хворих на ГН з ГВІ.

Для встановлення можливої участі МСР-1 в прогресуванні ГН був проведений аналіз результатів в залежності від перебігу захворювання та його тяжкості. Представлені в таблиці 4.4 дані свідчать, що хворі на ГН навіть в стадії часткової ремісії мали підвищений ($p<0,05$) рівень МСР-1 в сечі в порівнянні з групою контролю. У хворих дітей за відсутності ремісії даний показник достовірно перевищував не тільки показник групи контролю, а й групи хворих з ремісією. За наявності ГВІ спостерігалось зростання рівня МСР-1 в обох групах, в більшій мірі у хворих за відсутності ремісії. Слід зазначити, що торпідний перебіг встановлено у 12 (44,4 %) хворих з НС та у 15 (55,6 %) з ГН та еритроцитурією, при цьому ГВІ виявлена в 22 (81,5 %) випадках; часткова ремісія відмічена у 12 (63,2 %) пацієнтів з НС і у 7 (36,8 %) – з ГН та еритроцитурією, ГВІ при цьому виявлена у 15 (78,9 %) хворих.

Важкість перебігу захворювання характеризувалась достовірним збільшенням рівня МСР-1 в сечі як відносно здорових осіб, так і хворих з перебігом середньої тяжкості. Наявність ГВІ забезпечувала достовірне зростання рівня МСР-1 відносно контролю, в той же час у хворих без ГВІ рівень хемокіну був нижче і не мав достовірної різниці з контролем.

Отже, у дітей з тяжким торпідним перебігом ГН, а також з резистентною до гормонотерапії формою захворювання спостерігалось зростання рівня МСР-1 в сечі, що підтверджує вище доведену думку щодо виникнення дисбалансу в системі місцевого імунітету на тлі хронізації запального процесу в нирках. Найбільше відхилення рівня даного хемокіну від контролю відмічено у дітей з нефротичною формою ГН та з виявленою активною (реактивованою) ГВІ. Підвищення рівня МСР-1 в сечі у хворих на ГН буде сприяти підтриманню запалення у разі як

інтерстиціального, так і гломерулярного пошкодження нирок і призводити до подальшого прогресування захворювання. Отже, отримані результати свідчать про важливу роль хемокіну МСР-1 в імунопатогенезі ГН як свідка та учасника імунної відповіді. Високі концентрації МСР-1 в сечі хворих на ГН можна розглядати як маркер напруги імунної системи в процесі хронізації захворювання.

4.4. Вивчення показників системного імунітету у дітей, хворих на ГН

а) визначення рівня IgA

Визначений в сироватці крові вміст IgA знаходився в межах фізіологічної норми і був незначно вище за контрольний показник (1,25 ± 0,14 г/л проти 0,97 ± 0,20 г/л), зростання його величини у хворих дітей відбувалось за рахунок пацієнтів з ГВІ (1,32 ± 0,17 г/л; у хворих без ГВІ – 1,0±0,17 г/л) (рис.4.4.1).

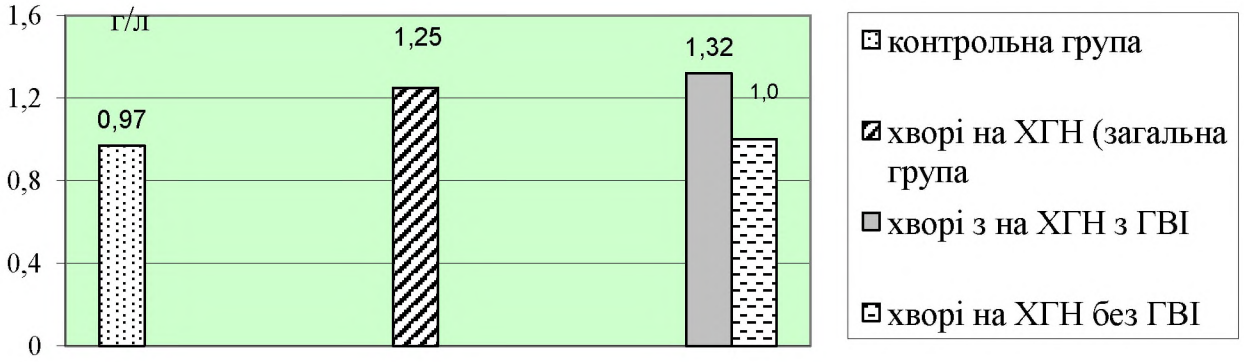


Рис. 4.4.1 - Вміст IgA в сироватці крові у хворих на гломерулонефрит

Сироватковий IgA у хворих з НС був нижче, ніж у хворих з ГН та еритроцитурією (відповідно 1,09 ± 0,16 г/л проти 1,43 ± 0,22 г/л) і така відмінність зберігалась і при наявності у хворих ГВІ (1,10 ± 0,19 г/л проти 1,57 ± 0,27 г/л) (рис. 4.4.2)

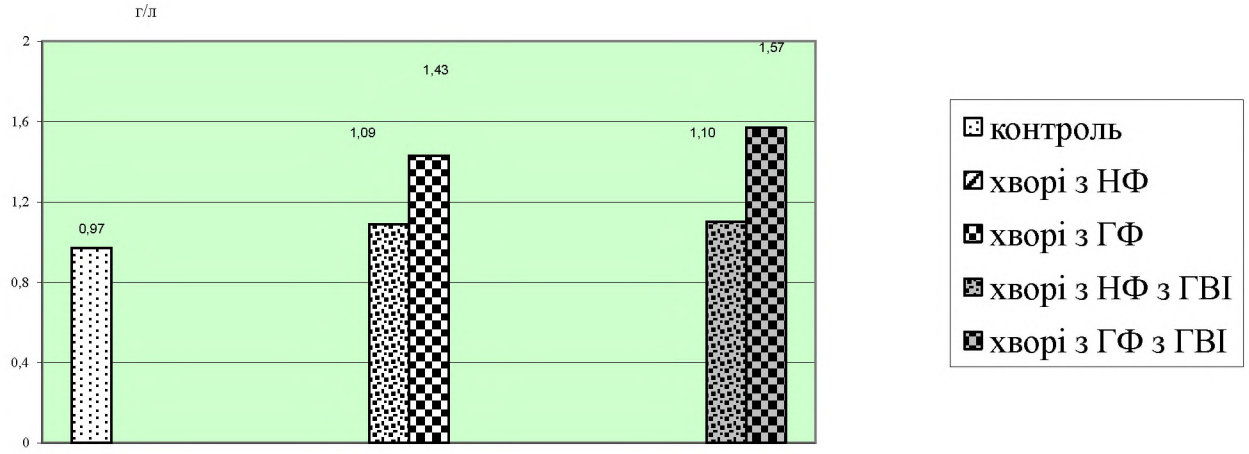


Рис. 4. 4.2 - Вміст IgA в сироватці крові у хворих з різними клінічними формами гломерулонефриту

Стероїдорезистентні хворі з НС характеризувались нижчим рівнем IgA (0,81 ± 0,12 г/л), ніж стероїдочутливі (1,30 ± 0,28 г/л) як в цілому по групі, так і при аналізі тільки хворих дітей, у яких виявлена реактивована ГВІ (0,78 ± 0,11 г/л та 1,44 ± 0,36 г/л, відповідно).

В сироватці крові у хворих на ГН дітей за торпідного перебігу визначався нормальний рівень IgA (1,06 ± 0,12 г/л, в тому числі з ГВІ – 1,05 ± 0,13 г/л), а у дітей в стадії часткової ремісії спостерігалось незначне підвищення вмісту IgA (1,55 ± 0,28 г/л) і саме у дітей з ГВІ (1,72 ± 0,35 г/л) (рис. 4.4.3).

Слід зазначити, що рівні сироваткового IgA у хворих з перебігом тяжким та середньої тяжкості майже не відрізнялися один від одного (1,21±0,21 г/л та 1,28±0,18 г/л), хоча при порівнянні хворих з ГВІ цей показник був вище у хворих з перебігом середньої тяжкості (1,14 ± 0,23 г/л та 1,46 ± 0,23 г/л) (рис. 4.4.4).

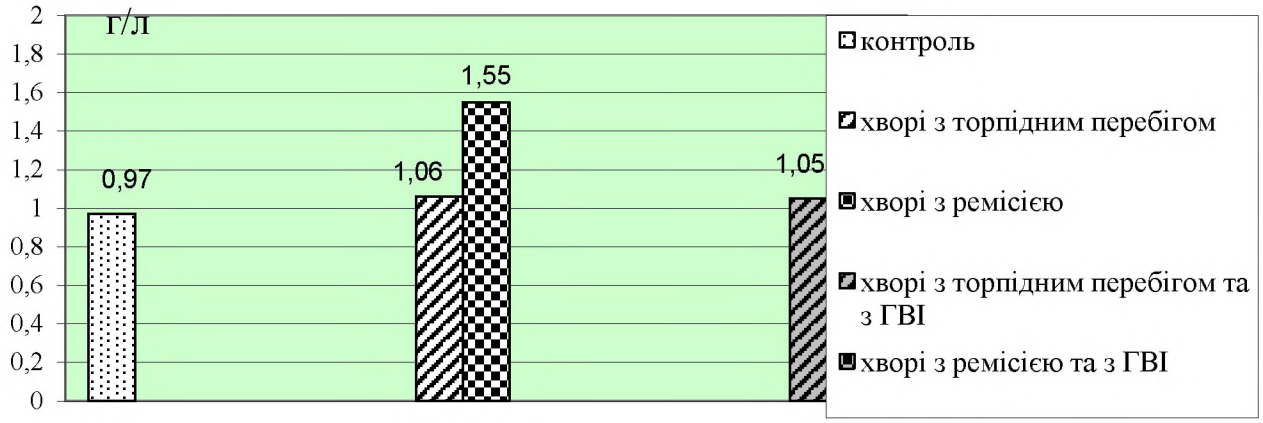


Рис. 4.4.3- Вміст IgA в сироватці крові хворих на ХГН в залежності від наявності ремісії

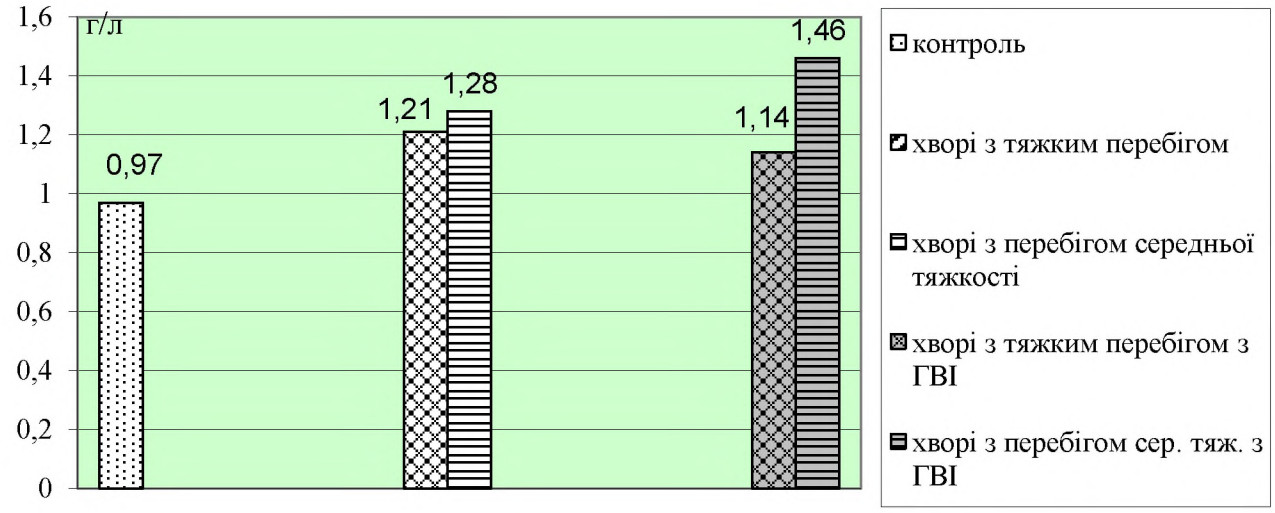
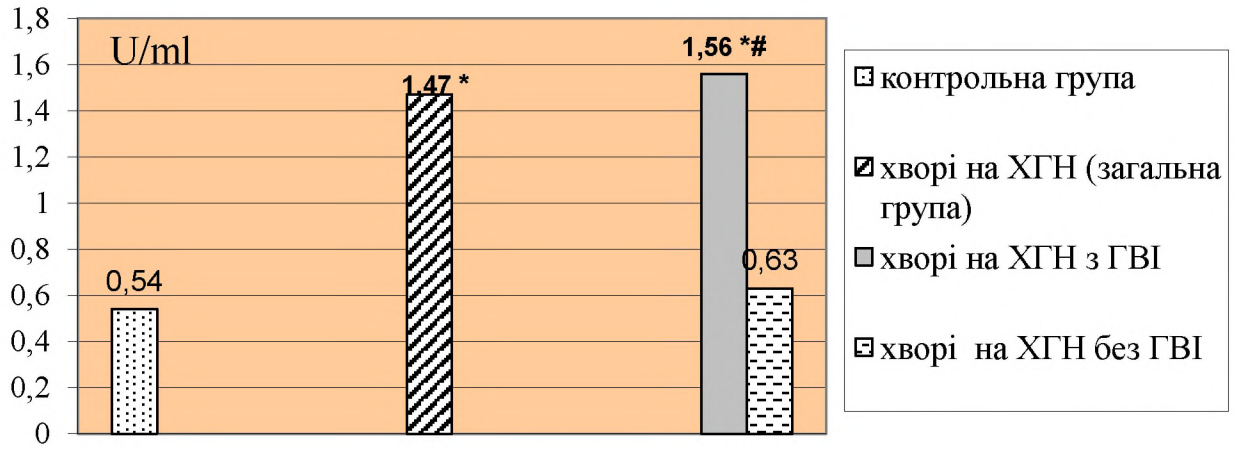


Рис. 4.4.4 - Вміст IgA в сироватці крові хворих на ГН в залежності від перебігу захворювання

Таким чином, у хворих на ГН рівень IgA в сироватці крові знаходився в межах фізіологічної норми і несуттєво підвищувався у хворих з герпесвірусною інфекцією. Значних відмінностей не виявлено ні при порівнянні хворих за варіантом клінічної форми, ні за перебігом і тяжкістю захворювання: хворі з ГН, еритроцитурією та частковою ремісією характеризувались збільшеним вмістом цього імуноглобуліну, але статистичної різниці в порівнянні до контролю не встановлено.

а) визначення рівня антитіл до C1q-компонента комплементу

Визначений в сироватці крові рівень анти-C1q антитіл знаходився в межах фізіологічної норми, але був достовірно вище за контрольний показник (1,47 ± 0,24 U/ml проти 0,54 ± 0,03 U/ml) і саме у хворих з ГВІ спостерігалось більше збільшення ($p<0,05$) величини показника, ніж у пацієнтів без ГВІ (1,56 ± 0,27 U/ml проти 0,63 ± 0,12 U/ml) (рис. 4.4.5).



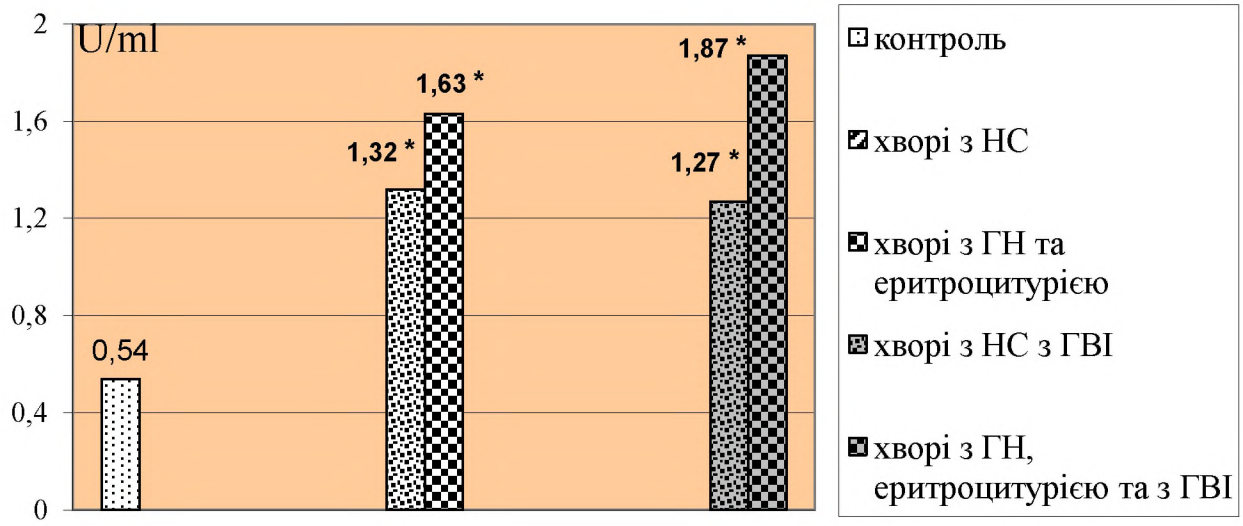
* - достовірні відмінності ($p<0,05$) відносно контролю; # - достовірні відмінності ($p<0,05$) відносно хворих без ГВІ

Рис. 4.4.5 - Рівень анти-C1q антитіл в сироватці крові у хворих на ГН

У хворих з НС рівень анти-C1q антитіл був нижче, ніж у хворих з ГН та еритроцитурією (відповідно 1,32 ± 0,30 U/ml проти 1,63 ± 0,39 U/ml), що можливо пов'язано із застосуванням у хворих з НС імуносупресивної терапії. Така відмінність зберігалась і при наявності у хворих ГВІ (1,27 ± 0,28 U/ml проти 1,87 ± 0,48 U/ml) (рис. 4.4.6).

При аналізі груп хворих по відношенню до гормонів було показано, що стероїдорезистентні діти характеризувались нижчим рівнем анти-C1q антитіл (1,02 ± 0,33 U/ml, $p>0,05$), ніж стероїдочутливі (1,63 ± 0,49 U/ml, $p<0,05$) як в цілому по групі, так і при аналізі тільки хворих дітей, у яких виявлена реактивована ГВІ (1,12 ± 0,39 U/ml та 1,46 ± 0,42 U/ml відповідно). Між групами достовірної різниці не встановлено. Серед СЧ хворих половина на момент обстеження не приймала гормонів, що може впливати на величину показника.

Як видно з рисунка 4.4.6, у дітей, хворих на ГН, як з ремісією, так і за її відсутності визначався достовірно підвищений порівняно до контролю рівень анти-C1q антитіл (1,40 ± 0,34 U/ml та 1,59 ± 0,33 U/ml відповідно); у дітей з ГВІ цей показник становив відповідно 1,57 ± 0,43 U/ml та 1,55 ± 0,28 U/ml.



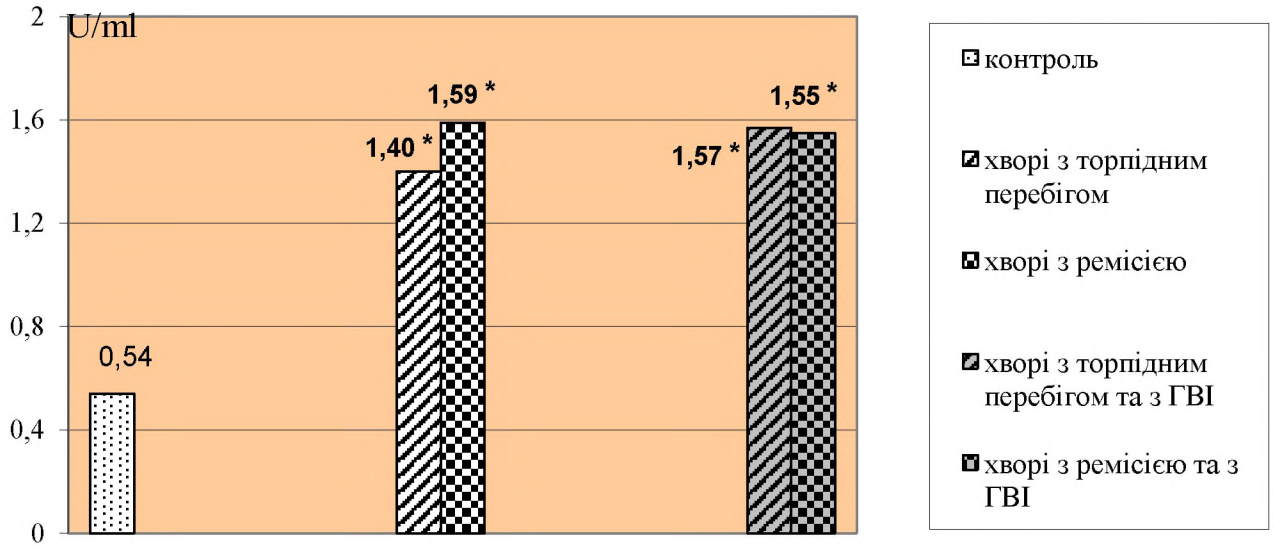
* - достовірні відмінності (p<0,05) відносно контролю

Рис. 4.4.6 – Рівень анти-C1q антитіл в сироватці крові у хворих з різними клінічними формами ГН

Слід зазначити, що рівні анти-C1q антитіл в групах хворих з тяжким перебігом та перебігом середньої тяжкості достовірно відрізнялися як від контролю, так і між собою (0,83 ± 0,10 U/ml та 1,87 ± 0,37 U/ml). При порівнянні хворих тільки з ГВІ даний показник був достовірно вище у хворих з перебігом середньої тяжкості (0,87 ± 0,10 U/ml та 2,09 ± 0,45 U/ml) (рис. 4.4.7). Факт значного перебільшення анти-C1q антитіл у хворих з перебігом середньої тяжкості, можливо, пов'язаний з тим, що 11 (37,9 %) пацієнтів на момент поступлення до стаціонару не приймали глюкокортикостероїди, а серед хворих з тяжким - тільки три дитини (16,7 %).

Таким чином, дослідження щодо рівня антитіл до C1q-компонента комплементу у хворих на ГН дітей виявили підвищення його величини порівняно до групи контролю, проте значення показників цього рівня не перевищували верхню

межу норми, що свідчить про виключення ризику розвитку запалення нирок за участю цих антитіл у даного контингенту хворих, які постійно знаходяться на тривалому лікуванні із застосуванням стероїдів. Майже однаковою була направленість змін у хворих з різними клінічними формами ГН і в залежності від наявності ремісії.



* - достовірні відмінності ($p<0,05$) відносно контролю

Рис.4.4.7 - Рівень анти-C1q антитіл в сироватці крові хворих на ГН в залежності від наявності ремісії

Суттєві відмінності (підвищення рівня анти-C1q антитіл) були визначені при порівнянні хворих за наявності ГВІ і у хворих з перебігом середньої тяжкості, що потребує спостереження за рівнем анти-C1q антитіл в сироватці крові таких хворих (рис. 4.4.8).

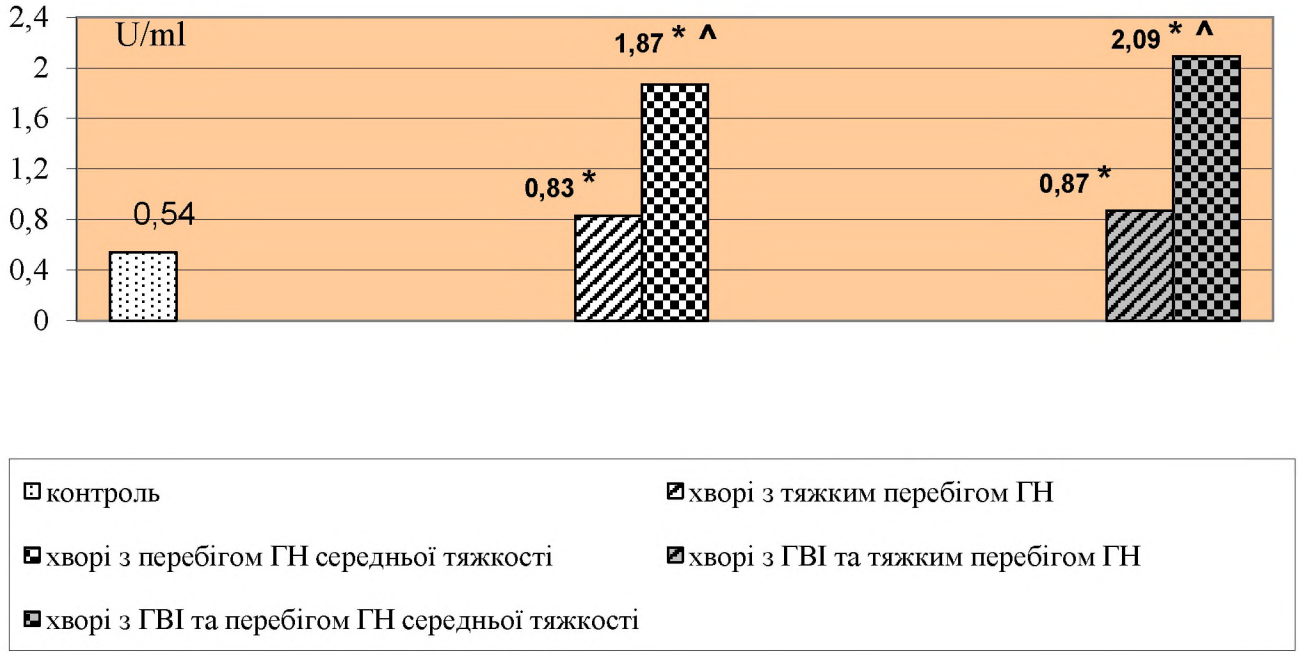


Рис. 4.4.8 - Рівень анти-C1q антитіл в сироватці крові хворих на ГН в залежності від тяжкості перебігу захворювання

* - достовірні відмінності ($p<0,05$) відносно контролю; ^ - достовірні відмінності ($p<0,05$) відносно хворих з тяжким перебігом.

4.5. Кореляційні зв'язки між показниками локального та системного імунітету хворих на ГН

Встановлено позитивний кореляційний зв'язок між вмістом MCP-1 з рівнем sIgA, SLPI та ІЛ-8 в сечі обстежених дітей, хворих на ГН та зворотній – з рівнем антитіл до C1q (C1q-АТ) (табл. 4.5.1). Також встановлені кореляційні взаємовідносини між сечовими SLPI та ІЛ-8 та між сироватковими показниками – IgA та C1q-АТ.

Таблиця 4.5.1 - Кореляційні зв'зки між показниками місцевого та системного імунітету у дітей, хворих на ГН (n=47)

	MCP-1	SLPI	ІЛ-8	IgA сироватки	C1q-АТ
sIgA	0,46 p=0,001	0,28 p=0,06	0,20 p=0,19	-0,10 p=0,51	-0,18 p=0,22
MCP-1		0,67 p=0	0,63 p=0,000002	-0,44 p=0,66	-0,31 p=0,04
SLPI			0,50 p=0,0004	0,10 p=0,51	-0,06 p=0,68
ІЛ-8				0,02 p=0,87	-0,001 p=0,99
IgA сироватки					0,29 p=0,04

У хворих дітей без ГВІ виявлені зв'язки характеризувались більшими коефіцієнтами кореляції (табл. 4.5.2), ніж у хворих, в яких була виявлена ГВІ (табл. 4.5.3), що вказує на зменшення сили кореляційного зв'язку між даними показниками у хворих на ГН за наявністю ГВІ.

Таблиця 4.5.2 - Кореляційні зв'зки між показниками місцевого та системного імунітету у дітей, хворих на ГН, за відсутності ГВІ (n=10)

	MCP-1	SLPI	ІЛ-8	IgA сир.	C1q-АТ
sIgA	0,89 p=0,0005	0,56 p=0,12	0,78 p=0,008	0,25 p=0,49	-0,12 p=0,73
MCP-1		0,78 p=0,012	0,89 p=0,0005	0,52 p=0,12	-0,07 p=0,84
SLPI			0,75 p=0,002	0,35 p=0,35	-0,28 p=0,46
ІЛ-8				0,50 p=0,14	-0,16 p=0,66

IgA сироватки					-0,04 p=0,91

Крім того, у дітей, хворих на ГН і без ГВІ, встановлена позитивна кореляція між рівнями sIgA та ІЛ-8, а взаємозв'язки між МСР-1 в сечі і С1q-АТ в сироватці крові та між сироватковими IgA та С1q-АТ зникли.

Виявлена позитивна кореляція між показниками свідчить про участь таких факторів в системі формування місцевого імунітету у відповідь на пошкодження ниркової тканини, в тому числі обумовленої герпесвірусами. Кореляція хемокінів (МСР-1, ІЛ-8) з SLPI підтверджує роль останнього, який продукується епітеліальними клітинами, в тому числі ниркових канальців, нейтрофілами та макрофагами слизових оболонок, як учасника місцевого імунітету, що забезпечує контроль локальної запальної реакції.

Таблиця 4.5.3 - Кореляційні зв'зки між показниками місцевого та системного імунітету у дітей, хворих на ГН, за наявності ГВІ (n=37)

	МСР-1	SLPI	ІЛ-8	IgA сир.	С1q-АТ
sIgA	0,38 p=0,022	0,24 p=0,15	0,11 p=0,51	-0,14 p=0,41	-0,18 p=0,28
МСР-1		0,59 p=0,0001	0,54 p=0,0005	-0,28 p=0,094	-0,37 p=0,02
SLPI			0,42 p=0,01	0,04 p=0,84	-0,09 p=0,60
ІЛ-8				-0,10 p=0,55	0,03 p=0,85
IgA сироватки					0,40 p=0,01

Відомо, що хемокіни поряд з основною роллю в процесах міграції клітин володіють захисною дією проти інфекційних агентів (бактерій, вірусів), тому разом

з секреторним IgA MCP-1 може чинити захисну дію, проте занадто високий рівень буде призводити до негативного ефекту, оскільки MCP-1 стимулює синтез профіброгенного цитокіну ТФР-β. Наявність ГВІ призводила до дисбалансу в системі імунологічного захисту. Високий рівень MCP-1 у частини хворих не завжди співпадав з підвищенням рівня sIgA, на що вказує зменшення сили кореляційного зв'язку. Підтвердженням цього факту можна вважати відсутність кореляції, наприклад, у хворих зі стероїдорезистентним варіантом НС за наявності ГВІ, коли спостерігалось збільшення рівня обох показників при відсутності кореляції ($p>0,05$) між ними ($\rho=0,52$, $p=0,13$). Аналогічна картина відмічалась у хворих на ГН з торпідним перебігом і за наявності ГВІ ($\rho=0,35$, $p=0,11$).

Суттєве підвищення в сечі концентрації такого медіатора запалення як ІЛ-8 (вище 15 пг/мл) призводило до зменшення кореляційних зв'язків з SLPI ($\rho=-0,03$, $p=0,93$); аналогічна особливість кореляції між даними показниками спостерігалась і у хворих з патологічно високими значеннями SLPI ($\rho = -0,01$, $p=0,96$), що свідчить про формування дисбалансу в системі імунологічного захисту у відповідь на загострення запального процесу. Відомо, що при деяких умовах SLPI здатний пригнічувати рекрутування нейтрофілів у вогнищі запалення, а суттєве підвищення його рівня може бути слідством порушення зв'язку протеаза-інгибітор (при адгезії з нейтрофілами, при адсорбції на молекулах ДНК або при взаємодії з реактивними формами кисню, що вивільнюються при респіраторному вибуху нейтрофілів), що в подальшому може сприяти зменшенню деградації компонентів позаклітинного матриксу та його накопиченню, а це, в свою чергу, може забезпечувати прогресування гломерулонефриту.

Таким чином, проведені дослідження дозволили висловити думку, що підвищення в сечі вмісту sIgA, ІЛ-8 та SLPI в межах фізіологічної норми можна розглядати як компенсаторну реакцію організму на пошкодження ниркової тканини, обумовленої ендо- та екзогенними факторами (імунними комплексами, бактеріями, вірусами тощо), а суттєве збільшення показників свідчить або про загострення ситуації (у разі з ІЛ-8), або про можливе прогресування хвороби на тлі подальшої

хронізації запального процесу (SLPI, MCP-1). Сироваткові показники не відображали повної картини запального процесу, який відбувається в нирках.

4.6. Показники локального та системного імунітету в динаміці лікування дітей, хворих на ГН, за наявності герпесвірусної інфекції

З метою визначення ефективності застосування противірусної терапії у 37 дітей, хворих на ГН, за наявності активної (реактивованої) ГВІ, був проаналізований стан місцевого імунітету та окремі показники системного імунітету в динаміці лікування. Хворих було розподілено на дві групи: до групи І (основна група) увійшли 20 дітей (середній вік (11,2 ± 0,9) років), що отримували відповідну при хронічному гломерулонефриті терапію з курсом противірусної терапії (ацикловір або валавір/вальтрекс + віферон або лаферобіон), а до групи ІІ (група порівняння) – 17 пролікованих дітей (середній вік (11,8 ± 0,9) років), яким до курсу лікування з різних причин не було включено противірусну терапію.

За результатами проведених контрольних досліджень після курсу противірусної терапії було встановлено зниження прозапальних хемокінів MCP-1 та ІЛ-8 в основній групі пацієнтів, хоча статистично достовірної різниці не було виявлено (табл. 4.6.1). Медіана для MCP-1 зменшилась в 1,3 рази, для ІЛ-8 – в 1,5 рази.

Коливання рівня MCP-1 в сечі хворих І групи становили від 46 до 2880 пг/мл до лікування і від 48 до 2008 пг/мл – після лікування. Коливання вмісту ІЛ-8 в сечі цих хворих становили від 0 до 70 пг/мл та від 0 до 39 пг/мл відповідно до та після лікування. У хворих групі порівняння, навпаки, спостерігалось підвищення вмісту в сечі обох хемокінів – медіана для MCP-1 збільшилась в 1,3 рази, для ІЛ-8 – в 2,0 рази. Мінімум та максимум для MCP-1 склали відповідно 66 та 888 пг/мл до лікування і 84 та 3360 пг/мл після лікування; для ІЛ-8 – 0 та 50,6 пг/мл до лікування і 0,2 та 85,0 пг/мл – після курсу лікування. В І групі зниження рівня MCP-1 відмічено у 11 (55,0 %) хворих, в ІІ групі – у 7 (41,2 %) дітей. Найкращі результати спостерігались у хворих І групи щодо рівня ІЛ-8 – загострення відмічено тільки у 2 (10,0 %) пацієнтів, в той час як у хворих ІІ групи – у 11 (64,7 %).

Таблиця 4.6.1 - Показники місцевого імунітету сечі в динаміці лікування дітей, хворих на ГН, за наявності ГВІ

Показники	Здорові особи	Хворі на ГН (*Me*, 25%-75%)			
		I група (n=20)		II група (n=17)	
		до лік.	після лік.	до лік.	після лік.
MCP-1, пг/мл	58,0 52,7–95,2	224,0 * 113,6–680,0	166,0 * 138,0–427,0	188,0 * 150,0–520,0	294,0 * 196,0-616,0
ІЛ-8, пг/мл	3,5 3,0–5,6	8,1 2,4–27,2	5,5 0,5–10,0	3,9 0,9–15,7	8,0 3,1–20,5
sIgA, х 10^{-2} мкг/мл	15,0 3,1–40,0	1,8 1,2–37,1	3,4 1,4–36,5	3,0 1,0–13,8	18,5 • 3,4–121,0
SLPI, пг/мл	435 370–510	1925 * 825–4500	2885 * 1650–5315	1800 * 1270–4000	4300 * 1600–18000

Примітки:

1. * - достовірні відмінності порівняно з групою донорів ($p < 0,05$);

2. • - достовірні відмінності відносно даних до лікування ($p < 0,05$).

3. верхній рядок – медіана (*Me*), нижній рядок – квартілі (25%–75 %)

Зниження рівня ІЛ-8 в сечі свідчить про зникнення гострого запального процесу, в якому задіяні нейтрофільні гранулоцити, і це відбувалось, в першу чергу, за рахунок дітей с патологічно високим рівнем ІЛ-8 (у 6 з 7 хворих I групи та у 4 з 5 хворих II групи), але в процесі стандартного лікування у інших дітей з II групи відбувалось загострення запального процесу в нирках і суттєве зростання даного хемокіну. Зменшення концентрації в сечі MCP-1 вказує на пригнічення запальної реакції, в якій задіяні, насамперед, мононуклеарні клітини, і зменшення можливого тубуло-інтерстиціального пошкодження у хворих на ГН, що цілком відображає ефективність проведеного лікування з включенням противірусної терапії. У пацієнтів II групи не спостерігалось позитивної динаміки, що вказує на ризик прогресування захворювання. Як свідчать наведені дані в таблиці 4.6.2.

Таблиця 4.6.2 - Динаміка зміни початкового рівня sIgA в процесі лікування дітей, хворих на ГН, за наявності ГВІ

Групи хворих		Початковий рівень sIgA (кількість пацієнтів, n)				
		знижений	нормальний	підвищений	напрям змін та рівень sIgA після лікування	
I група	НС (n=10)	2	1		зниження	< N
			1	1		в межах N
				1		> N
		2			підвищення	< N
		1				в межах N
				1		> N
	ГН з еритроцитурією (n=10)		1		зниження	< N
			1			в межах N
				1		> N
		3			підвищення	< N
		2				в межах N
		1	1			> N
II група	НС (n=9)				зниження	< N
			2	1		в межах N
						> N
					підвищення	< N
		1				в межах N
		3	2			> N
	ГН з еритроцитурією (n=8)		2		зниження	< N
			1			в межах N
				1		> N
		2			підвищення	< N
						в межах N
		2				> N

Примітка: N – міжквартільний розмах значень (25%-75 %) групи контролю, який можна вважати межами фізіологічної норми.

Занадто високий рівень sIgA після лікування було визначено в 25,0 % та 47,0 % випадків у пацієнтів основної групи та групи порівняння, що свідчить про збереження у цих пацієнтів запального процесу і саме, в більшій мірі, у хворих дітей, які не отримували противірусної терапії.

На зміну рівня sIgA в сечі в більшій мірі впливала імуносупресивна терапія. Так у 9 хворих з НС ГН (47,4 % випадків) проти 6 хворих (33,3 %) з ГН та еритроцитурією відбувалось зниження показника незалежно від його рівня до лікування (табл. 4.6.3). Нормалізація значень sIgA відбувалась у 30,0 % та 29,4 % хворих I та II груп відповідно.

При аналізі результатів дослідження рівня сечового SLPI встановлено його підвищення після лікування у хворих обох груп, проте якщо в I групі у половини хворих значення SLPI знаходились в межах фізіологічної норми (до 4,0 нг/мл), то в II групі – величина медіани вийшла за її межи. Кількість хворих з високим рівнем SLPI в I групі до і після лікування була однаковою (35,0 %), медіана становила 5,1 нг/мл та 7,0 нг/мл, міжквартільний розмах, відповідно, 4,2–17,0 нг/мл та 4,7–12,2 нг/мл. У хворих II групи при аналогічному аналізі встановлено підвищення кількості хворих з рівнем SLPI, що перевищував норму (з 29,4 % на початку лікування до 52,9 % після лікування), та зростання медіани і міжквартільного розмаху – з 12,0 нг/мл (11,0–15,0 нг/мл) до лікування до 18,0 нг/мл (7,9–27,5 нг/мл) після лікування. Слід зазначити, що в обох групах рівень SLPI і після лікування залишався вище контрольних величин, що вказує на його постійне залучення в місцевій регуляції протеолітичної активності за умов хронічного перебігу ГН для стабілізації протеазо-антипротеазного балансу.

Контрольні результати, що були отримані при дослідженні показників системного імунітету після проведеного курсу лікування, не виявили суттєвих відмінностей при порівнянні хворих I та II групи (табл. 4.6.3). Рівень сироваткового IgA після лікування несуттєво знижувався в обох групах, а рівень C1q-антитіл залишався достовірно вище контролю, але в межах норми і після лікування практично не змінювався у хворих I групи, а у хворих II групи спостерігалось незначне його зростання. Тобто проведене лікування як за стандартною схемою, так

і з призначенням противірусної терапії ніяким чином не впливало на рівні IgA та антитіл до C1q- компоненту комплементу.

Таблиця 4.6.3- Показники системного імунітету в динаміці лікування дітей, хворих на ГН, за наявності ГВІ

Показ-ники	Здорові особи	Хворі на ГН (M±m)			
		I група		II група	
		до лік.	після лік.	до лік.	після лік.
IgA, г/л	0,97±0,20	1,12± 0,17	1,03±0,17	1,56±0,30	1,27±0,22
C1q-AT, U/ml	0,54±0,03	1,74±0,48 *	1,72±0,52 *	1,28±0,28 *	1,44±0,30 *

Примітка: * - достовірні відмінності порівняно з групою донорів ($p < 0,05$)

Отже, включення противірусних засобів до стандартного лікування дітей, хворих на ГН, за наявності герпесвірусної інфекції, сприяло зменшенню проявів запалення в нирці за такими показниками як МСР-1 та ІЛ-8. Зміни концентрацій в сечі таких факторів захисту, як секреторний IgA та інгібітор лейкопротеази, під впливом лікування із застосуванням противірусних засобів відбувались частіше в межах контрольних величин (фізіологічної норми). Змін сироваткових показників (рівнів IgA та C1q-антитіл) під впливом різних схем лікування не встановлено.

Основний зміст даного розділу дисертації знайшов відображення в наступних опублікованих працях здобувача:

1. Кругліков В.Т., Багдасароа І. В., Круглікова І. В., Корніліна О. М. Рівень противірусних антитіл та показники місцевого імунітету в динаміці лікування дітей, хворих на гломерулонефрит, за наявності герпесвірусної інфекції. *Український журнал нефрології та діалізу*. 2016. № 3. С. 22-27. (здобувачем

проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).

2. Багдасарова І. В., Круглікова І. В., Корніліна О. М., Кругліков В. Т. Неспецифічні фактори захисту та медіатори запалення сечі дітей, хворих на гломерулонефрит, за наявності герпесвірусної інфекції (Повідомлення 1). *Український журнал нефрології та діалізу*. 2016. № 1. С.52-59. (здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).
3. Багдасарова І. В., Круглікова І. В., Корніліна О. М., Кругліков В. Т. Неспецифічні фактори захисту та медіатори запалення сечі дітей, хворих на гломерулонефрит, за наявності герпесвірусної інфекції (Повідомлення 11). *Український журнал нефрології та діалізу*. 2016. № 2. С.42-54. (здобувачем проведено відбір та клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).

РОЗДІЛ 5
ДІАГНОСТИКА ТА ЛІКУВАННЯ ГЕРПЕСВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Наявність *IgM* до певного типу вірусу у сироватці крові є безумовною ознакою активної інфекції, але при ГН, розвиток якого передбачає імуноскомпроментованість хворих, і хронічній ГВ-інфекції визначення специфічних *Ig* класу *M* дало не високу частку у діагнозі - позитивний результат було документовано лише в окремих випадках інфікування ЦМВ та ЕБВ (2 і 7, відповідно) (рис. 5.1).

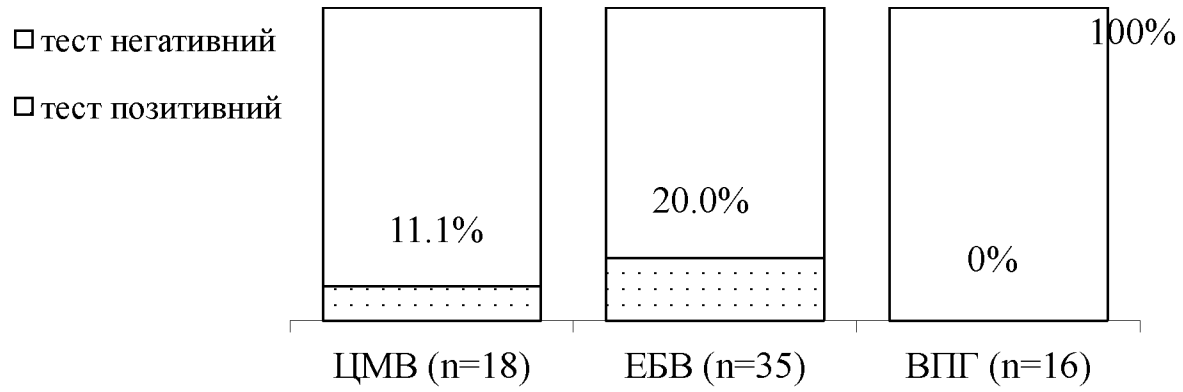


Рис. 5.1-Частота виявлення специфічних *IgM* сироватки у дітей, хворих на ГН, з ВГІ в активній (реактивованій) формі

Перевірку ефективності діагностичного тесту щодо наявності специфічних *IgM* сироватки виконано через розрахунок операційних характеристик (табл. 5.1). При високій специфічності тесту для всіх типів вірусів, що досліджувалися, чутливість тесту виявилася не значною. І хоча ВП позитивного результату для ЦМВ та ЕБВ інфекції в стадії реактивації було високим (відносний ризик виявлення

реактивації ЦМВ при наявності специфічних *IgM* зростав в 7,1 рази, ВЕБ – в 4,2 рази), відмінності не були статистично значущими.

Таблиця 5.1 - Ефективність діагностичного тесту: визначення специфічних *IgM* сироватки у дітей, хворих на ГН, при реактиваціх ГВІ

Операційна характеристика	Вірус		
	ЦМВ	ЕБВ	ВПГ
Чутливість	13.2 (4.2-34.5)	20.8 (10.7-36.6)	2.9 (0.3-22.9)
Специфічність	98.1 (84.5-99.8)	95.0 (65.5-99.5)	98.3 (85.4-99.8)
ВП позитивного результату	7.1 (0.4-139.8)	4.2 (0.3-66.8)	1.7 (0.1-82.1)
ВП негативного результату	0.9 (0.7-1.1)	0.8 (0.7-1.0)	1.0 (0.9-1.1)

Примітка: дані представлено як значення (95% ДІ).

Наявність специфічних антитіл класу *G* до ЦМВ, ЕБВ та ВПГ в сироватці крові може свідчити про інфікування, однак не є ознакою активної інфекції. В низьких титрах ("норма") їх визначають у неінфікованих (перехреснореагуючі або неспецифічні антитіла). Підвищення рівня специфічних *IgG*≥2 "норм" може відбутися як при латентній чи персистентній інфекції (анамнестичні антитіла "імунної пам'яті"), так і при її реактивації. В нашому дослідженні зростання *IgG*≥2 "норм" супроводжувало реактивацію ГВІ найбільш часто при ЕБВ (34 дитини) та ВПГ (14 випадків), рідше – за умови ЦМВ (17 спостережень) (рис. 5.2).

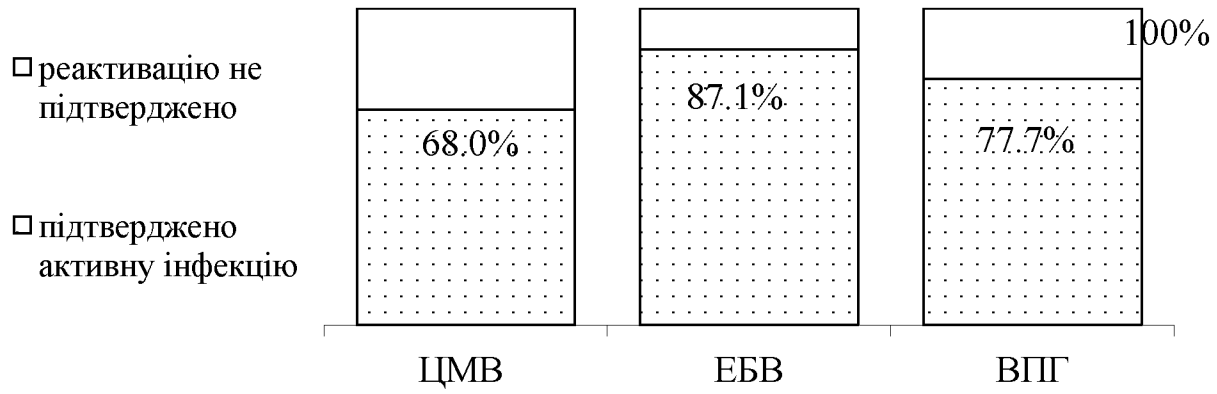


Рис. 5.2 - Частота виявлення активної (реактивованої) форми ГВІ у дітей, хворих на ГН, з рівнем специфічних *IgG* сироватки ≥2 "норм"

Більш вагомо про наявність активної інфекції свідчило підвищення рівню специфічних *IgG*≥4 "норм" – реактивацію інфекції було підтверджено в більшості випадків (ЦМВ – 17 дітей, ЕБВ – 34, ВПГ – 14) (рис. 5.3).

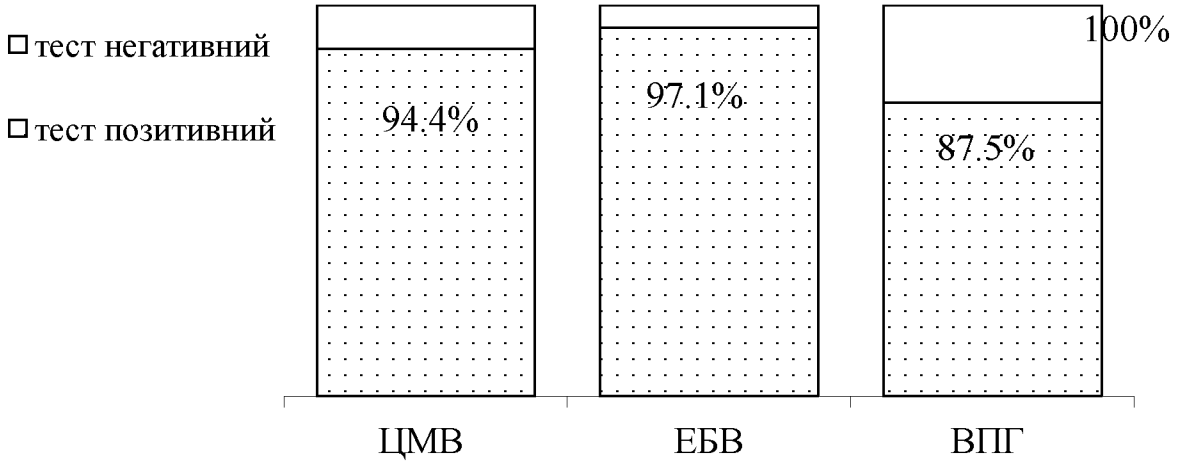


Рис. 5.3 - Частота виявлення специфічних *IgG* сироватки ≥4 "норм" у дітей, хворих на ГН з ГВІ в активній (реактивованій) формі

Доцільність такого підходу до діагностичного тесту щодо специфічних *IgG* сироватки ≥4 "норм" було підтверджено для хворих з реактивацією ЕБВ та ВПГ – тест виявився високо специфічним і чутливим, зі статистично вагомими значеннями ВП позитивного результату (19,7 для ЕБВ; 49,5 для ВПГ) (табл. 5.2). У випадку

ЦМВ тест був малочутливим, хоча відносний ризик виявлення реактивації (ВП позитивного результату) при *IgG* ВПГ≥4 "норм" зростав в 4,3 рази.

Таблиця 5.2 - Ефективність діагностичного тесту: визначення специфічних *IgG* сироватки ≥4 "норм" у дітей, хворих на ГН, при реактивації ВГ-інфекції

Операційна характеристика	Вірус		
	ЦМВ	ЕБВ	ВПГ
Чутливість	7.9 (1.8-28.1)	98.6 (88.0-99.9)	85.3 (62.3-95.3)
Специфічність	98.1 (84.5-97.3)	95.0 (65.5-99.5)	98.3 (85.4-99.8)
ВП позитивного результату	4.3 (0.2-99.1)	19.7 (1.3-294.0)	49.5 (3.2-777.6)
ВП негативного результату	1.0 (0.8-1.1)	0.02 (0.001-0.2)	0.2 (0.1-0.5)

Примітка: дані представлено як значення (95% ДІ).

Дослідження сечі у хворих на ГН дало можливість виявити герпесвірусну ДНК в ПЛР тільки в 5 випадках з 69-ти взірців сечі інфікованих дітей з доведеною надалі реактивацією ГВІ (7.3%) (рис. 5.4). Обстеження з виконанням ПЛР сечового осаду тієї ж групи хворих показало наявність ДНК в 44-х випадках (63.8%) – це підтвердило наявність активної ГВІ у імуноскомпроментованих пацієнтів. Частота позитивного результату в ПЛР сечі та сечового осаду серед пацієнтів залежно від збудника представлено на рисунку 5.4.

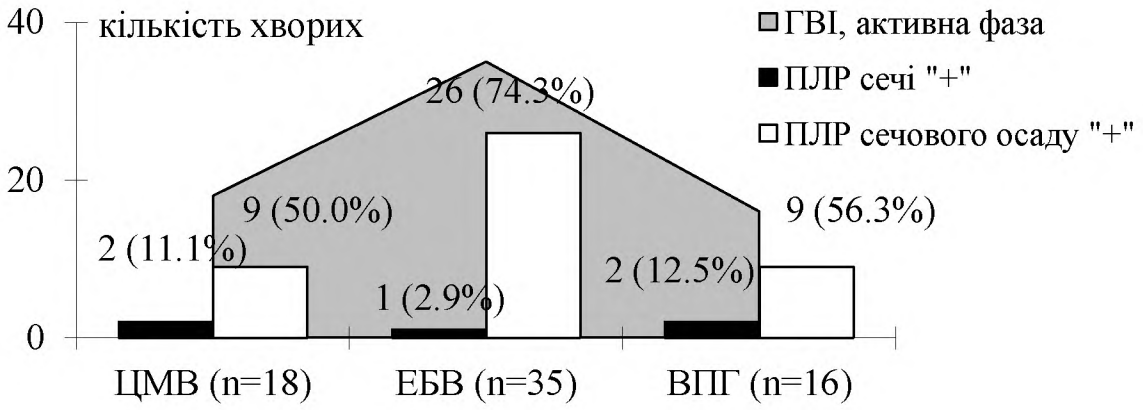


Рис. 5.4 - Частота виявлення ДНК вірусів групи герпес в сечі та

сечовому осаді дітей, хворих на ГН, з активною фазою ГВІ

Дослідження в ПЛР аналогічних зразків сечі у 10-ти дітей, хворих на ГН, серонегативних щодо ГВІ , не виявило ДНК жодного з трьох типів вірусу.

Визначення ДНК вірусів в ПЛР сечі виявилося специфічним тестом з низькою чутливістю та відсутністю статистично значущих відмінностей, не дивлячись на високий ВП позитивного результату для хворих з реактивацією ЦМВ і ВПГ (табл. 5.3).

Використання для ПЛР не сечі, а осаду з її клітин, значно підвищило чутливість діагностичного тесту та ВП позитивного результату для всіх типів ГВІ, що досліджували (ЦМВ – 27.0, ЕБВ – 14.7, ВПГ – 32.4) (табл. 5.4).

Таблиця 5.3 - Ефективність діагностичного тесту: визначення ДНК вірусів в сечі у дітей, хворих на ГН, при реактивації ГВІ

Операційна характеристика	Вірус		
	ЦМВ	ЕБВ	ВПГ
Чутливість	18.4 (7.0-40.5)	4.2 (1.0-16.2)	14.7 (4.7-37.7)
Специфічність	98.1 (84.5-99.8)	95.0 (65.5-99.5)	98.3 (85.4-99.8)
ВП позитивного результату	10.0 (0.6-181.6)	0.8 (0.04-18.9)	8.5 (0.4-167.4)
ВП негативного результату	0.8 (0.7-1.0)	1.0 (0.9-1.2)	0.9 (0.7-1.1)

Примітка: дані представлено як значення (95% ДІ).

Застосування в ПЛР осаду клітин сечі дало змогу статистично вагомо збільшити виявляємість ГВІ у імуноскомпроментованих хворих порівняно із зразками самої сечі і припустити безпосередню участь цих вірусів в патологічному процесі в нирках.

Таблиця 5.4 - Ефективність діагностичного тесту: визначення ДНК вірусів в сечовому осаді у дітей, хворих на ГН, при реактивації ГВІ

Операційна характеристика	Вірус		
	ЦМВ	ГВІ	ВПГ
Чутливість	50.0 (29.5-70.5)	73.6 (57.5-85.2)	55.9 (33.5-76.1)
Специфічність	98.1 (84.0-99.8)	95.0 (65.5-99.5)	98.3 (85.4-99.8)
ВП позитивного результату	27.0 (1.7-436.3)	14.7 (1.0-221.0)	32.4 (2.0-522.5)
ВП негативного результату	0.5 (0.3-0.8)	0.3 (0.2-0.5)	0.5 (0.3-0.8)

Примітка: дані представлено як значення (95% ДІ).

Додатково у пацієнтів з "+" тестом в ПЛР сечового осаду було проаналізовано результати інших методів діагностики (ІФА і ПЛР сечі) і визначено меншу інформативність позитивного результату при дослідженні *IgM* та ПЛР сечі при достатньо високій частці співпадінь за умови *IgG*≥4-х "норм" (табл. 5.5).

Таблиця 5.5 - Частота виявлення (*n*/%) активної ГВІ різних типів з використанням традиційних серологічних та вірусологічних методів у дітей, хворих на ГН, з підтвердженним інфікуванням за ПЛР в сечовому осаді

"+" ПЛР в сечовому осаді	Показники активної інфекції		
	IgM "+"	*IgG*≥4-х "норм"	"+" ПЛР в сечі
ЦМВ, n=9	1/11.1	8/88.9	2/22.2
ЕБВ, n=26	6/23.1	26/100	1/3.9
ВПГ, n=9	0	7/77.8	2/22.2

Таким чином, найбільш ефективним щодо діагностики реактивованої ГВІ у дітей, хворих на ГН, виявилось дослідження ДНК вірусу в ПЛР сечового осаду. При негативному результаті цього тесту активність інфекції, викликаної ВГ, доцільно

підтверджувати за наявності специфічних *IgG*: їх збільшення до ≥4-х "норм" свідчить про реактивацію вірусу (див. рис. 5.3). Співставлення ваги ІФА, а саме наявність специфічних *IgG*≥4-х "норм", та "+" результату ПЛР в сечовому осаді в частоті виявлення активної ГВІ показало перевагу серологічного методу зі статистично значущими відмінностями для ЦМВ і ЕБВ (p=0.009 і p=0.006, відповідно). Додаткове дослідження специфічних *IgM* можливе, однак внесок його позитивного результату для підтвердження активної ГВІ не значний (див. рис. 5.1), як і визначення ДНК в ПЛР сечі (див. рис. 5.4).

Загалом послідовність обстеження дітей, хворих на ГН, для виключення ГВІ в стадії реактивації представлено на рисунку 5.5.

Таке обстеження покроково виправдано у імуноскомпроментованих хворих, до яких відносять дітей з імунокомплесною патологією нирок (ГН). Оскільки для цієї групи пацієнтів характерно порушення традиційних механізмів антитілоутворення, то кроком 1 в комплексі обстеження є визначення безпосередньо ДНК в ПЛР сечового осаду. Її наявність підтверджує супутнє інфікування і опосередковано свідчить про вірогідність участі вірусу в патологічному процесі *in situ*, виправдовуючи комбіновану імуноорієнтовну терапію ГН та ГВІ. Крім того, ПЛР виконують у матеріалі, який отримують не травматичним шляхом – у сечі (на відміну від травмуючого забору крові для ІФА).

Комплекс комбінованого послідовного використання модифікованого методу ПЛР в сечовому осаді та ІФА має, також, економічний ефект, оскільки збільшує частку позитивних рішень щодо висновку та прийняття рішення вже на етапі Крок 1 і звужує обсяг залучення серологічних досліджень на наступних етапах (Крок 2 та Крок 3).

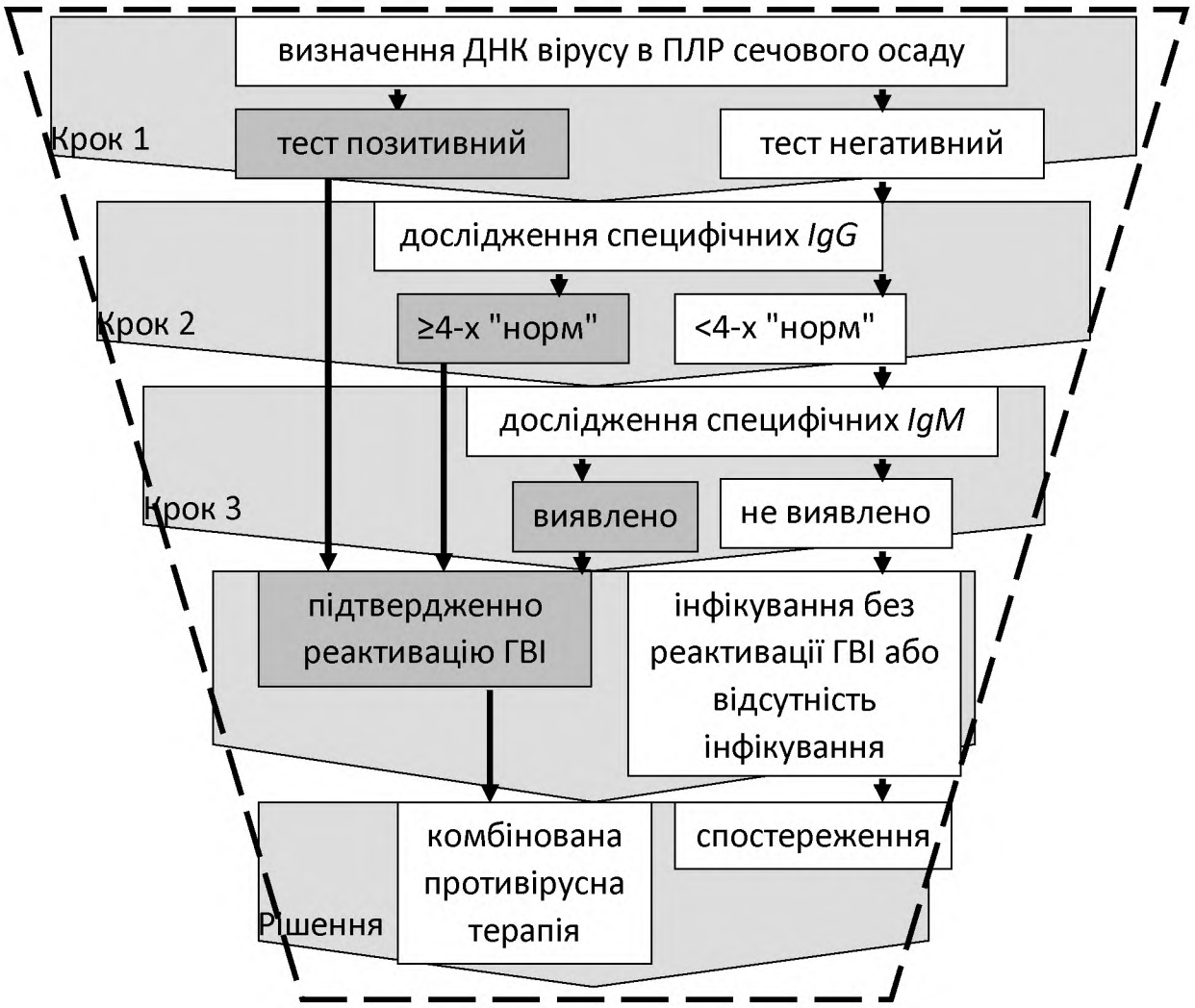
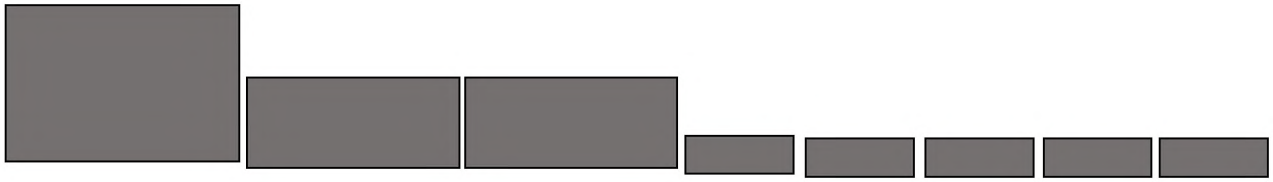


Рис. 5.5 - Послідовність діагностичних дій у дітей, хворих на ГН, для підтвердження реактивації ГВІ

Пацієнтам з підтвердженною активною ГВІ призначалась противірусна терапія, що включала ациклічні нуклеозидні аналоги (ацикловір, валацикловір), препарати α-інтерферону, пробіотики та імунотропні препарати. Враховуючи особливості імунного статусу пацієнтів з хронічним гломерулонефритом та супутньою ГВІ, а саме їх імуноскомпроментованість, розроблено алгоритм лікування противірусними препаратами цієї групи пацієнтів. Схема лікування ГВІ більш докладно представлена на малюнку нижче (рис. 5.6).

Ациклічні нуклеозидні аналоги (14 дн. в максимальній дозе, 3 міс. в підтримуючій)

Людський рекомбінантний α-інтерферон (10 дн. в максимальній, ≥3 мес. – в підтримуючій зі зменшенням дозі)



Пробіотики за необхідності (3 міс)

Імунокорегуючі препарати за необхідністю

Рис. 5.6 - Схема лікування Herpesviridae

Схема лікування розроблена на основі прийнятих МОЗ України протоколів терапії ГВІ у дітей. З огляду на імуноскомпрометованність хворих препарати використовували тривало (не менш 3-х місяців), поступово зменшуючи дозу. Серед імуноорієнтованих препаратів обов'язковими складовими були людський рекомбінантний α_2-інтерферон ректально та пробіотики, за необхідності призначали інші імуноорієнтовані препарати (табл. 5.6).

Таблиця 5.6 - Противірусна терапія дітей, хворих на ГН, при наявності супутнього інфікування ВПГ

Препарат	Застосування	
	максималь-	підтримуюча терапія

			на доза	
нуклеозидні аналоги		ацикловір/ валавір	2 тж.	3 міс. і більше
імуноорієнтовані препарати	рекомбі-нантний α_2-інтер-ферон	лаферобіон або (віферон) ректально	10 днів	50% від максимальної дози 10 днів→3 р./тж. (пн, ср, пт) 1-2 міс.→2 р./тж. (вт, чт) 1 міс.→1 р./тж. (ср) 1 міс.
	пробіотики		3-6 міс.	
	інші	флавозид, протефлазид	з 4-го тж. лікування 2 р./доба 1 міс.→3 р./тж. (пн, ср, пт) 2 тж.→2 р./тж. (вт, чт) 2 тж.→1 р./тж. (ср) 1 міс.	
		галавіт	з 4-го тж. лікування 2 р./доба 1-й день→1 р./доба №7-14 через день→1 р./доба через 2 доби на 3-ю №14	
		інфлюцид	1 т. 3 р./ доба 1 міс.→1 т. 2 р./доба 1 міс.	
		анаферон	1 міс.	
		поліоксидоній	з 4-го тж. лікування 1 р./доба №3→через день №7→через 2 доби на 3-ю №10	
		«Джерело»	1-3 міс.	

Примітка:

1. скорочення назв днів тижня: пн – понеділок, вт – вівторок, ср – середа, чт – четвер, пт – п’ятниця;

2. дози препаратів – відповідно до інструкції.

Аналізуючі отримані дані можна узагальнити:

- Для пацієнтів з ГН та супутньою ГВІ виявлення специфічних IgM є нечутливим тестом і не має діагностичного значення
- Підвищення рівнів специфічних *IgG*≥4-х "норм" свідчить про наявність активної ГВІ
- Використання ПЛР сечового осаду для виявлення ДНК вірусів групи герпесу є більш доцільним, ніж дослідження сечі методом ПЛР.

- Для пацієнтів з ГН та супутньою ГВІрозроблений оптимальний алгоритм діагности та противірусної терапії.

Матеріали розділу опубліковані в роботах:

1. Кругліков В. Т., Багдасарова І. В., Круглікова І. В., Васильєва І. Г., Цюбко О. І. Герпесвірусна інфекція і гломерулонефрит у дітей. *Український журнал нефрології та діалізу*. 2015. № 2. С. 61-67. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, оформлена стаття).
2. Багдасарова І. В., Корніліна О. М., Круглікова І. В., Фоміна С. П., Кругліков В. Т. Спосіб оцінки ефективності противірусної терапії хронічного гломерулонефриту, асоційованого з герпесвірусною інфекцією: Патент на КМ UA № 108930 Україна. № u 2015 12782; заявл. 24.12.15 ; опуб. 10.08.16, Бюл. № 15. (здобувачем проведено обстеження хворих, обробка і аналіз даних, оформлено заявку на отримання патенту).
3. Круглікова І. В., Фоміна С. П., Багдасарова І. В. Інфікованість вірусами групи герпесу дітей, хворих на гломерулонефрит. *Матеріали X Конгресу педіатрів України «Актуальні питання педіатрії»*. (6-8 жовтня, 2014р., м. Київ). Київ. 2014. С.38-39. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано публікацію до друку).
4. Фомина С. П., Багдасарова И. В., Кругликова И. В. Эпштейн-Барр вирусная инфекция и нефротический синдром у детей: опция терапии. *Сборник тезисов III конгресса нефрологов новых независимых государств*. (25-27 сентября 2014г., г. Тбилиси, Грузия). Тбилиси. 2014. С.227-230. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, проведено статистичну обробку та аналіз отриманих даних, підготовано публікацію до друку).
5. Фомина С. П., Багдасарова И. В., Кругликова И. В. Гематурическая форма гломерулонефрита у детей: сопутствующая инфекция, вызванная вирусами

группы Herpes и опции терапии. *Материалы IV Конгресса ассоциации нефрологов новых независимых государств*. (29-30 сентября, 2016г., г. Минск, Беларусь). Минск. 2016. С.127. (здобувачем проведено клінічне обстеження хворих, статистичну обробку та аналіз отриманих даних, сформульовані висновки).

РОЗДІЛ 6
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ ДАНИХ

Незважаючи на значні зусилля дослідників різних країн, залишається актуальним вивчення факторів, що обтяжують перебіг хронічного гломерулонефриту та методів лікування даної патології у дітей. Одним з напрямків є вивчення ролі супутньої вірусної патології, в тому числі і вірусів родини Herpesvirideae, в розвитку тяжких форм ГН. Залишаються відкритими питання щодо підвищення ефективності лікування та доцільності проведення противірусної терапії

при хронічному гломерулонефриті у дітей. Ці завдання були предметом вивчення в нашому дослідженні.

Об'єктом дослідження були 112 дітей віком від 2 до 17 років, які перебували на лікуванні у нефрологічному відділенні ДКЛ№7 м. Києва (клінічна база ДУ «Інститут нефрології АМН України»), хворих на хронічний гломерулонефрит. У 85 пацієнтів (75,9%) було виявлено діагностично значуще підвищення титрів антитіл до вірусів групи герпесу. 27 досліджуваних (24,1%) з відсутніми діагностично значущими титрами антитіл до названих вірусних агентів були зачисленні до контрольної групи. Згідно з даними різних дослідників поширеність ГВІ у дітей з ГН складає від 70% до 95% [8,9,10]. В нашому випадку виявлення ГВІ в 75% досліджень пов'язане з тим, що в роботу включено лише пацієнтів з активною інфекцією.

В сруктурі інфікованості ГВІ у 43,5% випадків виявлено мікст-інфекцію, 32,9% припадає на ЕБВ-інфекцію, у 23,6% пацієнтів діагностовано ЦМВ-інфекцію. Така картина розподілу варіантів інфекції у дітей з гломерулонефритом співпадає з даними досліджень інших авторів [8, 9, 41], що може свідчити про скомпрометованість захисних імунних факторів організму у пацієнтів з ГН. Цікавим є факт, що в ході дослідження не виявлено жодної дитини з моноінфекцією, викликаною вірусом простого герпесу 1/2 типів. Враховуючи дані літератури, щодо розповсюдженості та частоти зустрічаємості герпесвірусної інфекції, з найбільшою вірогідністю це випадковість. Але можна також припустити, що вірус простого герпесу людини є менш стійким, або менш вірулентним на відміну від ЕБВ та ЦМВ.

При аналізі частоти виявлення кожного вірусу у моно- та мікст-інфекціях встановлено, що частка ЕБВ-інфекції складала 72,9%, ЦМВ-інфекції 55,3%, а ВПГ 22,4%. Це пов'язано з більшою розповсюдженістю ЕБВ, порівняно з ЦМВ та ВПГ [9, 42].

Розподіл дітей за статтю не виявив статистичних відмінностей. За віком в контрольній групі переважали діти до 6-ти років, що можна пояснити тим, що ці дити, як правило не відвідували дошкільні навчальні заклади, де найбільш часто

відбувається знайомство з вірусним агентом. Спостерігалась також однакова частота ЦМВ моноінфекції у всіх вікових групах, однак статистична обробка не виявила між групами достовірних відмінностей (p>0,05). Інфікування трьома вірусами одночасно візначалось в 4 рази частіше у групі дітей старших 11 років. Що можна пояснити більшою тривалістю захворювання у цій віковій групі. За даними інших авторів моно-інфекція частіше виявляється у дітей раннього віку, а мікст - у підлітків [5, 8, 9]. Найбільший відсоток виявлення активної ГВІ відмічено у пацієнтів з СРГН (85,7%), для порівняння при СЧГН цей відсоток складав 63,3 %, а при ГФГН – 79,6% (p<0,01). В роботі А. А. Линдіна, 2010р. виявлено, що для пацієнтів з СЧГН характерна латентна ГВІ, діагностикою якої ми не займалися. А для пацієнтів з СРГН більш характерна активна ГВІ. Для СРГН властивий тривалий тяжкий перебіг, часто з застосуванням пролонгованої імуносупресивної терапії. Отже високий рівень виявлення активної ГВІ при СРГН пов'язаний з виснаженням імунної системи та активацією на фоні імуносупресії ГВІ. З тієї ж причини спостерігається нижчий відсоток виявлення ГВІ і у пацієнтів з ГФГН.

При аналізі структури активної ГВІ в залежності від форми ГН виявлено високий ступінь вірус-вірусних асоціацій у пацієнтів з СРГН (52,7 % проти 20 % при СЧГН та 35,3 % при ГФГН, p<0,01). Такий розподіл є наслідком виснаження механізмів імуного захисту у пацієнтів з ГН. Отже, тривала імуносупресивна терапія є фактором ризику для активації (реактивації) ГВІ.

Окрім серологічного підтвердження оцінювалась наявність клінічних ознак ГВІ, таких як субфебрилітет, лімфаденопатія, гепатоспленомегалія, лімфоцитоз у периферичній крові та часті захворювання на ГРІ. Ці симптоми описані в літературі як клінічні прояви стертих форм ГВІ [9] і збігаються з даними інших дослідників [8, 23, 40]. Для дітей з активною ГВІ та ГФГН порівняно з пацієнтами без ГВІ були характерні субфебрилітет (32,6 ± 7,2 % проти 9,1 ± 8,7), лімфаденопатія (51,2 ± 7,6 % проти 18,2 ± 11,6) та гепатоспленомегалія (25,6 ± 6,65 проти 0%) (p<0,05). Ефективність призначення противірусних лікарських засобів підтверджувалась позитивною динамікою клінічної картини ГВІ. Так частота виявлення

субфебрилітету, лімфоцитозу та гепатоспленомегалії після отриманого лікування знизилась у 2 і більше рази (субфебрилітет з 39,4 ± 8,5 % до 15,2 ± 6,2 %, лімфаденопатія з 51,5 ± 8,7 % до 24,2 ± 7,5 %, гепатоспленомегалія 27,3 ± 7,8 % до 8,2 ± 6,7 %) ($p<0,05$).

Аналіз клініко-лабораторної картини хронічного гломерулонефриту з еритроцитурією у дітей з ГВІ підтвердив ефективність комплексної терапії захворювання. Так для дітей з ГФГН з активною ГВІ була характерна протеїнурія (67,4 ± 7,2 %) випадків та високі цифри АУ (60,5 ± 7,5 %). Для порівняння в групі з ГФГН без ГВІ і протеїнурія, і підвищення АУ виявлені в 27,3 ± 13,4 % ($p<0,05$). В дослідженні Дліна В.В.,2010р. доведена наявність вірусів групи герпесу в ниркових біоптатах у пацієнтів з НСГН на фоні ГВІ. Даних щодо наявності вірусів в ниркових клубочках при ГФГН в літературі не зустрічається. Втім можна припустити, що виявлена протеїнурія та АУ є наслідком пошкодження клубочків як самими вірусами, так і імунними комплексами з вірусними антигенами в своєму складі. Ефективність комплексної терапії доведена зниженням частоти виявлення протеїнурії більш ніж у 2 рази (з 66,7±8,2% до 30,3±8,0%)($p<0,05$), рівеню АУ (з 51,5 ± 8,7 % до 27,3 ± 7,8 %), але різниця статистично не значуща. Крім того рузультат лікування відзначався у зниженні макрогематурії з 48,5 ± 8,7 % до 15,2 ± 6,2 %, АГ – з 18,2 ± 6,7 % до 3,0 ± 2,9 % та ліквідіції ПФН ($p<0,05$). Порівняльний аналіз всіх трьох груп виявив, що контрольна група та когорта, яка отримувала противірусну терапію мають схожі результати лікування, так при аналізі групи порівняння та групи пацієнтів з ГВІ, що отримували комплексну терапію макрогематурія зустрічалась 18,2 ± 11,6 проти 15,2 ± 6,2, протеїнурія зустрічалась у 36,4 ± 14,5 проти 30,3 ± 8,0, частота виявлення високих рівнів АУ була майже однаковою і складала 27,3 ± 13,4 і 27,3 ± 7,8 відповідно, в обох групах після проведення терапії не зафіксовано ПФН, в групі, що не отримувала противірусну терапію клініко-лабораторні показники практично не змінилися і були достовірно вижчими в порівнянні з пацієнтами інших двох груп: макрогематурія зустрічалась у зустрічалась у 70,0±14,5, протеїнурія у 50,0±15,8, високі цифри АУ - у 50,0±15,8. З

отриманих даних випливає, що комплексна терапія, яка включає пртивірусні препарати, призводить до збільшення частоти позитивного результату від лікування. За даними літератури відомо, що терапія ЕБВ-інфекції у пацієнтів з ГФГН призводить до позитивного результату лікування [16], крім того є дані про досягнення ремісії змішаної форми геморагічного васкуліту з гематурією у пацієнта з ГВІ при додаванні противірусної терапії в іноземних виданнях описані одиничні клінічні випадки позитивного ефекту від лікування противірусними препаратами пацієнтів з ЕБВ-інфекцією [39, 40, 42] .

При морфологічному дослідженні переважала ХТМ (71,4%), крім того виявлено IgA-нефропатію (28,6%). Зв'язку між морфологічним діагнозом та наявністю ГВІ не виявлено, але вибірка недостатньо велика, крім того нефробіопсія виконувалась дітям з стійкою гематурією, що обумовлює низький відсоток пацієнтів контрольної групи.

Серед симптомів ГВІ у пацієнтів з СЧГН відмічено високу частоту виявлення субфебрилітету (44,4±11,7% проти 0% у дітей з СЧГН без ГВІ), лімфоцитозу в крові (61,1±11,5% проти 16,7±10,8% у пацієнтів без ГВІ), лімфаденопатії (66,7±11,1% проти 25,0±12,5% у пацієнтів без ГВІ) та гепатоспленомегалії (33,3±11,1 проти 16,7±10,8) ($p<0,05$). Достовірних відмінностей при оцінці клініки ГВІ після проведення противірусної терапії не відмічалось, проте виявлено тенденцію до зниження показників субфебрилітету (18,2±11,6%), лімфоцитозу (18,2±11,6%), лімфаденопатії (27,3±13,4%) та гепатоспленомегалії (18,2±11,6%) ($p>0,05$). Така картина може бути пов'язаною з більш повільним зворотнім розвитком захворювання у дітей на імуносупресивній терапії.

Для оцінки ефективності комплексної терапії порівнювалась частота рецидивів за 12 міс до лікування та в динаміці через 12 міс після лікування. Кількість рецидівів в групі з СЧГН та ГВІ складала 63,6±14,5% та достовірно знизилась після отримання комплексної терапії до 9,0±8,7% ($p<0,05$), в групі контролю до лікування частота ранніх рецидивів НС складала 25,0±12,5%, після закінчення курсу патогенетичної терапії впродовж 12 міс в жодної дитини не зафіксовано рецидиву НС. В когорті дітей які не отримували противірусну терапію

відмічалась тенденція до зниження частоти рецидивів (85,0 ± 13,2% проти 42,8±18,7%) , але відсоток дітей з ранніми рецидивами залишався досить великим і складав майже половину досліджуваних (p>0,05). Аналіз отриманих даних свідчить про високий ризик рецидивування хронічного гломерулонефриту за наявності нелікованої активної ГВІ. Вочевидь така ситуація пов'язана з імуносупресивною терапією та субкомпенсованими імунними зсувами. Найбільш стабільний перебіг захворювання відмічався у дітей без ГВІ. В іноземній літературі [9,42] відмічено більш швидкий вихід у ремісію пацієнтів з СЧГН та ГВІ після проведення противірусної терапії, частота рецидивів захворювання не досліджувалась.

Серед клінічних ознак ГВІ в об'єктивному статусі дітей з СРГН найчастіше зустрічалась лімфаденопатія (62,5±9,9%), субфебрилітет (46,7±12,9%), гепатоспленомегалія (45,8±10,2%). В цілому для дітей даної групи була характерна яскрава клінічна картина симптомів ГВІ, що обумовлено тривалою імуносупресивною терапією та виснажливим перебігом даної клінічної форми хронічного гломерулонефриту. Лише 4 дитини з СРГН не мали активної ГВІ, що також обумовлено активацією вірусів на фоні важкого перебігу ГН та вираженної імуносупресії. Серед них 2 дитини відмічали часті ГРІ, в двох була лімфаденопатія, у 1 пацієнта виявлена гепатоспленомегалію. Субфебрилітету та лімфоцитозу в периферичній крові в даній когорті не зафіксовано.

Для дітей з СРГН та ГВІ був характерний важкий клінічний перебіг ГН з великим відсотком форування артеріальної гіпертензії (75,0±8,8%), кожна друга дитина на початку дослідження мала ПФН (54,2±10,2%), майже у всіх пацієнтів виявлена еритроцитурія (95,8±10,2%), при чому у половини з них відмічалася масивна еритроцитурія на все п/зр (58,3±10,2%). Набряковий синдром частіше характеризувався анасаркою (58,3±10,1%). У пацієнтів без ГВІ можна говорити про більш легкий перебіг хоч статистичні відмінності порівняно з групою СРГН та ГВІ виявлено лише за наявністю еритроцитурії (p<0,05, φ=0,04). Порушення функції нирок відмічено у одної дитини, АГ у двох пацієнтів, дві дитини мали еритроцитурію до 100 в п/зр. Набряковий синдром у 2-х досліджуваних характеризувався анасаркою, у одного досліджуваного навбряки були відсутні.

Існують дослідження, які вказують на більш важкий перебіг СРГН на фоні супутнього інфікування вірусом гепатиту В [18,19]. Можна припустити, що важкий перебіг захвювання обумовлений високим вірусним навантаженням на нирку та токсичним впливом продуктів розпаду атакованих вірусами клітин організму.

Після проведення противірусної терапії відмічалось вагоме зниження частои еритроцитурії (з 95,8±6,4% до 43,2±12,7%), набрякового синдрому (86,7±8,8% до 20,0±10,3%), АГ (73,3±11,4% до 26,7±11,4%) ($p<0,05$). За частотою ПФН вагомих відмінностей не відмічалося.

У групі яка не отримувала противірусну терапію достовірних відмінностей між показниками до та після патогенетичного лікування не виявлено ($p>0,05$). В літературі є дані, щодо доцільності противірусної терапії у пацієнтів з вірусасоційованим СРГН, та СРГН на фоні гепатиту В [8, 10, 18, 19]. Наше дослідження обгрунтовує необхідність призначення противірусної терапії всім дітям з СРГН та ГВІ незаледно від етіології виникнення ГН.

Серед пацієнтів з СРГН, яким виконано нефробіопсію, лише 1 дитина ввійшла до контрольної групи. У всіх інших досліджуваних з встановленим морфологічним варіантом ГН була діагностована ГВІ, при чому частота і структура ГВІ не відрізнялись і не залежали від морфологічного варіанту ГН.

З аналізу клініко-лабораторної картини хронічного гломерулонефриту на фоні активної ГВІ випливають певні положення: наявність у пацієнтів з хронічним гломерулонефритом субфебрилітету, лімфаденопатії та гепатоспленомегалії, як правило, є ознакою супутної ГВІ і обумовлює необхідність серологічного та молекулярно-генетичного (ПЛР сечі чи сечового осаду) обстеження; супутня ГВІ обтяжує перебіг хронічного гломерулонефриту з еритроцитурією за рахунок протеїнурії у 67,4% випадків з високими рівнями АУ (А2 за KDIGO) у 60,5% випадків; застосування комплексної терапії з додаванням пртивірусних лікарських засобів призводить до позитивної динаміки лікування за рахунок зниження частоти епізодів макрогематурії (з 48,5% до 15,2%), АГ (з 18,2% до 3,0%) та протеїнурії (з 66,7% до 30,3%)($p<0,05$); наявність супутньої ГВІ у пацієнтів з СЧГН призводить до частих рецидивів захворювання; комплексна терапія СЧГН з ГВІ призводить до

зниження частоти рецидивів захворювання з 61,1% до 25,0%; у пацієнтів з СРГН та ГВІ на фоні проведення противірусної терапії відмічається повільна ліквідація симптомів ГВІ; застосування у комплексній терапії СРГН з активною ГВІ противірусних лікарських засобів призводить до зниження частоти тривалого набрякового синдрому (з 40,4% до 20%), порушення функції нирок (з 44,4% до 20%) та артеріальної гіпертензії (з 66,7% до 26,6%) ($p<0,05$).

У 47 дітей, хворих на ГН, та 9 умовно здорових дітей відповідного віку виконували дослідження окремих показників системного та локального імунітету методом ІФА: кількісне визначення *sIgA* та ІЛ-8 у ранковій сечі, *MCP-1*, *SLPI* , рівню антитіл до *C1q*-компоненту комплемента та сироваткових *IgA*.

Знижений в цілому у хворих на ГН рівень секреторного IgA частіше підвищувався у пацієнтів з нефротичною формою і з виявленою ГВІ, в першу чергу, у стероїдорезистентних пацієнтів. Зростання рівня sIgA спостерігалось у пацієнтів за відсутності ремісії і часто тяжким перебігом ГН, при цьому в більшій мірі у хворих з ГВІ. Ймовірно, підвищення секреторного IgA пов'язано з тим, що він є важливим компенсаторним резервом організму, який забезпечує захист від вірусів та сприяє елімінації збудників [51].

Відмічалося незначне підвищення рівня ІЛ-8 і тільки у 13 дітей з торпідним перебіго ГФГН і ГВІ та СРГН і ГВІ (27,6 %) визначалось суттєве зростання рівня хемокіну, яке, можливо, обумовлено загостренням запального хронічного процесу в нирках. Підвищення в сечі вмісту ІЛ-8 в межах фізіологічної норми можна розглядати як компенсаторну реакцію організму на пошкодження ниркової тканини, обумовленої ендо- та екзогенними факторами (імунними комплексами, бактеріями, вірусами тощо), а суттєве його збільшення свідчить про загострення ситуації.

Рівень *IgA* у сироватці крові суттєво не змінювався при зменшенні *sIgA* в сечі (1.7/1.0;17.0 $x10^{-2}$ мкг/мл проти 15.0/3.1;40.0 $x10^{-2}$ мкг/мл у практично здорових, $p<0,05$) без зв'язку з наявністю інфікування;

Встановлено підвищення вмісту антитіл до *C1q*-компонента комплементу у дітей, хворих на гломерулонефрит, ($p<0,05$ порівняно з практично здоровими) за

рахунок інфікованих пацієнтів (інфіковані: 1,56±0,27 *U/ml*, неінфіковані: 0,63±0,12 *U/ml*, p<0,05),що потребує спостереження за рівнем анти-C1q антитіл в сироватці крові таких хворих.

У хворих на гломерулонефрит статистично значуще зростали рівні *MCP-1* і *SLPI* сечі з вагомими відмінностями у випадку інфікування (для *MCP-1*: інфіковані: 214/132;352 пкг/мл, неінфіковані: 98/77;292 пкг/мл; для *SLPI*: 1800/1070;4200 і 960/700;2100 пкг/мл, відповідно). Підвищення рівня МСР-1 в сечі у хворих буде сприяти підтриманню запалення у разі як інтерстиціального, так і гломерулярного пошкодження нирок і призводити до подальшого прогресування захворювання [49]. Підвищення рівня SLPI в сечі хворих на ГН в межах фізіологічної норми можна розглядати як позитивний момент, направлений на відновлення протеазо-антипротеазного балансу, проте значне зростання рівня інгібітору у окремих пацієнтів може спричинювати й негативні процеси, одним з яких є посилення синтезу ТФР-β макрофагами, який вважають основним профіброгенним цитокіном [67, 68].

При аналізі отриманих даних імунологічного обстеження дітей з хронічним гломерулонефритом та супутньою ГВІ було сформульовано наступні положення: у хворих на ГН спостерігалось зниження рівня основного фактора місцевого імунітету – секреторного імуноглобуліну А, але при наявності ГВІ відмічалось його збільшення, в першу чергу, у хворих з нефротичною формою ГН, що свідчить про компенсаторну реакцію організму на загострення хронічного запального процесу; для дітей з ГН характерним було достовірне підвищення рівня МСР-1 в сечі, що в більшій мірі показано у хворих з нефротичною формою ГН і з ГВІ; патологічно високий рівень ІЛ-8 в сечі дітей, хворих на ГН, був визначений в 27,6 % випадків, а SLPI – в 26,0 %. Збільшення рівня ІЛ-8 та SLPI частіше спостерігалось у хворих з гематуричною формою ГН, стероїдорезистентним варіантом, за відсутності ремісії, а у випадку з ІЛ-8 – з тяжким перебігом захворювання. Наявність герпесвірусної інфекції сприяла більшому зростанню показників; у хворих на ГН рівень IgA в сироватці крові знаходився в межах фізіологічної норми і несуттєво підвищувався за

наявності ГВІ, а рівень С1q-антитіл – був достовірно підвищеним за контрольний показник, але не перевищував верхню межу норми, що свідчить про виключення ризику розвитку запалення нирок за участю цих антитіл у даного контингенту хворих; найбільше зростання антитіл відмічено у хворих з ГВІ; у хворих на ГН були встановлені позитивні кореляційні зв'язки між МСР-1 і sIgA, SLPI і ІЛ-8, а також між ІЛ-8 і SLPI, що свідчить про односпрямованість змін при формуванні місцевого імунітету у відповідь на пошкодження тканини нирок, в тому числі обумовленого герпесвірусами. Наявність ГВІ зменшувало кореляційну силу між показниками, що вказує на виникнення дисбалансу в системі імунологічного захисту; застосування противірусної терапії в комплексному лікуванні дітей, хворих на ГН, за наявності герпесвірусної інфекції, сприяло зниженню вмісту в сечі медіаторів запалення МСР-1 та ІЛ-8 і підвищенню в межах контрольних величин факторів захисту – sIgA та SLPI, при цьому показники системного імунітету (IgA та С1q-антитіла) практично не змінювались.

Найбільш ефективним щодо діагностики активної ГВІ у дітей, хворих на ГН, виявилось дослідження ДНК вірусу в ПЛР сечового осаду. При негативному результаті цього тесту активність інфекції, викликаної вірусами групи герпесу, підтверджувалась наявностю специфічних IgG: їх збільшення до ≥4-х "норм" свідчило про реактивацію вірусу. Співставлення ваги ІФА, а саме наявність специфічних *IgG*≥4-х "норм", та "+" результату ПЛР в сечовому осаді в частоті виявлення активної ГВІ показало перевагу серологічного методу зі статистично значущими відмінностями для ЦМВ і ЕБВ (p=0,009 і p=0,006, відповідно). Додаткове дослідження специфічних *IgM* можливе, однак внесок його позитивного результату для підтвердження активної ГВІ не значний, як і визначення ДНК методом ПЛР в сечі.

Для діагностики активної ГВІ у дітей, хворих на ГН було розроблено алгоритм.Таке обстеження покроково виправдано у імуноскомпроментованих хворих, до яких відносять дітей з імунокомплесною патологією нирок (ГН). Оскільки для цієї групи пацієнтів характерно порушення традиційних механізмів

антитілоутворення, то кроком 1 в комплексі обстеження є визначення безпосередньо ДНК в ПЛР сечового осаду. Її наявність підтверджує супутнє інфікування і опосередковано свідчить про вірогідність участі вірусу в патологічному процесі *in situ*, виправдовуючи комбіновану імуноорієнтовну терапію ГН та ГВІ. Крім того, ПЛР виконують у матеріалі, який отримують не травматичним шляхом – у сечі (на відміну від травмуючого забору крові для ІФА). Наступними кроками є визначення високих титрів IgG в сироватці крові, а також наявності IgM. Комплекс комбінованого послідовного використання модифікованого методу ПЛР в сечовому осаді та ІФА має, також, економічний ефект, оскільки збільшує частку позитивних рішень щодо висновку та прийняття рішення вже на першому етапі і звужує обсяг залучення серологічних досліджень на наступних етапах.

Висновки

В дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукових задач на основі вивчення клінічного перебігу, ефективності лікування

гломерулонефриту, показників локального імунітету у дітей, хворих на хронічний гломерулонефрит з супутньою ГВІ.

1. На підставі серологічних та молекулярно-генетичних досліджень показано, що у дітей, хворих на ГН, в 75,9% випадків діагностується активна (реактивована) герпесвірусна інфекція. Основним етіологічним агентом при ГВІ являється вірус Епштейна-Барр (72,9%). Цитомегаловірусна інфекція виявляється у 55,3±4,7%, а інфекція обумовлена ВПГ ½ - у 22,4% пацієнтів. Інфікування декількома вірусами групи герпесу (так звана мікст-інфекція) спостерігається у 43,5% випадків.
2. Активна герпесвірусна інфекція обтяжує перебіг хронічного гломерулонефриту з еритроцитурією за рахунок протеїнурії (67,4% проти 27,3%) та підвищення значень альбуміну в добовій сечі (60,5% проти 27,3%); у пацієнтів з стероїдчутливим варіантом нефротичного синдрому гломерулонефриту за рахунок АГ (33,3% проти 16,8%), ПФН (61,1% проти 16,8%), розвитку ранніх рецидивів (61,1% проти 25,0%); у пацієнтів з стероїдрезистентним варіантом нефротичного синдрому хронічного гломерулонефриту за рахунок еритроцитурії (95,8% проти 50,0%);
3. Комплексна терапія з додаванням противірусних препаратів у пацієнтів з хронічним гломерулонефритом, еритроцитурією та ГВІ обумовлює достовірне зниження частоти виявлення макрогематурії (з 48,5% до 15, 2%), протеїнурії (з 66,7% до 30,3%) та сприяє нормалізації показників АТ ($p<0,05$).
4. Застосування у комплексі лікування пацієнтів із стероїдчутливим нефротичним синдромом хронічного гломерулонефриту та ГВІ противірусної терапії призводить до зниження частоти розвитку ранніх рецидивів (з 63,6% до 9,0%), а у хворих з стероїдрезистентним нефротичним синдромом хронічного гломерулонефриту та супутньою ГВІ достовірно знижує частоту набрякового синдрому (з 43,2% до 20,0%); ПФН (з 46,6% до 20,0%); АГ (з 66,7% до 26,7%).

5. У хворих на гломерулонефрит статистично значуще зростають рівні *MCP-1* (214/132;352 пкг/мл проти 98/77;292 пкг/мл); *SLPI* (1800/1070;4200 проти 960/700;2100 пкг/мл);
6. Наявність ДНК вірусів групи герпесу в осаді сечових клітин та підвищення рівня специфічних IgG в 4 і більше разів підтверджує активну герпесвірусну інфекцію у дітей з хронічним гломерулонефритом.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Діти, хворі на гломерулонефрит, особливо при тяжкому, затяжному перебігу, потребують обов'язкового превентивного обстеження для виключення активної герпесвірусної інфекції.

2. У дітей, хворих на гломерулонефрит, як і інших імуноскомпроментованих хворих, для виявлення інфікування вірусами групи герпес та уточнення інфекційного статусу доцільно використовувати запропонований комплекс обстеження, який включає послідовне використання модифікованих методів дослідження ПЛР сечового осаду та виявлення високих (в 4 і більше разів вищих за норму) титрів специфічних IgG методом ІФА.

3. Дітям, хворим на гломерулонефрит, з підтвердженою супутньою активною ГВІ, показано пролонговане призначення нуклеозидних аналогів та імуноорієнтованих препаратів в комплексній терапії хронічного гломерулонефриту.

4. Зниження рівня MCP-1 в сечі дітей, хворих на гломерулонефрит з герпесвірусною інфекцією в динаміці лікування вказує на сприятливий прогноз захворювання, і, навпаки, його підвищення – на важкість подальшого перебігу.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Багдасарова І. В., Фоміна С. П. Хронічна хвороба нирок у дітей та стан замісної ниркової терапії в Україні. *Український журнал нефрології та діалізу.* 2015. № 1 (45). С. 3-7.
2. Наказ МОЗ України від 20.07.2005 №365. Про затвердження протоколів надання медичної допомоги дітям за спеціальністю "Дитяча нефрологія" : [Електронний ресурс]. URL: http://moz.gov.ua/ua/portal /dn_ 20050720_365.html (дата звернення 11.08.2016).
3. Игнатова М. С., Коровина Н. А. Диагностика и лечение гломерулопатий у детей. М. : ГЄОТАР-Медиа. 2007. 352 с.
4. Сигел Н. Педиатрия по Рудольфу. Детская нефрология : пер. с англ. М. : Практика, 2006. 335 с.
5. Папаян А. В., Савенкова Н. Д. Клиническая нефрология детского возраста : руководство для врачей. Спб. : Єскулап, 2008. 600 с.
6. Игнатова М. С., Шатохина О. В. Диагностика и лечение нефротического синдрома у детей. М. : МИА, 2009. 304 с.
7. Длин В. В. Вирусассоциированный гломерулонефрит у детей. *Вестник службы крови России.* 2008. №1. С. 37-38.
8. Лындин А. А. Герпесвирусная инфекция и ее роль в патологии почек. *Рос. вестник перинатологии и педиатрии.* 2010. Т.55(6). С. 69-76.
9. Длин В. В. Патогенетическое значение персистирующей вирусной инфекции при гломерулонефрите у детей в обосновании противовирусной и иммуномодулирующей терапии : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук : 14.00.09 / Московский научно-исследовательский институт педиатрии и детской хирургии Мин. Здрав. РФ. Москва, 1993. 47 с.
10. Johnson R. J., Gretch D. R., Yamabe H. Membranoproliferative glomerulonephritis associated with hepatitis C virus infection. *New England Journal of Medicine.* 1993. №328. P. 465-470.

11. Игнатова М. С., Длин В. В., Никишина Т. А. Вирусная инфекция Эпштейна-Барр у больной с гормонорезистентным нефротическим синдромом : этиологический фактор или фактор прогрессирования гломерулонефрита. *Нефрология и диализ.* Т. 7(1). С. 70-72.

12. Гасилина Е. С., Борисова О. В., Санталова Г. В. Роль инфекций в формировании хронической болезни почек у детей. *Практическая медицина.* 2012. №1(56). С. 7–13.

13. Шишкин А. Н. Гломерулонефрит и инфекция. *Нефрология.* 2000. №4 (2). С. 7-13.

14. Eison T. M., Bettina H. A., Deborah P. J., Russell W. C., Robert J. W. Post-streptococcal acute glomerulonephritis in children: clinical features and pathogenesis. *Pediatr. Nephrol.* 2011. № 26 (2). P. 165-180.

15. D'Amico G. The commonest glomerulonephritis in the world. *Q. J. Med.* 2001. №64(3). P. 702-727.

16. Рокитянская И. А., Рябов С. И., Рябова Т. С., Арьев О. Л. Роль инфекционных патогенов в развитии IgA- нефропатии. *Вестник СПб ГУ.* 2010. №11(2). С. 88-98.

17. Корнышева Е. А., Платонов Д. Ю., Родионов А. А., Шабашов А. Е. Эпидемиология и статистика как инструменты доказательной медицины : Учеб. Пособие. Тверь, 2009. 80 с.

18. Сергеева К. М. Периоды детского возраста : Учебник. С-Пб. : Питер, 2007. С. 15-59. (Серия "Национальная медицинсая библиотека").

19. Чеботарева Н. В., Бобкова И. Н., Козловская Л. В. Молекулярные механизмы интерстициального фиброза при прогрессировании почек (Обзор литературы). *Нефрология и диализ.* 2006 . № 8(1). С. 26-35.

20. Goto T., Bandoh N., Yoshizoki T. Therapeutic effects and prognostic factors in tonsillectomy patients with IgA-nephropathy. *Nippon jibiinkoka Gakkai Kaiho.* 2007. №110 (2). P. 53-59.

21. Zhang L., Jin X. M. , He Y. , Chi J. M. , Ban X. , Huang Q. Detection and analysisof HBV antigen protein in kidney tissue and HBV DNA in serum and kidney tissue of patients with HBsAg+IgA-nephropathy. *Zhonghwa Shi.* №20(3). P. 247-249.

22. Panomsak S., Lewsuwan S., Eiam-Ung S., Kanjanabuch T. Hepatitis-B virus-associated nephropathies in adults : a clinical study in Thailand. *J. Med. Assoc. Thai.* 2006. №89(2). P. 151-156.

23. Novak L., Novac J., Brendan M. Prymary IgA Nephropathy (IgAN) and IgAN in patients with gepatitis C virus (HCV)-induced cirrhosis: cellular proliferation of cultured mesangial cells after stimulation with circulating immune complexes (CIC) and morphometric analysis of renal biopsies. Tomino Y. (ed) : IgA Nephropathy Today. Contrib Nephrol. Basel, Karger. 2007. Vol. 157. P. 229.

24. Маричев І. Л. Алгоритм діагностики вірусних інфекцій TORCH-комплексу. *Лаб. діагностика.* 2006. № 4. С. 9-14.

25. Kawasaki Y., Mitsuaki H., Isome M., Nozawa R., Suzuki H. Renal effects of Coxsackie virus in hyper IgA mice. *J. Am. Sec. Nephrol.* 2006. №17(10). P. 2760-2769.

26. Корякова Н. Н. Патогенетические особенности различных клинико-морфологических вариантов хронического гломерулонефрита. *Нефрология.* 2005. №9(1). С. 58-62.

27. Катышева О. В., Новикова А. В., Длин В. В. Вирусные антигены в биоптатах почечной ткани у детей с гломерулонефритом. *Вопросы вирусологии.* 1995. № 40, (1). С. 35-39.

28. Рабсон А., Ройт А., Делвз П. Основы медицинской иммунологии. М. : Мир, 2006. 316 с.

29. Чугунова О. Л., Панова Л. Д. Факторы риска и диагностика заболеваний органов мочевой системы у новорожденных детей (обзор литературы). *Рос. вестник перинатологии ипедиатрии.* 2010. №.1. С. 12-20.

30. Викулов Г. Х. Герпесвирусные инфекции человека в новом тысячелетии: классификация, эпидемиология и медико-социальное значение. *Эпидемиология и инф. болезни.* 2014. №3. С. 35-40.

31. Малый В. П., Полукчи А. К., Швайченко А. А. Герпесвирусные инфекции (клиника, диагностика и терапия) : Учеб. Пособие. Х. : Прапор, 2008. 208 с.

32. Исаков В. А., Архипова Е. И., Исаков Д. В. Герпесвирусные инфекции человека : Руководство для врачей. СПб. : Спец. Лит, 2013. 302 с.

33. Бархатова Т. В., Сенягина Н. Е., Краснов В. В. Роль герпесвирусных инфекций при заболеваниях почек у детей. *Инфекционные болезни.* 2011. №9(3). С. 45-48.

34. Фролов А. Ф., Задорожная В. И. Персистенция возбудителей инфекционных болезней (вирусы и риккетсии). *Епідеміологія, гігієна, інфекційні хвороби.* 2013. № 1. С. 7-12.

35. Казмірчук В. Є., Мальцев Д. В., Шевченко І. І. Герпесвірусні інфекції у імунокомпетентних осіб. *Клін. імунологія, алергологія, інфектологія.* 2010. № 38-39(9-10). С. 7-16.

36. Боковой А. Г. Герпетические инфекции как ведущий фактор формирования вторичных иммунодефицитов в детском возрасте. *Эпидемиология и инф. болезни.* 2007. № 6. С. 34-38.

37. Пирогова З. И., Рябчук Ф. Н. Клинико-лабораторная характеристика персистирующих форм герпесвирусной инфекции у детей. *Лечащий врач.* 2011. № 8. С. 62-65.

38. Герпесвирусная инфекция : под. ред. В.П. Малого. Москва : Эксмо, 2009. 303 с.

39. Горейко Т. В., Калинина Н. М., Дрыгина Л. Б. Современные представления об иммунопатогенезе инфекции, вызванной вирусом Эпштейна – Барр. *Инфекции и иммунитет.* 2011. №2(2). С. 121-130.

40. Любыщенко Т. М., Долгих Т. И. Клинико-иммунологическая характеристика больных с герпесвирусной инфекцией различной тяжести. *Инфекции и иммунитет.* 2014. №4(4). С. 359-364.

41. Господарський І. Я., Господарська Х. О. Цитомегаловірусна інфекція. *Клін. імунологія, алергологія, інфектологія.* 2006. №4 (3). С. 44-48.

42. Львов Д. К. Руководство по вирусологии. Вирусы и вирусные инфекции человека и животных. М. : МИА, 2013. 1200 с.

43. Cohen J. I. Epstein-Barr virus infection. *N. Engl. J. Med.* 2000. №343(7). P. 481-492.

44. Koelle D. M., Corey L. Herpes simplex : Insights on pathogenesis and possible vaccines. *Annual Review of Medicine*. 2008. №59. P. 381-395.

45. Izzerine H., Lannay-Vacber V., Deray G. Antiviral drag-induced nephrotoxicity. *Am. J. Kidney Dis*. 2005. №45. P. 804-815.

46. Kano K., Yamada Y., Sato Y., Arisaka O., Ono Y., Ueda Y. Glomerulonephritis in a patient with chronic active Epstein-Barr virus infection. *Pediatr. Nephrology*. 2005. №20(1). P. 89-92.

47. Stevens J., Avner E., Harmon W., Yoshikawa N. Infections deseases and the kidney in children. Berlin: Springer-Verlag, 2016. P.1630-1632.

48. Araya C. E., Gonzales-Peralta R. P., Skoda-Smith S., Dharnidharka V. R. Systemic Epstein-Barr virus infection associated with membranous nephropathy in children. *Clin. Nephrology*. 2006. №65(3). P. 160-164.

49. Wenderfer S. E. Viral assotiated glomerulopathies. *Pediatr. Nephrology*. 2015. №30 (11). P. 1929-1938.

50. Баринский И. Ф., Шабалина Н. В., Никитина А. А. Персистирующие герпесвирусные инфекции у больных хроническим гломерулонефритом. *Клиническая практика*. 2012. № 3. С. 21-24.

51. Нечепоренко Н. В., Савенкова Н. Д., Калинина Н. М., Федотова Е. П. Морфологические и иммунологические особенности гломерулонефрита, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией 1,2,4,5 типов у детей. *М-лы VI Рос. Форума «Здоровье детей : профилактика и терапия социально-значимых заболеваний»* (14-15 мая 2012г., г. СПб.). СПб. : ИТЦ «Символ», 2012. С. 121-122.

52. Subat-Dezulovic M., Dessardo N. S., Dezulovic M. Postinfectious glomerulonephritis and Epstein-Barr virus co-infection. *Coll. Antropol*. 2010. №34(2). P. 229-232.

53. Длин В. В. Вирусассоциированный гломерулонефрит у детей. *Леч. врач.* 2004. №1. С. 38-40.

54. Лындин А. А., Длин В. В., Малиновская В. В. Эффективность виферонотерапии у детей с первичным гормоночувствительным нефротическим синдромом, ассоциированным с герпесвирусной инфекцией. *Рос. вестник перинатологии и педиатрии.* 2011. № 64(4). С. 64-70.

55. Dossier C., Sellier-Leclera A. L., Rousean A. Prevulence of herpesviruses at onset of idiopathic nephritic syndrome. *Pediatr. Nephroll.* 2014. №29(12). P. 2325-2331.

56. Калинина Н. М., Шуленин С. А. Заболевания иммунной системы. Диагностика и фармакотерапия. М. : Эксмо, 2008. 494 с.

57. Аллергология и иммунология : национальное руководство / под. ред. Р. М. Хаитова, Н. И. Ильиной. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 640 с.

58. Земсков А. М., Караулов А. В. Клиническая иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2002. 426 с.

59. Нечепоренко Н. В., Савенкова Н. Д., Калинина Н. М. Клинико-морфологические, иммунологические изменения и особенности терапии при вирусассоциированном гломерулонефрите у детей. *Нефрология.* 2015. №19(3). С. 51-58.

60. Нечепоренко Н. В., Савенкова Н. Д., Калинина Н. М. Клинико-иммунологическая характеристика и терапия нефротического синдрома, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией 1/2, 4, 5 типа у детей с атопией. *Нефрология.* 2016. №20(3). С. 69-77.

61. Дьяченко П. А., Дьяченко А. Г. Иммунный ответ на HSV-инфекцию и причины персистенции вируса. *Клін. імунологія, алергологія, інфектологія.* 2011. №5. С. 26-28.

62. Лындин А. А., Длин В. В., Ружицкая Е. А., Малиновская В. В., Паршина О. В., Гусева Т. С., Лутошкин И. С. Терапия герпесвирусных инфекций при заболеваниях почек. *Рос. вестник перинатологии и педиатрии.* 2011. №1. С. 33-40.

63. Матейко Г. Б. Герпесвірусні інфекції: раціональні підходи до лікування і діагностики. *Клін. імунологія, алергологія, інфектологія.* 2013. №8. С. 23-29.

64. Нечепоренко Н. В., Савенкова Н. Д., Калинина Н. М. Роль герпесвирусной инфекции при гломерулонефрите и нефротическом синдроме у детей. *Рос. вестник перинатологии и педиатрии.* 2017. №12(1). С. 19-25.

65. Berns J. S., Bloom R. D. Viral nephropathies: core curriculum. *Am. J. of Kidney Dis.* 2008. №52(2). P. 370-381.

66. Faulhaber J. R., Nelson P. J. Virus-indused cellular immune mechanisms of injury to the kidney. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2007. №12(1). P. 2-5.

67. Lai H. S., Lai K. N. Viral nephropathy. *Nature Clin. Pract. Nephrol.* 2006. №2(5). P. 254-262.

68. Shimada M., Garin E. H., Chris C. A., Ishimoto R. T., Johnson R. J. Minimal change disiase: a " two-hit" podocyte immune disorder? *Pediatr. Nephrol.* 2011. №26(4). P. 645-649.

69. Isome M., Suzuki J., Takahashi A., Murai H., Nozawa R., Suzuki S., Kawasaki Y., Suzuki H. Epstein-Barr virus associated hemophagocytic syndrome in a patient with lupus nephritis. *Pediatr. Nephrol.* 2005. №20(2). P. 226-228.

70. Thaunat O., Deluhousse M., Fakhouri F. Nephrotic syndrome with of hemophagocytic syndrome. *Kidney Intern.* 2006. №69(10). P. 1792-1898.

71. Лындин А. А. Клинико-иммунологическая характеристика нефротической формы гломерулонефрита, ассоциированного с герпесвирусной инфекцией у детей и повышение эффективности его лечения : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.00.09 / Московский научно-исследовательский институт педиатрии и детской хирургии. Москва, 2012. 24 с.

72. White D., Beard S. R., Burton E. S. Immune modulation during latent herpesvirus infection. *Immunol. Rev.* 2012. №245(1). P. 189-208.

73. Нечепоренко Н. В., Калинина Н. М., Савенкова Н. Д. Гломерулонефриты ассоциированные с вирусной инфекцией у детей и подростков. *Нефрология.* 2012. № 2. С. 35-45.

74. Лутошкин И. С. Клинико-патогенетическое значение и тактика лечения персистирующей герпесвирусной инфекции у детей с гормонорезистентным и

гормоночувствительным вариантами нефротического синдрома : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук : 14.00.09 / Российский гос. мед. ун-т фед. агенства по здравоохранению и социальному развитию. Москва, 2005. 23 с.

75. Детская нефрология : учеб. / под. ред. М.С. Игнатовой. М. : Мед. информ. агенство, 2011. 692 с.

76. Michelson S. Consequences of human cytomegalovirus mimicry. *Human Immunol.* 2004. №65(5). P. 465-475.

77. Татарова И. В. Состояние органов мочевыделительной системы при врожденной цитомегаловирусной инфекции у детей первого года жизни : дисс. канд. мед. наук : 14.00.09 / Ставропольская гос. мед. академия. Ставрополь, 2004. 123 с.

78. Nadasdy T., Silva F. Acute postinfection glomerulonephritis : Heptinstal. Pathology of the Kidney: sixth edition. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins. 2007. 807 P.

79. Лындин А. А., Длин В. В., Малиновская В. В., Ружицкая Е. А., Шаповалова Т. Г., Гусева Т. С., Паршина О. В., Бояджан М. Б., Юдин М. Ю. Клиническое значение определения интерлейкина-8 и интерлейкина-18 в сыворотке крови и моче у больных с нефротическим синдромом. *Клиническая нефрология.* 2011. № 4. С. 31-35.

80. Berbas N., Bayrakci U. S., Kale G., Cengiz A. B., Akcoren Z., Akinci D., Kilic I., Bakkaloglu A. Cytomegalovirus-related congenital nephrotic syndrome with diffuse mesangial sclerosis. *Pediatr. Nephrol.* №21. P. 740-742.

81. Rahman H., Begum A., Jahan S., Muinuddin G., Hossain M. Congenital nephrotic syndrome, an un-common presentation of cytomegalovirus infection. *Mymensingh Med. J.* 2008. №17(2). P. 210-213.

82. Заплатников А. Л., Коровина Н. А., Корнева М. Ю., Чебуркин А. В. Внутриутробные инфекции. *Леч. врач.* 2005. №8. С. 54-62.

83. Gracia Revello M., Gerna G. Diagnosis and management of human Cytomegalovirus infection in the mother, fetus, and newborn infant. *Clin. Microbiology Rev.* 2002. №15(4). P. 680-715.

84. Camici M. The nephrotic syndrome is an immunoinflammatory disorder. *Medical Hypotheses.* 2007. №68. P. 900–905.

85. Georgaki-Angelaki H., Lycopoulou L., Stergiou N., Lazopoulou D., Paraskevakou H., Giannaki-Psinaki M., Mentis A. Membranous nephritis associated with acquired cytomegalovirus infection in a 19-month-old baby. *Pediatr. Nephrol.* 2009. № 24, (1). P. 203-206.

86. Крамарьов С. О., Виговська О. В., Тарадій Н. М. Епштейна-Барр вірусна інфекція у дітей: характеристика збудника, патогенез, імуногенез, стан імунітету. *Клін. імунологія, алергологія, інфектологія.* 2013. № 6/7. С. 5-11.

87. Tsai J., Lee H., Lin C., Liang D., Chen S., Huang F. Epstein-Barr virus-associated acute renal failure: diagnosis, treatment, and follow-up. *Pediatr. Nephrol.* 2003. №18. P. 267-274.

88. Meyer P., Soete S., Henry V. Acute inflammatory polyradiculoneuropathy and membranous glomerulonephritis following Epstein-Barr virus primary infection in a 12-year-old girl. *Arch. Pediatr.* 2010. №17(11). P. 1535-1539.

89. Камбачокова З. А. Рецидивирующие инфекции, вызванные вирусами простого герпеса: расстройства иммунитета, окислительных процессов и антиоксидантной защиты, их коррекция : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора мед. наук : 14.01.09 / Кабардино-Балкарский гос. ун-т им. Х. М. Бербекова. Нальчик, 2012. 40 с.

90. Watanabe T. Hemolitic uremic syndrome assotiated with Epstein-Barr virus infection. *Pediatr. Nephrol.* 2004. №19(5). P. 569-575.

91. Дранник Г. Н., Курченко А. И., Дранник А. Г. Иммунная система слизистых, физиологическая микрофлора и пробиотики. К. : Полиграфплюс. 2009. 141 с.

92. James-Ellison M. Y., Roberts R., Verrier-Jones K. Mucosal immunity in the urinary tract: changes in sIgA, FSC and total IgA with age and in urinary tract infection. *Clin. Nephrol.* 1997. №48. P. 69-78.

93. Segerer S., Nelson P. J., Schlondorff P., Segerer S. Chemokines, chemokine receptors and renal disease: From Basis Science to pathophysiologic and therapeutic studies. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2000. № 1. P. 152-176.

94. Корякова Н. Н., Рождественская Е. Д., Казанцева С. В., Бушуева Т. В., Валамина И.Е. Особенности цитокиново гопрофиля у больных хроническим гломерулонефритом с прогрессирующей хронической почечной недостаточностью. *Тер. архив*. 2006. №7/8(5). С. 14-17.

95. Хмелевская И. Г., Жизневская И. И., Разинькова Н. С. Прогностическое значение иммунологических показателей при гломерулонефритах у детей. *Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация*. 2014. №28(195). С. 56-59.

96. Taha A. S., Grant V., Kelly R. W. Urinalysis for interleukin-8 in the non-invasive diagnosis of acute and chronic inflammatory diseases. *Postgrad. Med. J.* 2003. №79. P. 159-163.

97. Меркоданова Ю. А., Ути И. А. Цитокиновый профиль мочи при различных этиопатогенетических вариантах хронического пиелонефрита у детей. *Саратовский науч.-мед. ж*. 2011. №7 (4). С. 901-904.

98. Sekikawa T., Kashihara N., Maruyama K. Expression of interleukin-8 in human glomerulonephritis. *Res. Commun. Mol. Pathol. Pharmacol.* 1998. №99(2). P. 217–224.

99. Cockwell P., Brooks C. J., Adu D., Savage C. O. Interleukin-8: A pathogenetic role in antineutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis. *Kidney Int.* 1999. №55 (3). P. 852–863.

100. Yokoyama H., Wada T., Furuichi K. Urinary levels of chemokines (MCAF/MCP-1, IL-8) reflect distinct disease activities and phases of human IgA nephropathy. *J. Leukoc. Biol.* 1998. №63 (4). P. 493–499.

101. Tsai C. Y., Wu T. H., Yu C. L., Lu J. Y., Tsai Y. Y. Increased excretions of beta2-microglobulin, IL-6, and IL-8 and decreased excretion of Tamm-Horsfall glycoprotein in urine of patients with active lupus nephritis. *Nephron.* 2000. №85 (3). P. 207-214.

102. Ратнер М. Я., Федорова Н. Д. Гистоморфологические тубулоинтерстициальные изменения при прогрессировании хронического гломерулонефрита. *Урология.* 2000. № 1. С. 28-30.

103. Смирнов И. Е., Цыгин А. Н., Сергеева Т. В. Моноцитарный хемоаттрактивный протеин-1 (MCP-1) в патогенезе изменений тубулоинтерстиальной ткани у детей с хроническим гломерулонефритом. *Нефрология и диализ.* 2005. № 4. С. 443-447.

104. Чеботарева Н. В., Бобкова И. Н., Козловская Л. В. Определение экскреции с мочой моноцитарного хемотаксического протеина-1 и трансформирующего фактора роста-β1 у больных хроническим гломерулонефритом как метод оценки процессов фиброгенеза в почке. *Клин. нефрология.* 2010. № 3. С. 51-55.

105. Doumas S., Kolokotronis A., Stefanopoulos P. Anti-inflammatory and antimicrobial roles of secretory leukocyte protease inhibitor. *Infection and Immunity.* 2005. № 3. P. 1271-1274.

106. Sano C., Shimizu T., Sato K., Kawauchi H., Tomioka H. Effect of secretory leukocyte protease inhibitor on the production of the anti-inflammatory cytokines, IL-10 and transforming growth factor-beta (TGF-β). *Clini. Exp. Immunol.* 2000. №121(1). P. 77-85.

107. Абатуров А. Е. Роль местных ингибиторов протеаз в неспецифической защите респираторного тракта. *Новости медицины и фармации.* 2011. №4. URL: http://www.mif-ua.com/archive/issue-17741/article-23063 (Last accessed 01.12.2011).

108. Ohlsson S., Ljungkrantz I., Ohlsson K., Segelmark M., Wieslander J. Novel distribution of the secretory leukocyte proteinase inhibitor in kidney. *Mediators of inflammation.* 2001. №10 (6). P. 347-350.

109. Лавренчук О. В., Порошина Т. В., Багдасарова І. В., Гайсенюк Ф. З., Драннік Г. М. Особливості продукції секреторного лейкопротеазного інгібітора (SLPI) у дітей, хворих на гострий або хронічний пієлонефрит. *Укр. ж. нефрології та діалізу.* 2014. № 3. С. 51-56.

110. Subramaniyam D., Hollander C., Westin U., Erjefält J., Stevens T., Janciauskiene S. Secretory leukocyte protease inhibitor inhibits neutrophil apoptosis. *Respirology*. 2011. №16 (2). P. 300-307.

111. Pushpanshu K., Sathawane R.S., Kaushik R. Estimation and comparison of salivary secretory leukocyte protease inhibitor in human immunodeficiency virus patients and healthy individuals. *Indian. J. Palliat. Care*. 2014. №20 (1). P. 26-30.

112. Tse K., Wu C., Hsueh C., Chang K., Hao S., Chang Y., Tsang N. The relationship between secretory leukocyte protease inhibitor expression and Epstein-Barr virus status among patients with nasopharyngeal carcinoma. *Anticancer Res*. 2012. 32 (4). P. 1299-1307.

113. Kozyro I., Perahud I., Sadallah S., Sukalo A., Titov L., Schifferli J., Trendelenburg M. Clinical value of autoantibodies against C1qin children with glomerulonephritis. *Pediatrics*. 2006. №117. P. 1663-1668.

114. Potlukova E., Kralikova P. Complement component C1q and anti-C1q antibodies in theory and in clinical practice. *Scand. J. Immunol*. 2008. №20. P. 423-430.

115. Hu S. , Jia X., Yang X., Yu F., Cui Z., Zhao M. Glomerular C1q deposition and serum anti-C1q antibodies in anti-glomerular basement membrane disease. *BMC Immunology*. URL: https://bmcimmunol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2172-14-42 (Last accessed : 21.09.2013).

116. Chiu C. M. Biomarkers for lupus nephritis : a critical appraisal. *J. Biomed. Biotechool*. 2010. №210(1). P. 1-11.

117. Trendelenburg M., Lopez-Trascasa M., Potlukova E., Moll S., Regenass S., Frémeaux-Bacchi V., Martinez-Ara J., Jancova E., Picazo M., Honsova E., Tesar V., Sadallah S., Schifferli J. High prevalence of anti-C1q antibodes in biopsyprotein active Lupus nephritis. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2006. №21(11). P. 3115-3121.

118. Grotz W., Boba H. A., Becker J. H., Baumgaztel M. V. Hypocomplementemic urticarial vasculitis syndrome: an interdisciplinary challenge. *Dtsch. Arztebl. Int. 2009*. №106(46). P. 756-763.