

На правах рукописи



Исаева Медан Хасановна

**Клинико-лабораторные, ультразвуковые и молекулярно-генетические предикторы
эффективности лечения и выживаемости детей с нативной печенью
при билиарной атрезии**

3.1.21. Педиатрия

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Москва – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии имени академика В. И. Кулакова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор
доктор биологических наук, профессор

Дегтярева Анна Владимировна
Ребриков Денис Владимирович

Официальные оппоненты:

Строкова Татьяна Викторовна – доктор медицинских наук, профессор РАН, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, отделение педиатрической гастроэнтерологии, гепатологии и диетотерапии, заведующий отделением

Сурков Андрей Николаевич – доктор медицинских наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Российский научный центр хирургии имени академика Б.В. Петровского», Научно-исследовательский институт педиатрии и охраны здоровья детей, Научно-клинический центр №2, отделение гастроэнтерологии для детей, заведующий отделением

Ведущая организация: Федеральное государственное автономное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «19» июня 2023 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.17 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119435, г. Москва, ул. Большая Пироговская, д.19

С диссертацией можно ознакомиться в ЦНМБ ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д.37/1) и на сайте организации <https://www.sechenov.ru>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2023 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук, доцент

Чебышева Светлана Николаевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

В структуре заболеваний гепатобилиарной системы у детей первых месяцев жизни билиарная атрезия (БА) составляет 45% и занимает ведущее место (Дегтярева А. В., 2008). Портоэнтеростомия (ПЭ, операция Касаи) – золотой стандарт лечения БА, однако ее эффективность варьирует от 36% до 87,2% (Fanna M. 2019, Nio M. 2016, Tyraskis A. 2016). В случае неэффективности хирургической коррекции требуется проведение трансплантации печени (ТП) в течение 6–12 месяцев, либо наступает летальный исход вследствие печеночной недостаточности (Ge L.2020, Liu L.2022, Wang Z. 2019). Однако факторы, влияющие на эффективность операции, остаются недостаточно изученными.

Поздняя диагностика БА во всем мире является значимой проблемой, которая ухудшает прогноз и может привести к различным осложнениям, в том числе геморрагическому синдрому (Uto K. 2019). Своевременная диагностика и введение витамина К помогают предотвратить осложнения (Araki S. 2020). Изучение симптомов заболевания в ранний неонатальный период является актуальной задачей для своевременной диагностики.

Современные молекулярно-генетических методы исследования секвенирования нового поколения, внесли значительный вклад в понимание генетических аспектов развития билиарной атрезии. Однако наследственные особенности каждого больного могут значительно влиять на тяжесть заболевания, и мало исследований посвящено изучению генетических факторов, влияющих на исход хирургического лечения БА.

Прогрессирование фиброза печени после успешной операции Касаи является серьезной проблемой, определяющей выживаемость детей с нативной печенью. Разработка неинвазивных маркеров выраженности фиброза является важной задачей, так как биопсия печени не может быть использована регулярно в педиатрической практике (Chung P. H. 2020).

Все вышеизложенное определяет актуальность темы исследования, которая включает в себя выявление предикторов эффективности операции Касаи на основании комплексного анализа клинических, ультразвуковых и молекулярно-генетических параметров.

Степень разработанности темы исследования

БА — это прогрессирующая холангиопатия и при отсутствии своевременного лечения летальный исход наступает в течение первых 2 лет жизни. ПЭ — паллиативный метод лечения, позволяющий продлить жизнь с нативной печенью и предполагает удаление облитерированных желчных протоков для обеспечения оттока желчи. Исход операции не всегда благоприятный и эффективность варьирует, примерно в 32–59% случаев удается продлить жизнь с нативной печенью до 5 и 10 лет в 27–52% случаев (W. de Vries 2012, Pakarinen M. P. 2018).

На сегодняшний день проведено ряд исследований для определения факторов, влияющих на исход ПЭ: возраст пациента, опыт хирургического центра, сопутствующие аномалии, анатомический тип БА и применение стероидной терапии (Feldman A. G. 2019, M. Hukkinen M. 2018, Tyraskis A. 2016). Определены генетические варианты у пациентов с БА, связанные с исходом ПЭ, но их влияние на этиологию и исход лечения неоднозначно. В связи с немоногенным характером БА и противоречивыми данными исследований, единая концепция понимания предикторов исхода ПЭ отсутствует. Выявление предикторов эффективности ПЭ позволит оптимизировать подход к лечению и подготовке к проведению ТП.

Вышесказанное определяет цель настоящего исследования и подчеркивает перспективность изучаемой темы по выявлению предикторов эффективности ПЭ у детей с БА.

Цель исследования

Оптимизировать тактику ведения детей с билиарной атрезией на основании клиничко-лабораторных, ультразвуковых и молекулярно-генетических предикторов эффективности лечения и выживаемости.

Задачи исследования

1. Определить сроки проявления клиничко-лабораторных и ультразвуковых признаков билиарной атрезии и разработать алгоритм обследования новорожденных в раннем неонатальном периоде.
2. Оценить выживаемость детей с нативной печенью при билиарной атрезии после операции Касаи, изучить частоту развития осложнений в группе детей с успешной портоэнтеростомией.
3. Выявить неинвазивные маркеры фиброза и цирроза печени у детей с билиарной атрезией.
4. Проанализировать данные высокопроизводительного секвенирования экзома у детей с билиарной атрезией и определить влияние генетических факторов на исход операции Касаи.
5. Разработать прогностическую модель эффективности лечения билиарной атрезии методом Касаи.

Научная новизна

Впервые методом полноэкзомного секвенирования выявлены и описаны новые генетические варианты, характерные для детей с БА, также проведен полноэкзомный анализ ассоциаций, в котором сравнивались пациенты с БА (разделенные на группы «эффективная операция» и «неэффективная операция») и контрольные образцы. Установлено, что холестерин является одним из наиболее чувствительных маркеров эффективности операции Касаи в послеоперационном периоде. С использованием современных статистических методов анализа разработана прогностическая модель эффективности операции Касаи, которая позволяет в

ранний послеоперационный период определить эффективность ПЭ. В современных условиях научно обоснованы и определены неинвазивные лабораторные и ультразвуковые маркеры фиброза и цирроза печени у детей с БА. Впервые разработан алгоритм обследования новорожденного для ранней диагностики БА на основании изучения основных клинических симптомов заболевания и сроков их манифестации в ранний неонатальный период на представительной группе пациентов при редком заболевании.

Теоретическая и практическая значимость исследования

В исследовании методом построения прогностической модели показано, что наиболее чувствительными предикторами эффективности операции Касаи являются: степень выраженности фиброза печени, оцененная при проведении гистологического исследования биоптата печени, уровень прямого билирубина в сочетании с холестерином, оцененные на 14 ± 3 сутки после операции, наличие рудиментированного желчного пузыря до операции. Изучена частота эффективности операции Касаи в России с использованием общепризнанных критериев оценки эффективности ПЭ. Проведена оценка выживаемости с нативной печенью у детей с БА после проведения операции Касаи, более того, определена частота и структура послеоперационных осложнений. Выявлены неинвазивные лабораторные и ультразвуковые маркеры выраженности фиброза и цирроза печени у детей раннего возраста с БА. Методом полноэкзомного секвенирования обнаружены и описаны генетические варианты, характерные для больных БА, также определены варианты, характерные для детей с эффективной и неэффективной ПЭ. Изучены ранние клинические симптомы БА и сроки их манифестации в неонатальный период, и, на основании полученных данных, разработан алгоритм обследования новорожденных для ранней диагностики заболевания.

Методология и методы исследования

Методологической основой для проведения настоящего исследования стали работы зарубежных и отечественных авторов по данной теме исследования. В исследование было включено 170 детей с установленным диагнозом БА после проведения операции Касаи.

Основные положения, выносимые на защиту

1. В раннем неонатальном периоде наиболее чувствительными маркерами БА являются: повышение прямой фракции билирубина $> 17,1$ мкмоль/л, отсутствие визуализации или уменьшение просвета желчного пузыря по данным УЗИ, проведенного после 4-часовой голодной паузы. В то время как ахоличный стул, выявляемый после отхождения мекония, гепатоспленомегалия, а также ультразвуковые критерии в виде изменения эхоструктуры и симптом треугольного рубца в ранний неонатальный период выявляются редко.

2. У детей с БА после проведения операции Касаи наиболее частым осложнением в течение первого года после операции является бактериальный холангит, который встречается в

78,9% случаев, а к 3–5 годам после оперативного вмешательства частота его снижается до 23,3%. Обратная тенденция отмечается по частоте развития портальной гипертензии: на первом году составляет 34,7%, через 3–5 лет после операции увеличивается до 56,3%, с последующим нарастанием до 80% в сроке более 10 лет.

3. Неинвазивными маркерами, отражающими степень выраженности фиброза/цирроза печени (F3-4) у детей с БА, являются: возраст, индекс APRI, а также такие ультразвуковые параметры как: длина селезенки, диаметр печеночной артерии, индекс резистентности печеночной артерии, индекс $D_{\text{опа}}/D_{\text{вв}}$. Вероятность выраженности фиброза/цирроза печени увеличивается при значениях индекса APRI > 1,52.

4. Вероятной генетической предпосылкой для развития БА является совокупность аллельных состояний генов, включенных в сигналинг иммунной системы: варианта rs368030585 гена *LOC105379749*, а также варианта rs201589859 гена *POTE1* ассоциированы с риском развития БА. Наличие варианта rs200315308 в гене *ANKRD30A* у детей с билиарной атрезией ассоциировано с высокой эффективностью операции Касаи; напротив, вариант rs5862681 в гене *GYPB*, вариант rs62513923 в гене *PABPC1* и вариант rs2599972 в гене *CCDC74B* ассоциированы с неэффективностью данного хирургического вмешательства.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность результатов данного исследования подтверждается количеством пациентов, включенных в исследование (170), использование молекулярно-генетических методов исследования, а также современными методами статистической обработки данных.

Основные результаты исследования, были доложены и представлены на XIII, XIV и XV Всероссийских образовательных конгрессах «Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии» (Москва, 2020, 2021, 2022), на второй научно-практической онлайн-конференции «Новые технологии в диагностике и лечении наследственных болезней» (Москва, 2020), на XVII Российском онлайн конгрессе «Педиатрия и детская хирургия в Приволжском федеральном округе» (2020), на Научно-практической конференции третьего Всероссийского педиатрического форума студентов и молодых ученых с международным участием (Москва, 2022), на VII Всероссийской мультимедийной научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной перинатологии: сложный случай» (2021), а также на международных конгрессах: IV Joint European Neonatal Societies Congress (2021), II International Congress on Biliary Atresia and related Diseases (BARD-Bruges-2022). Полученные результаты исследования были представлены на заседании Института неонатологии и педиатрии ФГБУ «НМИЦ АГП им. Академика В. И. Кулакова» Минздрава РФ для их оценки и официального утверждения.

Личный вклад автора

Исследование было организовано и проведено автором, который лично принимал участие в лечебно-диагностических мероприятиях, собирал первичные клинико-лабораторные данные, анализировал и интерпретировал полученные результаты. В рамках исследования были проведены ретроспективный анализ медицинской документации и проспективное исследование в соответствии с запланированным планом обследования и наблюдения за детьми. Автор лично присутствовал при проведении оперативных вмешательств и принимал участие в обследовании и лечении детей, проспективно включенных в исследование. В целом, автор выполнил полный комплекс работ, связанных с организацией и проведением исследования, включая определение целей и задач, разработку дизайна, сбор данных, анализ и интерпретацию результатов.

Внедрение результатов исследования в практику

Полученные результаты научно-исследовательской работы были внедрены в клиническую практику отдела педиатрии Института неонатологии и педиатрии ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России, а также в работу торакального хирургического отделения ГБУЗ ДГКБ им. Н. Ф. Филатова.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности

Диссертационное исследование соответствует паспорту научной специальности 3.1.21. Педиатрия; группа научных специальностей – клиническая медицина. Результаты исследования соответствуют областям исследования специальности, а именно пунктам 3 и 5.

Публикации результатов исследования

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 3 научные статьи, отражающие основные результаты диссертации: 1 статья опубликована в журнале, включенном в международные базы Scopus и Web of Science, 2 статьи – в журналах, включенных в международную базу Scopus; 1 статья обзорная опубликована в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России; 1 публикация в сборниках материалов всероссийской научной конференции.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 140 страницах, состоит из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 218 источников из них 11 отечественных и 207 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 23 рисунками и 24 таблицами.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Работа выполнена в ФГБУ «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова» Минздрава России в отделе педиатрии Института неонатологии и педиатрии, все дети были прооперированы в 4-м хирургическом отделении ГБУЗ ДГКБ им. Н. Ф. Филатова, генетические методы исследования осуществлялись: в институте трансляционной медицины «НМИЦ АГП им. В. И. Кулакова», в центре высокоточного редактирования и генетических технологий для биомедицины ФГАОУ ВО РНИМУ имени Н. И. Пирогова Минздрава РФ, лаборатории наследственных болезней обмена веществ ФГБНУ «МГНЦ им. Н. П. Бочкова»

Критерии включения в исследование: дети с подтвержденным диагнозом БА на основании изменений при гистологическом исследовании биоптата печени и наружных желчных протоков, при серийных срезах которых обнаруживали облитерацию общего желчного протока; период наблюдения не менее 6 месяцев после проведенной операции; информированное согласие родителей на включение в исследование.

Критерии исключения: дети с тяжелыми сочетанными пороками развития других органов, хромосомными патологиями, наследственными заболеваниями обмена веществ; недостаточное количество данных для анализа; период наблюдения < 6 месяцев после проведенной операции.

Для решения 1-й задачи был проведен анализ историй болезней 170 детей с диагнозом БА, которым была выполнена операция Касаи (N = 163) или трансплантация печени (N = 7). У всех детей был определен возраст на момент операции Касаи и оценена частота развития геморрагического синдрома. Проанализированы клинические проявления заболевания и сроки их манифестации, а также данные лабораторных исследований и результаты УЗИ проведенного в течение первых 7 дней жизни.

Для решения задачи 2 проведено ретроспективное и проспективное исследование на 132 детях после операции Касаи. Оценивалась выживаемость детей с нативной печенью и частота развития осложнений в различные возрастные периоды после операции у пациентов с успешным исходом.

Для решения 3-й задачи проведен сравнительный и корреляционный анализ данных 166 детей, которым была проведена операция Касаи, с целью определения связи между клинико-лабораторными и ультразвуковыми параметрами в предоперационном периоде и степенью выраженности фиброза при морфологическом исследовании биоптата печени. Всем детям проводилась интраоперационная биопсия печени с оценкой степени фиброза по шкале Десмет. Все исследуемые дети были разделены на две группы в зависимости от степени фиброза:

- 1) 1-я группа (N = 108) – отсутствие/умеренный фиброз (0–2 балла);
- 2) 2-я группа (N = 58) – выраженный фиброз/цирроз печени (3–4 балла).

Для решения 4-й задачи было проведено полноэкзомное секвенирование для 66 пациентов с билиарной атрезией, а также использована выборка из 637 здоровых образцов в качестве контрольной группы. Пациенты были разделены на две когорты: «эффективная операция» и «неэффективная операция», для которых проводился анализ молекулярно-генетических маркеров с помощью EWAS и построение моделей наследования.

Для решения 5-й задачи проведено ретроспективное и проспективное исследование случай – контроль, в котором все дети (N = 166) были разделены на 2 группы в зависимости от эффективности операции Касаи:

- 1) 1-я группа (N = 69) – с эффективной операцией;
- 2) 2-я группа (N = 97) – с неэффективной операцией.

Исследовались клинические, лабораторные и ультразвуковые параметры для выявления предикторов эффективности операции Касаи.

Проводился анализ клиничко-anamнестических данных, которые включали в себя: гестационный возраст, вес при рождении, сроки появления желтухи и ахолии стула, наличие геморрагического синдрома, увеличение размеров печени и селезенки в неонатальный период, возраст и антропометрические показатели на момент операции Касаи. Также проводилось измерение размеров печени и селезенки до операции и на 14 ± 3 -и сутки после операции. В анализ лабораторных данных были включены клинические, биохимические, а также показатели коагулограммы. Данные исследования проводились за 1–3 дня до операции и на 14 ± 3 -и сутки после операции, также детям были рассчитаны индексы APRI, AAR. Оценивались данные УЗИ органов брюшной полости, которое проводилось за 3–7 дней до операции и данные гистологического исследования биоптата печени, забор материала для исследования проводился интраоперационно.

66 детям с БА проводились молекулярно-генетические исследования: полноэкзомный поиск ассоциаций у пациентов с БА в сравнении с 637 здоровыми детьми.

Статистическая обработка данных выполнена с помощью пакетов прикладных программ «Statistica for Windows» v. 7.0, StatSoft Inc. (США) и SPSS v.26.0.

Для сравнения и определения различий между группами использовался t-критерий Стьюдента и U-критерий Манна – Уитни. Для проверки наличия статистически значимых различий между категориальными данными использовался метод χ^2 . Для выявления корреляций между количественными показателями использовался ранговый коэффициент корреляции по Спирмену. С помощью ROC-анализа были определены наиболее значимые диагностические маркеры, а также оценивалось качество бинарной классификации. Для анализа связи между

несколькими независимыми переменными (предикторами) и зависимой переменной использовался метод множественной регрессии. Определение анализа выживаемости проводилось с использованием метода Каплана-Майера и таблиц дожития.

Результаты исследования и их обсуждение

Клинические симптомы билиарной атрезии и сроки их манифестации в неонатальный период. Среди 170 детей с подтвержденным диагнозом БА операция Касаи проведена 163 детям в возрасте от 28 до 138 дней жизни. Средний возраст детей на момент проведения операции составил 78,8 (15,2) дня. 7/170 (4%) детей на момент постановки диагноза были старше 5 месяцев жизни и имели признаки билиарного цирроза печени, что потребовало проведение ТП без предшествующей операции Касаи. В зависимости от сроков выполнения операции дети были распределены следующим образом (Рисунок 1).

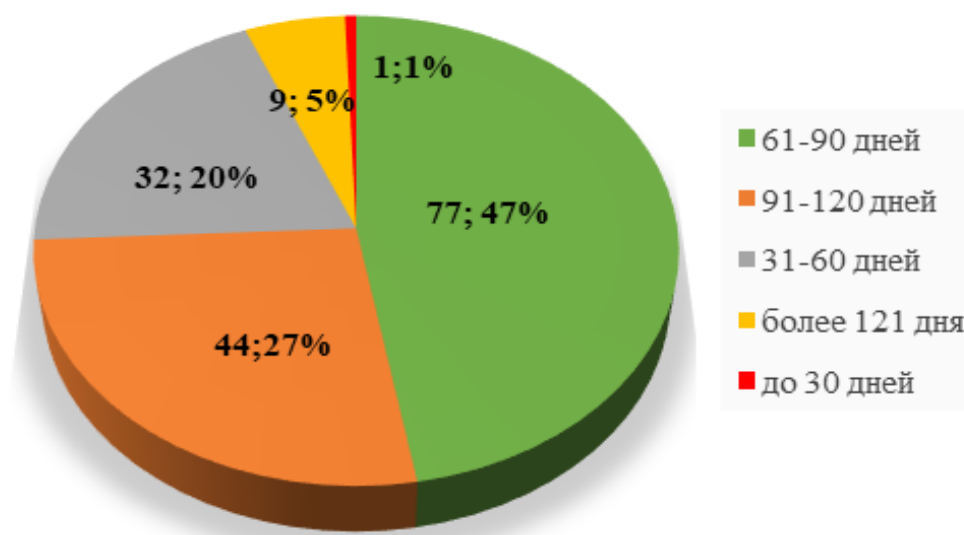


Рисунок 1 – Возраст детей с БА на момент проведения операции Касаи

Среди обследованных детей был проведен анализ частоты развития геморрагического синдрома в неонатальном периоде. У 33/170 детей (19,4%) в возрасте 22 ± 4 дней отмечалось развитие геморрагического синдрома, обусловленного дефицитом витамина К.

При анализе клинических проявлений в неонатальном периоде сроки появления желтухи удалось установить у 142 детей. У 115/142 детей (81%) желтуха появилась на 1-й неделе жизни, у 17/142 (12%) детей иктеричность кожных покровов выявлена после 7 суток жизни. У 10/142 детей (7%) не было указаний на наличие желтухи в неонатальный период. У 91/170 пациента (53,5%) ахолия стула появилась в течение 1-й недели жизни после отхождения мекония, у 47/170 (27,6%) пациентов отмечено появление обесцвеченного стула со 2–3 недели жизни. У 32/170 детей (18,8%) отсутствовали данные о сроках появления обесцвеченного стула. Данные о размерах печени и селезенки при пальпации в ранний неонатальный период установлены у 90/170

детей (53%). Увеличение печени отмечено у 3/90 детей (3%), тогда как у 87/90 детей (97%) размеры печени были в пределах нормы. Селезенка у всех пациентов не пальпировалась. В ранний неонатальный период из 115 детей с желтухой 70/115 (61%) проводилось исследование исключительно общего билирубина. И только 27/115 пациентам (16%) исследовались обе фракции билирубина. У всех обследованных отмечено повышение как общего (207 [48] мкмоль/л), так и прямого билирубина (84 [35] мкмоль/л), у всех детей уровень прямого билирубина на 1 неделе жизни был $> 17,1$ мкмоль/л. Другие биохимические маркеры холестаза (ЩФ, ГГТ) и цитолиза (АЛТ, АСТ) в неонатальном периоде исследовались 16 пациентам в возрасте 4,2 (2,7) дней (от 2 до 12 дней) и были в пределах нормы.

УЗИ органов брюшной полости на 1-й неделе жизни было проведено 58/170 детям (34%). У всех обследованных отсутствовали патологические изменения печени и селезенки, ни у одного ребенка не выявлен характерный для БА симптом «треугольного рубца». У 30/58 (52%) детей отмечалось уменьшение просвета желчного пузыря (ЖП) и у 28/58 (48%) новорожденных ЖП при проведении исследования не визуализировался.

На основании полученных данных нами разработан алгоритм обследования новорожденных детей в родильном доме, направленный на раннюю диагностику БА (Рисунок 2).

Выживаемость детей с нативной печенью после операции Касаи и частота развития осложнений в группе детей с эффективной ПЭ

Для оценки выживаемости с нативной печенью у детей с БА была построена кривая Каплана-Майера (Рисунок 3). В дальнейшем, в группе детей с эффективной ПЭ оценивалась частота развития послеоперационных осложнений в разных временных интервалах после операции < 1 года, 1–2 года, 2–3 года, 3–5 лет, 5–10 лет и > 10 лет. Оценивались такие осложнения, как: холангиты, портальная гипертензия и расширение внутripеченочных желчных протоков.

Согласно полученным данным, двухлетняя выживаемость с нативной печенью составила 44,1%, пятилетняя выживаемость с нативной печенью без показаний к проведению трансплантации печени составила 37,7%, выживаемость с нативной печенью 10 лет и более – 33,7%. В соответствии с проведенным анализом выживаемости, медиана срока дожития, соответствующая предполагаемому сроку проведения ТП не менее, чем у 50% пациентов, составила $1,64 \pm 0,34$ лет (95%-й ДИ 0,98–2,31 года).



Рисунок 2 – Алгоритм обследования новорожденного, направленный на раннюю диагностику билиарной атрезии

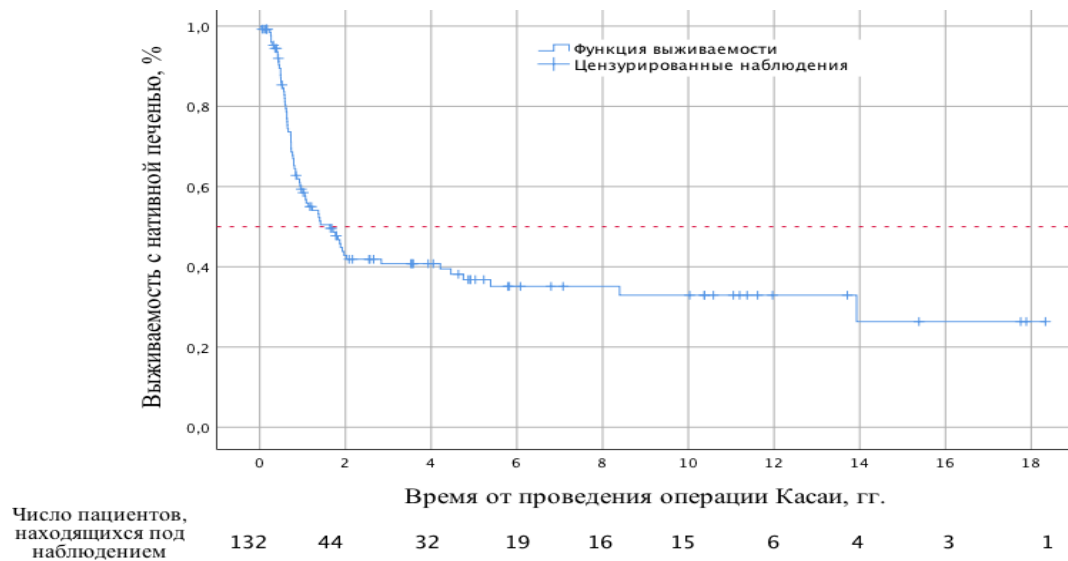


Рисунок 3 – Кривая Каплана – Мейера, характеризующая выживаемость пациентов с БА без показаний к проведению ТП

Среднее время от проведения операции Касаи до проведения ТП составило $6,74 \pm 0,81$ лет (95%-й ДИ 5,16–8,31 лет).

При изучении послеоперационных осложнений у детей с эффективной операцией Касаи наиболее часто встречались бактериальный холангит и портальная гипертензия (Рисунки 4, 5).

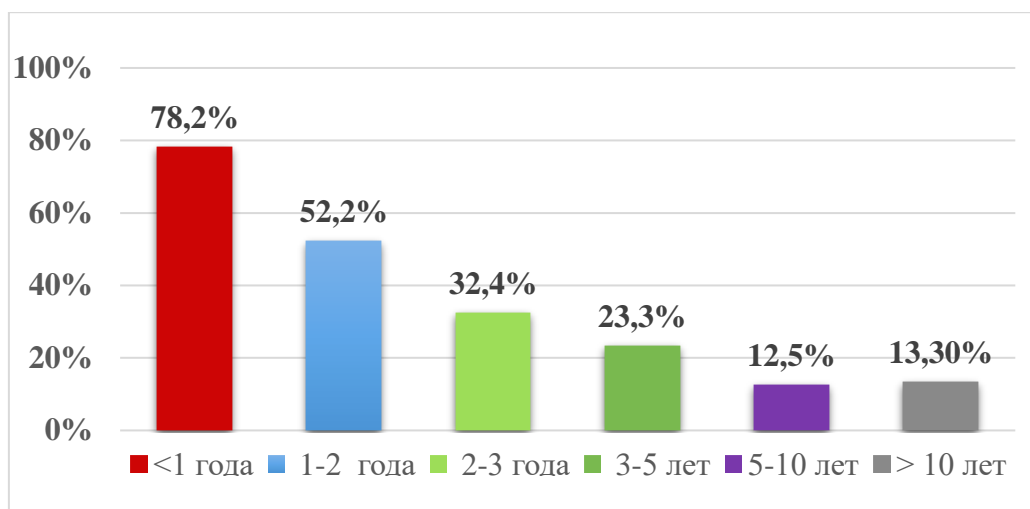


Рисунок 4 – Частота развития бактериальных холангитов в зависимости от времени с момента проведения операции Касаи

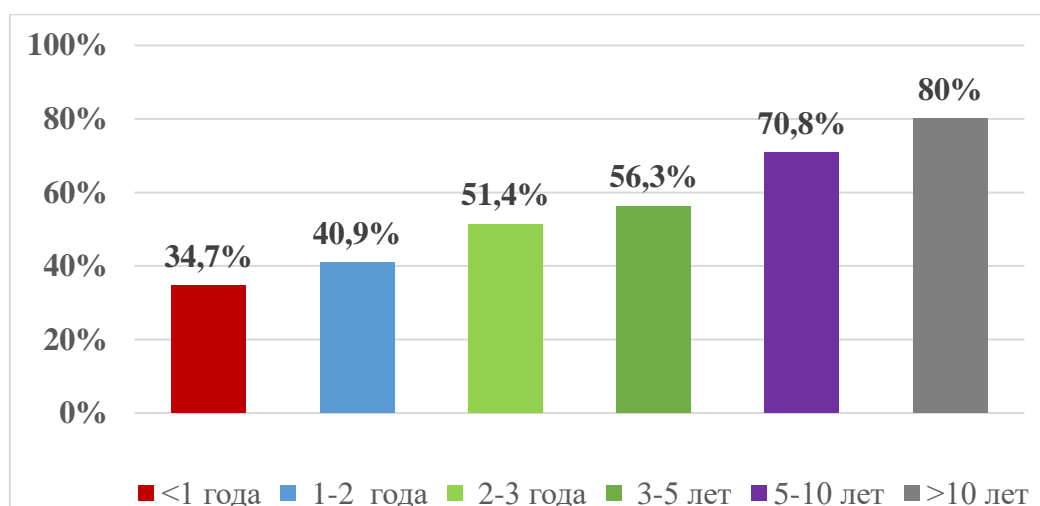


Рисунок 5 – Частота развития портальной гипертензии в зависимости от времени с момента проведения операции Касаи

Неинвазивные маркеры фиброза и цирроза печени у детей с билиарной атрезией

В данное исследование вошло 166 детей с билиарной атрезией, которым проводилась операция Касаи с последующей оценкой степени фиброза печени по шкале Десмет. Дети были разделены на 2 группы в зависимости от степени фиброза. Был проведен сравнительный и корреляционный анализ клиничко-лабораторных параметров до операции.

Проведенный анализ показал, что возраст детей на момент проведения биопсии печени, уровень АЛТ, АСТ и индекс APRI имеют статистически значимые различия в зависимости от степени выраженности фиброза печени (Таблица 1).

Таблица 1 – Сравнительный анализ клинико-лабораторных данных до проведения операции Касаи в зависимости от степени фиброза по шкале Десмет

Параметры	<i>F 0-2, N = 108</i>	<i>F 3-4, N = 58</i>	<i>p</i>
	Me [LQ – UQ]	Me [LQ – UQ]	
Возраст на момент проведения биопсии печени, дни	75 [60–85]	92 [79,5–99,5]	< 0,001*
Тромбоциты, *10 ⁹ /л	447 [285–546,5]	377 [277–506]	0,491
Альбумин, г/л	39 [36,2–41,3]	39,6 [36,6–42,0]	0,703
ХЭ, Ед/л	6082 [4764–6835]	6423 [5324–7029]	0,431
ГГТ, Ед/л	609,3 [369,6–778,6]	532 [454,2–795,7]	0,736
ХС, ммоль/л	5,85 [4,46–7,17]	5,57 [4,87–7,02]	0,761
Билирубин общий, мкмоль/л	154,8 [124,1–187,2]	150,9 [129,2–188,7]	0,835
Билирубин прямой, мкмоль/л	91,3 [76,9–112,2]	85,25 [72,8–112,6]	0,472
АЛТ, Ед/л	128,3 [72,1–190,6]	203,5 [131,2–267,0]	0,003*
АСТ, Ед/л	179,7 [128,2–275,0]	262,8 [217,6–348,0]	0,003*
Фибриноген, г/л	2,4 [2,0–2,6]	2,4 [1,9–2,6]	0,927
МНО	1,06 [0,99–1,1]	1,04 [0,97–1,09]	0,609
ТВ, сек	18,7 [17,1–20,0]	18,7 [17,1–20,7]	0,75
ПТИ, %	95,9 [90,2–108]	97,7 [91,0–109]	0,549
APRI	1,04 [0,82–1,80]	1,82 [1,39–2,45]	0,009*
AAR	1,53 [1,26–1,88]	1,46 [1,34–2,03]	0,697
Р-ры печени: п/п линия, см из-под края реберной дуги	4 [3,0–4,5]	4 [3,0–5,5]	0,241
Р-ры печени: среднеключичная линия, см из-под края реберной дуги	3,5 [3,0–4,0]	4 [3,0–4,8]	0,438
Р-ры селезенки, см из-под края реберной дуги	1,5 [0,5–3,5]	0,5 [0,5–3,2]	0,778

При сравнении ультразвуковых параметров установлены статистически значимые различия в размерах фиброзной площадки, индексе Допа/Двв, диаметре печеночной артерии и длине селезенки. Размеры фиброзной площадки, индекс Допа/Двв, длина селезенки и диаметр общей печеночной артерии были статистически значимо выше в группе детей с выраженным фиброзом/циррозом печени (Таблица 2).

Таблица 2 – Сравнительный анализ ультразвуковых данных до проведения операции Касаи в зависимости от степени фиброза печени, оцененной по шкале Десмет

<i>Параметры</i>	<i>F 0–2, N = 108</i>	<i>F 3–4, N = 58</i>	<i>p</i>
	Me [LQ – UQ]	Me [LQ – UQ]	
Длина ЖП, мм	12 [8,0–17,0]	10 [7,5–17]	0,544
Ширина ЖП, мм	3,5 [3,0–4,4]	3,5 [3,0–4,0]	0,970
Фиброзная площадка, мм	2,9 [0–3,5]	3,5 [0–4,1]	0,050
Правая доля ПЗ р-р, мм	68 [62–74,5]	72 [67–75,5]	0,113
Левая доля ПЗ р-р, мм	42,5 [39,5–49,5]	45,0 [39,0–49,0]	0,666
Селезенка длина, мм	57 [50,5–63]	63 [56–68]	0,013*
Селезенка ширина, мм	28,0 [24,0–30,5]	27,0 [24,0–29,0]	0,786
Печеночная артерия, ИР	0,70 [0,68–0,74]	0,73 [0,69–0,76]	0,220
Печеночная артерия, скорость кровотока, см/сек	62,0 [40,0–72,0]	57,5 [50,0–65,2]	0,688
Печеночная артерия диаметр, мм	1,80 [1,55–2,25]	2,25 [2,00–2,60]	0,022*
Воротная вена диаметр, мм	4,0 [3,75–4,5]	4,0 [3,9–4,9]	0,598
Индекс Допа/Двв	0,41 [0,36–0,55]	0,57 [0,36–0,55]	0,029*
Воротная вена, скорость кровотока, см/сек	21,0 [20,0–23,5]	20,5 [16,0–22,0]	0,600

Результаты корреляционного анализа между клинико-лабораторными, ультразвуковыми показателями и степенью фиброза печени, оцененной по шкале Десмет (Таблица 3). Между возрастом детей и степенью фиброза печени установлена сильная, прямая корреляционная связь. Также выявлена значимая корреляция между уровнем АСТ, АЛТ, APRI, длиной селезенки, индексом резистентности печеночной артерии и степенью фиброза печени по шкале Десмет (Таблица 3).

В дальнейшем проведен ROC-анализ, отражающий зависимость вероятности выраженности фиброза/цирроза печени от значений индекса APRI. Полученная ROC-кривая характеризовалась значением AUC, равным $0,792 \pm 0,056$ (95%-й ДИ 0,76–0,88). Модель была значимой ($p = 0,009$). Значение индекса APRI в точке cut-off составило 1,52: при индексе APRI выше 1,52 отмечался высокий риск выраженного фиброза/цирроза печени, а при более низких значениях – риск выраженного фиброза/цирроза признавался низким. Чувствительность и специфичность модели составляла 73,9% и 71,1%, соответственно.

Таблица 3 – Основные клинико-лабораторные и ультразвуковые показатели и их корреляция со степенью выраженности фиброза по шкале Десмет у детей с БА на момент проведения операции Касаи

<i>Параметры</i>	Me [LQ – UQ]	<i>Шкала фиброза печени по Десмет</i>	
	(N = 166)	r_s	p
Возраст на момент проведения биопсии печени, дни	80 [63,0–94,5]	0,805	<0,001*
Тромбоциты, *10 ⁹ /л	383 [301–522]	-0,164	0,163
Альбумин, г/л	39,2 [36,4–41,8]	-0,025	0,819
ХЭ, Ед/л	6415,2 [5119,8–7179,3]	0,129	0,300
ГГТ, Ед/л	592,9 [391,8–827,1]	-0,140	0,211
ХС, ммоль/л	5,69 [4,36–7,00]	-0,078	0,490
Билирубин общий, мкмоль/л	156 [127–189]	0,051	0,630
Билирубин прямой, мкмоль/л	91,4 [76,9–119,2]	-0,036	0,733
АЛТ, Ед/л	153 [96,0–245]	0,355	0,001*
АСТ, Ед/л	223 [157–323,5]	0,370	<0,001*
Фибриноген, г/л	2,3 [1,9–2,7]	-0,086	0,446
МНО	1,0 [0,9–1,1]	0,052	0,682
ТВ, сек	18,8 [17,3–20,6]	0,075	0,544
ПТИ, %	95,9 [86,5–108,8]	-0,039	0,742
APRI	1,4 [0,88–2,2]	0,827	0,001*
AAR	1,51 [1,22–1,93]	-0,057	0,601
Р-ры печени: п/п линия, см из-под края реберной дуги	4,0 [4,0–5,0]	0,265	0,114
Р-ры печени: среднеключичная линия, см из-под края реберной дуги	4,0 [3,0–4,0]	0,225	0,194
Р-ры селезенки, см из-под края реберной дуги	1,5 [0,5–3,0]	0,115	0,454
Длина ЖП, мм	12,0 [8,25–17,0]	-0,099	0,460
Ширина ЖП, мм	3,5 [3,0–5,0]	0,093	0,504
Фиброзная площадка, мм	3,0 [0–3,9]	0,151	0,215
Индекс Допа/Двв	0,5 [0,38–0,65]	0,683	0,047*
Правая доля ПЗ р-р, мм	70,0 [65,0–75,5]	0,098	0,378
Левая доля ПЗ р-р, мм	44,0 [39,75–50,0]	-0,070	0,566
Селезенка длина, мм	60,0 [53,0–67,0]	0,686	0,010*
Селезенка ширина, мм	27 [24–30]	-0,032	0,774

Продолжение Таблицы 3

Печеночная артерия ИР	0,73 [0,69–0,77]	0,639	0,045*
Печеночная артерия, скорость кровотока см/сек	59,5 [42,0–70,0]	0,062	0,760
Печеночная артерия диаметр, мм	2,0 [1,6–2,5]	0,749	0,042
Воротная вена диаметр, мм	4,0 [3,7–4,6]	0,017	0,894
Воротная вена, скорость кровотока, см/сек	21 [19–24]	-0,007	0,963

Таким образом, согласно нашему исследованию, индекс APRI является наиболее информативным биохимическим маркером выраженного фиброза/цирроза печени при БА у детей. Показатели АЛТ и АСТ также имеют умеренную значимость при прогрессировании фиброза. УЗ и доплерографические параметры, такие как длина селезенки, индекс резистентности печеночной артерии, индекс Допа/Двв, диаметр печеночной артерии, также значимы в диагностике выраженного фиброза/цирроза печени. Выявление неинвазивных маркеров позволяет своевременно определить риск развития серьезных осложнений и показания к проведению ТП.

Результаты полноэкзомного поиска ассоциаций среди пациентов с билиарной атрезией и анализ влияния молекулярно-генетических маркеров на исход операции Касаи

Был проведен поиск значимых вариантов в генах, связанных с моногенными холестатическими заболеваниями печени, у пациентов с БА, однако патогенных или вероятно патогенных вариантов не было найдено. В дальнейшем был проведен полноэкзомный поиск ассоциаций, не связанных с моногенными заболеваниями печени, у 66 пациентов с БА в сравнении с 637 здоровыми детьми с последующим построением аддитивной, доминантной и рецессивной моделей наследования. Наиболее значимая ассоциация с заболеванием в аддитивной и доминантной моделях наследования была выявлена для генетического варианта rs368030585 (ген *LOC105379749*), а в рецессивной модели – для варианта rs201589859 (ген *POT1*). Наибольший вклад в благоприятный исход операции Касаи вносил вариант rs200315308 (ген *ANKRD30A*) (аддитивная и доминантная модели). Самые сильные ассоциации с неблагоприятным исходом были показаны для варианта rs5862681 (ген *GYPB*) в аддитивной модели, варианта rs62513923 (ген *PABPC1*) в доминантной модели и для единственного варианта rs2599972 (ген *CCDC74B*) в рецессивной модели.

Для выявления наиболее значимых генных сетей или клеточных процессов, в которые вовлечены гены, использовался функциональный анализ с помощью ресурсов Gene Ontology (GO) и KEGG. Данный анализ проводился для генов, маркеры которых были выявлены в процессе EWAS. Проведенный функциональный анализ выявил, что наиболее значимые категории генных онтологий связаны с иммунной системой. Гены были связаны с активацией сигнального пути рецепторов лектинов типа С, дегрануляцией нейтрофилов и поддержанием

структуры эпителия желудочно-кишечного тракта. Исследование позволяет рассматривать патологию иммунорегуляторных механизмов в генезе билиарной атрезии.

По критерию «эффективность операции Касаи» выборка пациентов с диагнозом БА была разделена на две когорты для каждой из которых в свою очередь были проведены EWAS с использованием 637 здоровых образцов и были обнаружены варианты, которые присутствовали только у одной группы пациентов. Для пациентов, у которых операция Касаи была успешной, наиболее значимыми категориями генных онтологий были пути, связанные с мембранами секреторных везикул гранулоцитов и связыванием глюкозы, а также регуляцией иммунного ответа и метаболизмом фенилаланина и гистидина. Для пациентов, у которых ПЭ не привела к успеху, были выявлены сигнальные пути, связанные с деаденилированием мРНК и прикреплением клетки к внеклеточному матриксу. Одним из факторов в определении эффективности операции Касаи могут являться сигнальные пути, регулирующие иммунный ответ и взаимодействие клеток с внеклеточным матриксом.

Прогностическая модель эффективности лечения и выживаемости с нативной печенью у детей с билиарной атрезией

В исследование были включены 166 детей с БА после операции Касаи. Операция была эффективна у 69/166 (42%) пациентов. Статистически значимые различия выявлены по уровню холестерина до операции, а также при визуализации ЖП по УЗ данным (Таблицы 4, 5).

Таблица 4 – Сравнительный анализ анамнестических и клинико-лабораторных данных до проведения операции Касаи в исследуемых группах

Параметры	Операция Касаи		p
	эффективна	неэффективна	
	Me [Q1; Q3]	Me [Q1; Q3]	
Количество пациентов	69	97	
Масса при рождении, гр	3,235 [2,800; 3,492]	3,372 [3,031; 3,610]	0,158
Возраст на момент операции, дни	80 [61; 94]	77 [65; 92]	0,777
Масса на момент операции, гр	4836 [4215; 5480]	4800 [4275; 5276]	0,801
Длина на момент операции, см	59,0 [57,0; 60,6]	59,0 [55,0; 60,5]	0,992
Тромбоциты, 109/л	377 [284,5; 549]	400 [307; 538,5]	0,900
Альбумин, г/л	39 [36,8; 41,0]	40,1 [37,0; 42,2]	0,174
ХЭ, Ед/л	6423 [5756; 7211]	6642 [4906; 7189]	0,787
ГГТ, Ед/л	555,5 [329,3; 719,9]	582,5 [409,4; 967,0]	0,251
ХС, ммоль/л	5,34 [4,03; 6,45]	6,29 [4,93; 7,51]	0,018*

Продолжение Таблицы 4

ЩФ, Ед/л	511,0 [375,0; 621,2]	561,5 [424,5; 804,3]	0,057
Билирубин общий, мкмоль/л	147,8 [118,7; 171,9]	149,4 [132,4; 189,2]	0,224
Билирубин прямой, мкмоль/л	86,8 [70,0; 105,7]	91,0 [81,6; 119,7]	0,086
АЛТ, Ед/л	159,0 [88,2; 236,0]	151,0 [88,0; 267,0]	0,650
АСТ, Ед/л	228,0 [157,8; 316,9]	217,0 [153,0; 389,0]	0,559
Фибриноген, г/л	2,4 [2,0; 2,7]	2,4 [1,9; 2,7]	0,555
МНО	1,06 [0,98; 1,10]	1,04 [0,94; 1,11]	0,477
ТВ, сек	19,0 [17,0; 20,7]	18,5 [17,3; 20,6]	0,723
ПТИ, %	97,1 [86,2; 109,0]	94,4 [86,7; 111,0]	0,978
APRI	1,49 [0,88; 2,22]	1,40 [0,74; 2,20]	0,935
Р-ры печени: п/п линия, см	4,0 [3,0; 4,5]	4,0 [3,0; 5,5]	0,23
Р-ры печени: среднеключичная линия, см	3,0 [2,8; 4,0]	4 [3,0; 4,0]	0,29
Р-ры селезенки, см	2,0 [0,5; 3,0]	1,0 [0; 3,0]	0,15

Таблица 5 – Результаты сравнения частоты эффективности операции Касаи (абс., %) в зависимости от ультразвуковых факторов

Фактор	Частота эффективности операции				p	ОШ; 95%-й ДИ
	Наличие фактора		Отсутствие фактора			
	абс.	%	абс.	%		
Наличие ЖП	n = 111		n = 55		0,006*	3,56 (1,45–8,75)
	58	52,3	11	20,0		
Неоднородная ткань печени	n = 31		n = 135		0,084	3,13 (0,91–10,8)
	17	54,8	52	38,5		
Повышенная эхогенность печени	n = 101		n = 65		0,417	0,72 (0,32–1,61)
	36	35,6	33	50,7		
Спленомегалия	n = 89		n = 77		0,650	1,29 (0,58–2,85)
	38	42,6	31	40,2		
Асцит	n = 11		n = 155		0,213	1,39 (0,09–1,59)
	3	27,3	66	42,5		
Закругленный край печени	n = 59		n = 107		0,083	0,37 (0,12–1,17)
	16	27,1	53	49,5		
Наличие фиброзной площадки	n = 88		n = 78		0,636	0,81 (0,33–1,96)
	40	45,5	29	37,2		

При сравнении частоты эффективности операции Касаи в зависимости от выраженности фиброза по шкале Десмет у исследуемых статистически значимых различий не выявлено ($p=0,881$), (Таблица 6).

Таблица 6 – Результаты сравнения частоты эффективности операции Касаи (абс., %) в зависимости от степени выраженности фиброза печени по шкале Десмет

Степень фиброза по шкале Десмет, балл	Частота эффективности		<i>p</i>
	Эффективна / общее количество	%	
0	1/2	50,0	0,881
1	11/20	55,0	
2	47/86	54,6	
3	13/25	52,0	
4	15/33	45,4	

При оценке послеоперационных параметров на 14 ± 3 сутки после операции в группе детей с эффективной операцией Касаи уровень ХС, ЩФ, ОБ и ПБ, а также АСТ были статистически значимо ниже (Таблица 7).

Показатели с $p < 0,05$ в сравнительном анализе были включены для построения многофакторной прогностической модели вероятности эффективности операции Касаи.

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением (1):

$$P = \frac{1}{1 + e^{-z}} \times 100\%, \quad (1)$$

$$z = 4,00 + 1,28 \times X_{\text{ЖП}} - 0,61 \times X_{\text{ХС-по}} - 0,03 \times X_{\text{БП-по}},$$

где P – вероятность эффективности операции Касаи (%);

$X_{\text{ЖП}}$ – наличие желчного пузыря по данным УЗИ (0 – отсутствие ЖП, 1 – наличие ЖП);

$X_{\text{ХС-по}}$ – уровень холестерина после операции (ммоль/л);

$X_{\text{БП-по}}$ – уровень прямого билирубина после операции (мкмоль/л).

Исходя из значений регрессионных коэффициентов, наличие ЖП по данным УЗИ имели прямую связь с вероятностью эффективности операции Касаи. Такие предикторы, как уровень ХС и ПБ на 14 ± 3 -и сутки после операции – отличались обратной связью с вероятностью эффективности ПЭ. Чувствительность и специфичность модели (1) при данном пороговом значении составили 81,0% и 80,8%, соответственно.

Учитывая, большую клиническую значимость степени фиброза печени, оцененной при гистологическом исследовании биоптата печени на момент проведения операции Касаи, нами была разработана 2-я модель с изучением влияния данного показателя методом принудительного включения.

Таблица 7 – Сравнительный анализ клинико-лабораторных данных после проведения операции Касаи (на 14±3-й день) в исследуемых группах

Параметры	1-я группа, (N = 69)	2-я группа, (N = 97)	P
	Me [LQ – UQ]	Me [LQ – UQ]	
Тромбоциты, *10 ⁹ /л	361 [283,5–543]	382,5 [315–500]	0,63
Альбумин, г/л	36,4 [34,3–39,95]	38,0 [34,5–40,5]	0,372
ХЭ, Ед/л	4874 [4128–5931]	4660 [3817–6020]	0,681
ГГТ, Ед/л	796,3 [550,5–1125,0]	893,9 [570,5–1183,1]	0,599
ХС, ммоль/л	4,7 [4,23–5,57]	5,5 [4,54–7,60]	0,004*
ЩФ, Ед/л	261 [205–371]	327 [273–395]	0,019*
Билирубин общий, мкмоль/л	60,9 [36,7–88,0]	117,2 [84,0–154,3]	< 0,001*
Билирубин прямой, мкмоль/л	36,8 [20,9–56,3]	74,5 [49,9–95,6]	< 0,001*
АЛТ, Ед/л	196,5 [145–269]	222,2 [143,2–365,5]	0,07
АСТ, Ед/л	177,9 [123,5–230,5]	211,8 [160,0–299,8]	0,038*
Фибриноген, г/л	2,41 [1,90; 2,80]	2,38 [1,95; 2,80]	0,685
МНО	1,04 [0,97–1,12]	0,99 [0,92–1,13]	0,521
ТВ, сек	17,9 [16,4–19,1]	17,3 [16,3–19,3]	0,421
ПТИ, %	96,3 [88,5–107]	96,5 [80,8–109]	
APRI	1,25 [0,79–1,66]	1,29 [0,86–2,62]	0,316
Р-ры печени: п/п линия, см	4,0 [3,0–4,0]	4,0 [4,0–5,0]	0,294
Р-ры печени: среднеключичная линия, см	4,0 [3,0–4,0]	4,0[3,0–4,5]	0,551
Р-ры селезенки, см	2,0 [0,5–3,0]	2,0 [0,75–4,25]	0,250

Наблюдаемая зависимость описывается уравнением (2):

$$P = \frac{1}{1 + e^{-z}} \times 100\%, \quad (2)$$

$$z = 6,89 - 0,59 \times X_{\text{ХС-по}} - 0,37 \times X_{\text{БП-по}} - 0,76 \times X_{\text{ДЕСМЕТ}},$$

где P – вероятность эффективности операции Касаи (%);

$X_{\text{ХС-по}}$ – уровень холестерина через 2 недели после операции (Ед/л);

$X_{\text{БП-по}}$ – уровень прямого билирубина через 2 недели после операции (мкмоль/л).

$X_{\text{ДЕСМЕТ}}$ – степень выраженности фиброза по шкале Десмет (1, 2, 3, 4).

Увеличение выраженности фиброза на 1 балл на момент операции снижает шансы на эффективность операции в 2,2 раза (95%-й ДИ 0,27–0,95), увеличение ХС на 1 ммоль/л после

операции снижает шансы на эффективность операции в 1,92 раза (95%-й ДИ 0,33–0,81), повышение ПБ на 1 мкмоль/л после операции Касаи снижает шансы на эффективность операции в 1,04 раза (95%-й ДИ 0,94–0,98). Чувствительность и специфичность модели (2) составили 78,8% и 78,4%.

ВЫВОДЫ

1. Повышение прямой фракции сывороточного билирубина более 17,1 мкмоль/л при отсутствии визуализации или уменьшении просвета желчного пузыря по данным УЗИ, проведенного после 4-часовой голодной паузы, у ребенка на первой неделе жизни являются наиболее чувствительными маркерами билиарной атрезии.

2. Однолетняя выживаемость детей с нативной печенью без показаний к проведению ТП после операции Касаи составила 60,8%, двухлетняя – 44,1%, пятилетняя – 37,7% и 10-летняя – 33,7%. Медиана срока дожития после операции Касаи – $1,6 \pm 0,3$ года, среднее время до проведения ТП – $6,7 \pm 0,8$ лет. Наиболее частыми осложнениями после операции Касаи являются: бактериальный холангит (78,9% через 1 год, 23,3% через 3–5 лет) и портальная гипертензия (34,7% через 1 год, 56,3% через 3–5 лет, 80% через 10 лет).

3. Установлена прямая высокой силы корреляционная связь между степенью фиброза и возрастом на момент проведения биопсии печени ($r_s = 0,805$; $p < 0,001$), индексом APRI ($r_s = 0,827$; $p = 0,001$), а также диаметром печеночной артерии ($r_s = 0,794$; $p = 0,042$). Корреляционная связь между степенью фиброза печени и длиной селезенки была прямой, заметной силы ($r_s = 0,686$; $p = 0,010$). Между индексом резистентности печеночной артерии ($r_s = 0,639$; $p = 0,05$), а также между индексом Допа/Двв ($r_s = 0,683$; $p = 0,047$) была установлена статистически значимая, прямая, заметной силы корреляционная связь. Вероятность выраженности фиброза/цирроза печени увеличивается при значениях индекса APRI $> 1,52$.

4. Полноэкзомный поиск ассоциаций идентифицировал генетические варианты, достоверно отличающие пациентов с БА от контрольных образцов. Наиболее значимая ассоциация с заболеванием в аддитивной и доминантной моделях наследования была выявлена для генетического варианта rs368030585 (ген *LOC105379749*), а в рецессивной модели – для варианта rs201589859 (ген *POTEL*). Наибольший вклад в благоприятный исход операции Касаи вносил вариант rs200315308 (ген *ANKRD30A*) (аддитивная и доминантная модели). Самые сильные ассоциации с неблагоприятным исходом были показаны для варианта rs5862681 (ген *GYPB*) в аддитивной модели, варианта rs62513923 (ген *PABPC1*) в доминантной модели и для единственного варианта rs2599972 (ген *CCDC74B*) в рецессивной модели.

5. Наличие «рудиментированного» желчного пузыря по данным УЗИ увеличивают шансы эффективности операции Касаи в 3,62 раза (95%-й ДИ 1,09–12,0), увеличение выраженности фиброза печени на 1 балл, оцененная по данным гистологического исследования биоптата печени на момент

операции, снижает шансы эффективности операции в 2,2 раза (95%-й ДИ 0,27–0,95), увеличение содержания холестерина, исследованного на 14±3-и сутки п/о на 1 ммоль/л, снижает шансы на эффективность операции в 1,92 раза (95%-й ДИ 0,33–0,81), повышение прямого билирубина, исследованного на 14±3-и сутки п/о на 1 мкмоль/л, снижает шансы на эффективность операции в 1,04 раза (95%-й ДИ 0,94–0,98).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Всем новорожденным показана оценка цвета стула с использованием карты. У детей с желтухой при исследовании билирубина обязательным является определение прямой фракции. Наличие ахолии стула и/или повышение прямой фракции билирубина > 17 мкмоль/л показано проведение УЗИ органов брюшной полости после 4-часовой голодной паузы.

2. Детям после операции Касаи показано динамическое наблюдение с целью раннего выявления и своевременной коррекции: бактериального холангита, портальной гипертензии и других ассоциированных осложнений, а также для определения оптимальных сроков проведения ТП.

3. Детям с БА с целью определения выраженности фиброза/цирроза печени показано исследование индекса APRI и ультразвуковых параметров: длина селезенки, диаметр печеночной артерии, индекс резистентности печеночной артерии, индекс $D_{\text{опа}}/D_{\text{вв}}$.

4. При проведении молекулярно-генетического исследования у детей с подозрением на БА целесообразно исследование варианта rs368030585 (ген *LOC105379749*), rs201589859 (ген *POTE1*), ассоциированных с БА. При проведении молекулярно-генетического исследования у детей с БА показано исследование варианта rs200315308 в гене *ANKRD30A*, ассоциированного с благоприятным исходом, а также исследование вариантов: rs5862681 в гене *GYPB*, rs62513923 в гене *PABPC1* и rs2599972 в гене *CCDC74B*, ассоциированных с неблагоприятным исходом операции Касаи.

5. На основании оценки степени выраженности фиброза по данным интраоперационного гистологического исследования биоптата печени, выявления «рудиментированного» желчного пузыря по данным УЗИ до операции, наряду со скоростью снижения прямого билирубина и холестерина в послеоперационном периоде можно с высокой вероятностью предполагать эффективность хирургической коррекции БА.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Исаева, М. Х.** Генетические аспекты этиологии билиарной атрезии (обзор) / **М. Х. Исаева**, В. А. Белова, Д. О. Коростин, А. В. Дегтярева // Вестник РГМУ. – 2020. – № 6. – С. 5–14.
2. **Исаева, М. Х.** Клинические проявления билиарной атрезии у новорожденных детей: необходимость скрининговой программы ранней диагностики / А. В. Дегтярева, **М. Х. Исаева**, Е. А. Филиппова, А. Б. Сугак, А. Ю. Разумовский, Н. В. Куликова, Е. А. Гордеева, М. Б. Албегова, В. В. Зубков, Д. В. Ребриков // **Вопросы детской диетологии**. – 2021. – № 5. – С. 46–54. [Scopus]
3. **Исаева, М. Х.** Ранние клинические проявления билиарной атрезии у детей / А. В. Дегтярева, **М. Х. Исаева**, Е. А. Филиппова [и др.] // Материалы XXII Всероссийский научно-образовательный форум «Мать и Дитя – 2021» (Москва, 29 сентября – 1 октября 2021 г.). – М., 2021. – С. 117–118.
4. **Исаева, М. Х.** Неинвазивные маркеры фиброза и цирроза печени у детей с билиарной атрезией / **М. Х. Исаева**, А. В. Дегтярева, А. Б. Сугак, Е. Л. Туманова, Е. Л. Корчагина, А. Ю. Разумовский, Н. В. Куликова, Е. А. Гордеева, М. Б. Албегова // **Вопросы детской диетологии**. – 2022. – № 4. – С. 31–41. [Scopus]
5. **Isaeva, M. H.** The Experience of Using Multipotent Mesenchymal Stromal Cells in the Treatment of Severe Recurrent Cholangitis in Children with Biliary Atresia after Kasai Surgery / A. V. Degtyareva, **M. H. Isaeva**, D. N. Silachev, K. V. Goryunov, Y. A. Shevtsova, I. V. Dubrovina, A. A. Burov, E. A. Filippova, V. V. Zubkov, L. V. Krechetova, V. V. Vtorushina, E. V. Inviyaeva, G. T. Sukhikh // **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**. – 2022. – № 3. – P. 1–10. [Web of Science, Scopus]

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

AAR – the aspartat aminotransferase (AST)/alanin aminotransferase (ALT) ratio

APRI – aspartate aminotransferase to platelet ratio index

CNV – copy number variation

$D_{\text{опа}}/D_{\text{вв}}$ – соотношение диаметра общей печеночной артерии к диаметру воротной вены

EWAS – *epigenome-wide association study*

GO – gene ontology

GWAS – genome-wide association studies

KEGG – kyoto encyclopedia of genes and genomes

WES – whole exome sequencing

АЛТ – аланин аминотрансфераза

АСТ – аспартат аминотрансфераза

БА – билиарная атрезия

ГГТ – гамма-глутамилтранспептидаза

ЖП – желчного пузыря

МНО – международное нормализованное отношение

ОБ – общий билирубин

ПБ – прямой билирубин

ПТИ – протромбиновый индекс

ПЭ – портоэнтеростомия

ТВ – тромбиновое время

ТП – трансплантация печени

ХС – холестерин

ХЭ – холинэстераза

ЩФ – щелочная фосфатаза