

Nezgoda I. I., Moroz L. V., Singh S., Singh O. O. New diagnostic markers for the degree of liver fibrosis in children with chronic viral hepatitis. *Journal of Education, Health and Sport*. 2017;7(6):1040-1055. eISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.1172016>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/5277>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 1223 (26.01.2017).
1223 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author 2017;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.
The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.
Received: 03.06.2017. Revised: 20.06.2017. Accepted: 30.06.2017.

NEW DIAGNOSTIC MARKERS FOR THE DEGREE OF LIVER FIBROSIS IN CHILDREN WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS

I. I. Nezgoda, L. V. Moroz, S. Singh, O. O. Singh

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine

Nezgoda Iryna Ivanivna – prof., DM, head of the department, Pediatric Infectious Disease, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine; 0979143340;
e-mail: nezgoda59@gmail.com;

Moroz Larisa Vasilivna – prof., DM, head of the department, Infectious Disease, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine; 0965363123;
e-mail: larisa652002@yahoo.com;

Singh Shailendra – assistant, department of Pediatric Infectious Disease, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine; 0677693771;
e-mail: drshailendra.singh@yahoo.com;

Singh Oksana Olexandrivna – assistant, department of Internal Medicine of Faculty no.2, National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia, Ukraine; 0676652279;
e-mail: singhoksana@gmail.com

Abstract

The article presents results of the study which includes 41 children with chronic viral hepatitis B (CHB) and acute lymphoblastic leukemia (ALL), aged 3 to 17 years and all were at dispensary observation in the Vinnytsia Regional Infectious Disease Hospital, Ukraine from January 2016 to February 2017. The aim of this study was to determine the plasma osteopontin level (OPN) in children, depending on sex, viral load, and degree of fibrosis. It was found that the level of this glycoprotein in children with chronic hepatitis B with ALL was significantly higher (275.66 ± 22.32 ng / ml) than in control group children (92.65 ± 7.31 ng / ml) ($p < 0, 05$). The highest rates of OPN were found in younger children, with an increase in age, it decreases. In 68.24% of patients with CHB with ALL occurs with

significant fibrotic changes in the liver: F1 fibrosis was found in 34.15% of patients, F2 in 31.7% of patients, F3 in 2.44% of patients. With the increase in the degree of fibrosis in the liver, the level of OPN increases. Its minimum value was found in children without fibrosis F0 (169.61 ± 21.19 ng / ml), with fibrosis F1 - this figure is (214.57 ± 14.49 ng / ml), with F2 - its level rises (432.39 ± 30.59 ng / ml), the maximum value of OPN was diagnosed in patients with fibrosis F3 (472.52 ng / ml). Direct correlation ($r = 0.577$, $p < 0.001$) between the degree of fibrosis and the level of OPN was detected. Thus, osteopontin can be used as a new biomarker for the liver fibrosis.

Key words: chronic hepatitis B, children, lymphoblastic leukemia, fibrosis, osteopontin.

УДК: 616.36 – 002.17/.2 – 053 – 07

СУЧАСНІ МАРКЕРИ ДІАГНОСТИКИ СТУПЕНЮ ФІБРОЗУ ПЕЧІНКИ ПРИ ХРОНІЧНИХ ВІРУСНИХ ГЕПАТИТАХ У ДІТЕЙ

І. І. Незгода, Л. В. Мороз, Ш. Сінгх, О. О. Сінгх

Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова

Резюме

В статті представлені результати дослідження 41 дитини з хронічним вірусним гепатитом В (ХГВ) на тлі гострого лімфобластного лейкозу (ГЛЛ) віком від 3 до 17 років, які знаходились на диспансерному спостереженні у Вінницькій обласній інфекційній лікарні з січня 2016 по лютий 2017 року. Метою дослідження було визначення рівня плазмового остеопонтину (ОПН) у дітей в залежності від статі, вірусного навантаження та ступеня фіброзу. Встановлено, що рівень даного глікопротеїну у дітей з ХГВ на тлі ГЛЛ достовірно вище ($275,66 \pm 22,32$ нг/мл), ніж у дітей контрольної групи ($92,65 \pm 7,31$ нг/мл) ($p < 0,05$). Найвищі показники ОПН виявлені у дітей молодшої вікової групи, з наростанням віку рівень його зменшується. У 68,24% хворих ХГВ на тлі лімфобластного лейкозу перебігає зі значними фібротичними змінами в печінці: фіброз F1 виявлений у 34,15% хворих, F2 – у 31,7% хворих, F3 – у 2,44% хворих. З наростанням ступеня фіброзу в печінці зростає рівень ОПН. Мінімальне його значення виявлено у дітей без фіброза F0 ($169,61 \pm 21,19$ нг/мл), при

фіброзі F1 – цей показник становить (214,57±14,49 нг/мл), при F2 – рівень його підвищується (432,39±30,59 нг/мл), максимальне значення ОПН діагностовано у хворих з фіброзом F3 (472,52 нг/мл). Виявлений прямий кореляційний зв'язок ($r=0,577$, $p<0,001$) між ступенем фіброза та рівнем ОПН. Отже, остеопонтін може використовуватись як новий біомаркер фібротичних змін в печінці.

Ключові слова: хронічний гепатит В, діти, лімфобластний лейкоз, фіброз, остеопонтін.

Вступ. Хронічні вірусні гепатити (ХВГ) є однією з актуальних проблем сучасної інфектології, не дивлячись на значні успіхи у їх діагностиці та удосконаленні лікувальної тактики. Зважаючи на це, ВООЗ відносить проблему ХВГ, а саме гепатитів В і С, до розряду глобальних, адже вони увійшли в число десяти основних причин смертності в світі. Захворюваність та летальність внаслідок гепатитів В і С прогресивно збільшується на планеті та за даними експертів подвоїться до 2018-2020 років. [21].

Проблема поширеності та захворюваності на хронічні гепатити В та С є надзвичайно актуальною і в Україні. За даними Голубовської О.А. (2017), в останні десятиліття захворюваність на дану патологію зростає як серед дорослого так і серед дитячого населення [2, 3, 6]. За офіційними даними нараховується 2 млн людей інфікованих вірусом гепатиту В. В Україні щороку реєструється 3,5 тис. дітей хворих на вірусний гепатит В [8, 9], за даними Державного закладу «Центр медичної статистики міністерства охорони здоров'я України» поширеність ХГВ серед дитячого населення України в 2013–2014 роках складала 0,1 на 1000 дитячого населення, а захворюваність 0,02 на 1000 дитячого населення (МОЗ, 2015).

Стосовно вірусного гепатиту С щорічна захворюваність коливається від 0,4 до 1,5% на 100 тис. дітей віком до 17 років. Хронічний гепатит С (ХГС) у дітей протікає переважно безсимптомно, у 4-6 % хвороба має прогресивний перебіг з розвитком значного фіброзу та цирозу печінки (ЦП) [12, 22]. Протягом 9 років ЦП формується у 1,8 % дітей з ХГС [1, 10, 12, 13].

Швидкість прогресування ХВГ у дітей визначається особливостями фіброгенезу в печінці. Темпи прогресування фіброзу печінки є індивідуальними і визначаються як факторами хазяїна (перевантаження залізом, стеатоз, тривалість інфікування та ін.), так і факторами вірусу (генотип вірусу, вірусне навантаження) [2, 19].

Будь-який хронічний процес в печінці супроводжується активацією фіброгенезу, що призводить до порушення структури сполучно-тканинного каркасу печінки, ступінь

якого визначає функціональну неспроможність подальших процесів регенерації [11, 12, 17].

На сьогодні актуальним є пошук методик, спрямованих саме на діагностику фібротичних змін у печінці. Існує багато методів для діагностики ступеню фіброзу печінки, однак більшість з них не використовуються або обмежено використовуються в педіатрії, хоча за даним літератури процес фіброзу часто розвивається і у дітей.

Всі методи діагностики фіброзу печінки можна розділити на інвазивні, малоінвазивні та неінвазивні методи [4, 7].

«Золотим стандартом» в діагностиці фіброзу залишається біопсія печінки, яка належить до інвазивних методів. Результати гістологічного дослідження дозволяють морфологу судити про етіологію хронічного гепатиту, визначити ступінь його активності та стадію процесу, встановити наявність цирозу печінки, диспластичні зміни гепатоцитів, виявити гепатоцелюлярну карциному, прогнозувати перебіг захворювання та ефективність терапії, оцінити результати противірусної терапії при повторних біопсіях.

Однак, при біопсії є складність забору матеріалу і «помилки попадання голки». У 89 французьких медичних центрах були проаналізовані 2084 біопсії печінки, проведені у 1997 р. До 1,5% випадків отриманий біологічний матеріал виявився непридатним для діагностики. Необхідно зауважити, що за допомогою біопсії можна оцінити всього лише 1/50,000 частину всієї паренхіми печінки і при неправильному заборі матеріалу можна недооцінити ступінь фіброзу [12, 14, 23].

Проведення пункційної біопсії печінки в педіатрії є обмеженим в зв'язку з інвазивним характером процедури з потенційним ризиком розвитку ускладнень, що пов'язані з досвідом лікаря, який проводить біопсію. Тому, останнім часом стали застосовуватися неінвазивні методи діагностики фіброзу (по аналізах крові, за допомогою апарату Fibroscan та з використанням дихальних тестів з C¹³-метацетином (C¹³-МДТ) та C¹³-амінопірином) [4, 13].

Транз'єнтна еластографія (Fibroscan, Echosens, Paris, France) без сумнівів є діагностичним методом, який найчастіше використовується. Fibroscan використовує ультразвуковий імпульс для оцінки паренхімної реакції шляхом реєстрації зворотного ехо, і таким чином дозволяє виміряти жорсткість тканини печінки в кПа, що є непрямим показником її фіброзу. Нещодавно, були запропоновані сучасні технології для неінвазивної діагностики та класифікації фіброзу печінки. Вони засновані на магнітно-резонансній томографії (МРТ): МРТ з подвійним контрастом, МР

еластографія, дифузно зважені зображення (diffusion-weighted imaging- DWI), і перфузійна МРТ; та УЗД: ARFI (Siemens, Erlangen, Germany), еластографія в реальному часі (real-time tissue elastography- RTE) (Hitachi Medical Systems Europe, Zurich, Switzerland), акустичний кількісний аналіз структур (ASQ) (Toshiba Medical Systems, Osaka, Japan).

Транзйентна еластографія (Fibroscan) – це неінвазивний метод, який став дуже популярним за останні роки. Його поглиблене дослідження показало, що він володіє гарною кореляцією, відносною специфічністю і чутливістю, порівняно з біопсією печінки, особливо у випадках фіброзу, що пов'язаний з HBV/HCV.

Ще одним з перспективних методів діагностики фіброзу є малоінвазивні тести, засновані на визначенні серологічних та біохімічних маркерів фіброзу. Це: Forns, FibroTest FIB-4, APRI, FibroIndex та ін. Дані тести разом з результатами інших неінвазивних методів досліджень (дихальні тести) у багатьох випадках дають можливість обійтися без біопсії. Проте, слід пам'ятати, що достовірність тестів по аналізах крові значно нижче за достовірність біопсії. Результати тестів повинні інтерпретуватися у поєднанні з іншими лабораторно-інструментальними методами підтвердження діагнозу у кожного конкретного пацієнта [3, 4].

Отже, зважаючи на вищеописані існуючі методи для діагностики фіброзу печінки, актуальним на сьогодні є пошук нових біомаркерів розвитку фібротичних змін у печінці, які б могли використовуватися у педіатрії та володіли б високою інформативністю, специфічністю та чутливістю.

Одним з таких біомаркерів є остеопонтін. Остеопонтін (ОПН) – це глікопротеїн, який вперше був виявлений в остеобластах в 1986 р. Він є багатофункціональним білком, що найбільше експресується в кістках. ОПН є зв'язуючим протеїном, виступає своєрідним мостом між клітинами та мінералами, звідки і походить його назва (лат. «pontin», «pons» - міст) [16, 18].

ОПН експресується в імунних клітинах, включаючи макрофаги, нейтрофіли, дендритні клітини. Він впливає на клітинний імунітет та має функції клітин Т-хелперів 1 (ТН 1). ОПН має гіперекспресію у випадках раку легень, молочної залози, кишківника, шлунка і яєчників, також він знаходять в атеросклеротичних бляшках артерій. Даний гіпопротеїн активується в тканинах під час різних патологічних процесах, включаючи атеросклероз, клапанний стеноз, інфаркт міокарда і ревматичний артрит. ОПН є ключовим цитокином, що регулює відновлення тканин.

Функціями остеопонтину є кісткова мінералізація, регуляція функції імунних клітин, пригнічення кальцифікації, контроль фенотипу пухлинних клітин та активація клітин.

Разом з тим, експресія ОПН є найвищою також і в печінці, а саме: в купферовських клітинах, макрофагах, зірчастих клітинах [20], завдяки чому ОПН сприяє відповіді організму на інфекцію та пошкодження в клітинах печінки. В літературних джерелах представлено ряд наукових робіт, де ОПН вивчається у хворих з захворюваннями печінки [1, 23].

Так, за даними проведеного мета-аналізу [20] у 1080 пацієнтів встановлено кореляцію рівнів ОПН з наявністю вірусів гепатиту В і С. Згідно даних Libra M. (2005) підвищення плазмової концентрації ОПН асоційоване з В-клітинною не-Ходжкінською лімфомою та HCV-інфекцією. Інші джерела вказують на асоціацію поліморфізму гена ОПН з виникненням HBV-інфекції та розвитком гепатоцелюлярної карциноми [11].

Згідно даних Shang S. та співавт. [18] у 312 обстежених ОПН був значно підвищений у пацієнтів з гепатоцелюлярною карциномою, асоційованою з HBV- і HCV-інфекціями. Крім того встановлено, що ОПН є більш чутливим діагностичним критерієм, ніж α -фетопротейн, у випадку ранньої гепато-целюлярної карциноми.

Єгипетськими вченими Abeer M. та співавт. [1] встановлена клінічна доцільність визначення плазмової концентрації ОПН у хворих з хронічною хворобою печінки, обумовленою HCV-інфекцією. Значне підвищення рівнів ОПН було виявлено у пацієнтів з високим індексом гістологічної активності (НАІ) після біопсії печінки, ніж у осіб з помірним НАІ, та пацієнтів з вираженим фіброзом печінки, ніж у осіб з початковими явищами фіброзу. Також встановлено позитивну кореляцію між концентрацією ОПН та АЛТ, АСТ, стадією фіброзу, рівнями білірубину, креатиніну крові, та негативну кореляцію з рівнем сироваткового альбуміну крові. Вказані результати співпали з даними вченого Huang W. та співавт. [5], де зазначалось, що ОПН є маркером запалення в печінці та володіє профібротичною активністю.

Інші єгипетські науковці [15] встановили, що у пацієнтів з 4 генотипом хронічного гепатиту С плазмовий рівень ОПН є чутливим неінвазивним біомаркером щодо прогнозу виникнення фіброзу та його прогресування.

Враховуючи все вище викладене, ОПН є важливим компонентом ендоплазматичного матриксу, який сприяє фіброзу печінки і виступає біомаркером його важкості [14].

Більшість наукових досліджень у світі проведені серед дорослого населення [1, 16, 15, 18, 20], тоді як у дітей вони є поодинокими. В Україні дослідження такого плану не проводилось взагалі.

Мета: визначити рівень плазмового остеопонтину у дітей з хронічним вірусним гепатитом В на тлі лімфобластного лейкозу в залежності від статі, вірусного навантаження та ступеню фіброзу.

Матеріали та методи дослідження: На диспансерному спостереженні в обласній дитячій інфекційній лікарні м. Вінниці, що є клінічною базою кафедри дитячих інфекційних хвороб, з січня 2016 р. по лютий 2017 р. знаходилась 41 дитина з ХГВ на тлі ГЛЛ, у віці від 3 до 17 років. Тривалість HBV – інфекції у хворих становила 2 роки.

Діти з діагнозом ХГВ на тлі гострого лімфобластного лейкозу в стадії ремісії склали основну групу. Слід зазначити, що діагноз ГЛЛ хворим виставляється згідно офіційної документації (заклучення) з онко-гематологічного відділення Вінницької обласної клінічної дитячої лікарні, де вони знаходились на диспансерному спостереженні (ВОКДЛ). Контрольну групу склали 20 здорових дітей.

Верифікація діагнозу ХГВ проводилась на підставі виявлення в крові хворих HBV – ДНК методом ПЛР (на тест системах ННФ «ДНК – технологія», Росія). Для визначення вірусного навантаження застосовано кількісний варіант полімеразної ланцюгової реакції, що визначає кількість вірусних частинок у 1 мл крові, де низьке вірусне навантаження становить ≤ 600.000 МО/мл, а високе > 600.000 МО/мл. Крім цього методом імуноферментного аналізу (ІФА) визначились антигени та антитіла (HBsAg, HBeAg, anti HBsAg, anti HBcAg, anti HBeAg) виробництва НВО – діагностична система (Нижній Новгород, Росія). Оцінка активності некро-запального процесу та ступеню фіброзу здійснювали за допомогою Fibrotest (лабораторія «Sinevo»), стадію фіброзу визначали по шкалі METAVIR.

Рівень ОПН в сироватці крові визначили методом імуноферментного аналізу (ІФА) набору Human Osteopontin Quantikine ELISA Kit згідно інструкціям виробника (R&D Systems, Dos Too, Minneapolis, MN, США) з мінімальним визначенням дози ОПН від 0,006 до 0,024 нг/мл.

Результати досліджень були статистично оброблені за допомогою параметричних (t-тест для вибірок з непов'язаними варіантами) і непараметричних (метод Манна – Уїтні) методів. Різницю вважали достовірною при досягнутому рівні достовірності $p < 0,05$. Дані наведені у вигляді середнього арифметичного і стандартної

помилки ($M \pm m$) в разі нормального розподілу. Ступінь взаємозв'язку між парами незалежних ознак, виражених у кількісній шкалі, оцінювали за допомогою коефіцієнта рангової кореляції Спірмана (R). Для визначення взаємозв'язку між сукупністю незалежних змінних (факторів) і залежною змінною, ґрунтуючись на результатах кореляційного аналізу та отриманих регресійних рівняннях при проведенні простої регресії, використовували множинний регресійний аналіз. Цифрові дані обробляли на персональному комп'ютері за допомогою прикладних комп'ютерних програм Microsoft Excel 2010, Statistica 6.0 (Stat Soft Inc. США).

Результати дослідження та їх обговорення: За віком досліджувальна група дітей розподілилась таким чином: діти від 3 до 6 р. становили 21,95% (9 дітей), від 6 до 9 р. – 24,39% (10 дітей), від 9 до 17 р. – 53,66% (22 дітей). Отже, переважну кількість хворих склали пацієнти старшої вікової групи від 9 до 17 років, середній вік дітей склав $9,91 \pm 0,71$ років. За статтю хворі розподілились наступним чином, хлопчики (24) склали 58,53%, дівчатка (17) – 41,47%, отже переважали хлопчики.

В процесі наукового дослідження визначили рівень сироваткового ОПН у хворих та здорових дітей. Встановлено, що рівень остеопонтіна у дітей з ХГВ на тлі ГЛЛ був достовірно вище ($275,66 \pm 22,32$ нг/мл), ніж у дітей контрольної групи ($92,65 \pm 7,31$ нг/мл) $p < 0,05$ (Табл. 1).

Таблиця 1

Плазмовий рівень остеопонтіна у хворих з ХГВ на тлі гострого лімфобластного лейкоза та в групі контролю ($M \pm m$)

Показник	Хворі на ХГВ + ГЛЛ (n=41)	Здорові (n=20)	p
Остеопонтін, нг/мл	$275,66 \pm 22,32$	$92,65 \pm 7,31$	$<0,05$

Дослідивши рівень остеопонтіну в залежності від віку, встановлено, що найвищі показники даного глікопротеїну виявлені у дітей наймолодшої вікової групи, від 3 до 6 років ($347,26 \pm 58,76$ нг/мл). Із збільшенням віку дітей рівень ОПН достовірно знижується. Так у дітей віком 6 – 9 років цей показник становив $311,87 \pm 52,89$ нг/мл, на відміну від пацієнтів 3 – 6 років ($p < 0,05$), у хворих 9 – 17 років рівень остеопонтіну ще більше знижувався і складав ($229,90 \pm 21,41$ нг/мл), що достовірно нижче, в порівнянні з молодшою групою пацієнтів ($347,26 \pm 58,76$ нг/мл) ($p < 0,05$) (Табл. 2). Отримані нами дані співпадають з даними літератури [15].

Таблиця 2

Рівень плазмового остеопонтіна у дітей з ХГВ на тлі гострого лімфобластного лейкоза в залежності від віку (M±m)

Вік / Показник	1	2	3	p<0,05
	від 3 до 6 років (n = 9)	від 6 до 9 років (n = 10)	від 9 до 17 років (n = 22)	
Остеопонтін, нг/мл	347,26±58,76	311,87±52,89	229,90±21,41	p1-3

Дослідивши рівень остеопоніну в залежності від статі встановлено, що даний показник майже однаковий як у хлопчиків (278,35±31,99 нг/мл), так і у дівчаток (271,85±30,44 нг/мл) (p>0,05), і не відрізняється від показника в загальній групі хворих (275,66±22,33 нг/л) (Табл. 3).

Таблиця 3

Рівень плазмового остеопонтіна у хворих з ХГВ на тлі лімфобластного лейкоза в залежності від статі (M±m)

Показник	Основна група (n = 41)	Хлопчики (n = 24)	Дівчатка (n = 17)	p<0,05
Остеопонтін, нг/мл	275,66±22,33	278,35 ± 31,99	271,85 ± 30,44	-

Слід зазначити, що у всіх досліджувальних хворих на момент обстеження загальний білірубін (ЗБ) та його фракції були в межах норми (показники ЗБ коливались від 4,32±1,21 до 18,25±1,65 мкмоль/л). Отримані дані відповідають даним літератури, адже у таких хворих на тлі онкопатології та імуносупресії при інфікуванні вірусами гепатиту В та С розвивається первино-хронічний гепатит, безжовтушна форма. Але слід зазначити, що всі без виключення пацієнти маючи нормальні показники білірубіна знаходились в стадії реплікації віруса і при цьому вірусне навантаження коливалось в межах $10^2 - 10^8$ МО/мл.

З'ясувавши розподіл хворих в залежності від вірусного навантаження встановлено, що у 65,86% (27) дітей хронічний вірусний гепатит В супроводжувався високим вірусним навантаженням > 600 000 МО/мл, у 34,14% (14) пацієнтів вірусне навантаження було ≤ 600 000 МО/мл (Табл. 4).

Визначивши рівень ОПН у даного контингенту хворих, встановлено, що як у дітей з низьким вірусним навантаженням (259,47±38,38 нг/мл), так і у дітей з високим (284,05±27,83 нг/мл) цей показник був достовірно вищим, в порівнянні зі здоровими

дітьми ($92,65 \pm 7,31$ нг/мл) ($p < 0,05$). Рівні плазмового ОПН у хворих з високим і низьким вірусним навантаженням суттєво не відрізнялись ($p > 0,05$).

Таблиця 4

Рівень плазмового остеопонтину у хворих з ХГВ на тлі ГЛЛ в залежності від величини вірусного навантаження ($M \pm m$)

Показник	1	2	3	$p < 0,05$
	Хворі з вірусним навантаженням $\leq 600,00$ МО/мл (n = 14)	Хворі з вірусним навантаженням $> 600,00$ МО/мл (n = 27)	Здорові (n = 20)	
Остеопонтин, нг/мл	$259,47 \pm 38,38$	$284,05 \pm 27,83$	$92,65 \pm 7,37$	p_{1-3} p_{2-3}

В процесі наукового дослідження встановлено, що лише у 13 дітей (31,70%) ХГВ на тлі ГЛЛ перебігав без фібротичних змін в печінці, тоді як у більшості дітей 28 (68,24%) досліджуваної групи гепатит супроводжувався фіброзом печінки різного ступеня вираженості. В майже в однаковій кількості дітей було виявлено фіброз печінки: F₁ – 14 хворих (34,15%) і F₂ – 13 хворих (31,70%), лише у 1 дитини діагностували фіброз печінки F₃. (Табл. 5)

Таблиця 5

Рівень ОПН у хворих з ХВГ на тлі ГЛЛ в залежності від ступеня фіброзу

Ступінь фіброзу	Остеопонтин, нг/мл
1. F0 (n = 13)	$169,61 \pm 21,19$
2. F1 (n = 14)	$214,58 \pm 14,49$
3. F2 (n = 13)	$432,33 \pm 30,59$
4. F3 (n = 1)	$472,52$
5. Здорові (n = 20)	$92,65 \pm 7,31$
$p < 0,05$	$p_{1-3}, p_{1-4}, p_{2-3}, p_{2-4}, p_{2-5}$

Згідно даних літератури ОПН є мультифункціональним цитокином, що сприяє клітинній імунній відповіді та відіграє важливу роль в хронічних запальних захворюваннях, а також є важливим компонентом ендо-плазматичного матриксу, який сприяє фіброзу печінки і виступає біомаркером його важкості [14]. Саме тому нашому дослідженні ми визначали цей показник у дітей з різною стадією фіброзу печінки за шкалою METAVIR.

Виявлено, що мінімальний рівень ОПН мав місце у дітей без фіброзу печінки F₀ ($169,61 \pm 21,19$ нг/мл) і був достовірно нижчим, порівняно з хворими з фіброзом F₂ ($432,39 \pm 30,59$ нг/мл) та F₃ – ($472,52$ нг/мл) ($p < 0,05$). Отже з наростанням ступеня

фіброзу зростає рівень остеопонтину крові. Так у дітей з фіброзом печінки F₂ рівень ОПН був достовірно вищим (432,33±30,59 нг/мл), на відміну від дітей з фіброзом F₁ (214,57±14,49 нг/мл) (p<0,05), а у дітей з фіброзом F₃ (472,52 нг/мл) рівень ОПН був достовірно вищим, ніж у дітей з F₁ (p<0,05) (див. Табл.5).

Визначивши рівень ОПН у хворих в залежності від стадії фіброзу, віку та ступеня вірусного навантаження, нами проведено кореляційний аналіз між досліджуваними показниками.

Так, виявлено зворотній кореляційний зв'язок ($r = - 0,291$, $p < 0,05$) між віком дітей та рівнем ОПН. Зі збільшенням віку хворих рівень остеопонтину зменшується. В процесі роботи встановлений позитивний кореляційний зв'язок із ступенем фібротичних змін в печінці та рівнем остеопонтину ($r = 0,577$, $p < 0,001$). Зі збільшенням ступеня фіброзу печінки збільшується рівень остеопонтину. Отримані нами дані співпадають з даними зарубіжної літератури.

Висновки

1. Однією із важливих проблем сьогодення є хронічні гепатити у дітей, які мають прогресуючий перебіг з розвитком значного фіброзу та цирозу печінки.

2. «Золотим» стандартом в діагностиці фіброзу у дорослих залишається біопсія печінки, в педіатрії – пункційна біопсія, є обмеженою в зв'язку з інвазивним характером, розвитком ускладнень. Виникла нагальна потреба пошуку нових неінвазивних методів діагностики фіброзу печінки у дітей.

3. Остеопонтін – новий плазмовий біомаркер запалення в печінці, який володіє профібротичною активністю завдяки його найвищій експресії в купферовських клітинах, макрофагах та зірчатих клітинах печінки.

4. У хворих з ХГВ на тлі гострого лімфобластного лейкозу рівень плазмового остеопонтину (275,66±22,32 нг/мл) достовірно вищий, в порівнянні зі здоровими (92,65±7,31нг/мл). Найвищі показники виявлені у дітей молодшої вікової групи – від 3 до 6 років (347,26±58,76 нг/мл). Із збільшенням віку дітей рівень остеопонтину знижується.

5. У 68,29% дітей з ХГВ на тлі лімфобластного лейкозу виявлені фібротичні зміни в печінці у вигляді фіброзу F₁ – у 14 (34,15%) дітей, F₂ – у 13 (31,7%) та F₃ – у 1 (2,44%) дитини.

6. Зі збільшенням ступеня фіброзу печінки достовірно збільшується рівень остеопонтину (при F₁ – 214,57±14,49 нг/мл, при F₂ – 432,39±30,59 нг/мл, при F₃ –

472,52 нг/мл) ($p < 0,05$), що підтверджується позитивним кореляційним зв'язком між ступенем фібротичних змін в печінці та рівнем остеопонтіна ($r = 0,577$, $p < 0,001$).

Література:

1. Abeer M.N., Hala I.M. Hussien, Heba F.P., Naglaa A.M. (2011) Clinical Utility of Plasma Osteopontin in HCV-Related Chronic Liver Disease Patients // Medical journal of Cairo University, Vol. 79, No. 1, June 233-236.

2. Березенко В.С. (2007). Клініко-патогенетичні особливості фіброгенезу печінки при хронічних гепатитах у дітей та шляхи його медикаментозної корекції: Автореф. дис... д-ра мед. наук, 37.

3. Березенко В. С., Царьова О. В. (2016). Характеристика фіброзу печінки у дітей з хронічним вірусним гепатитом с за окремими прямими та непрямими маркерами , Вісник морфології, Т. 22, № 1, 113-117.

4. Hind I. Fallatah (2014) Noninvasive Biomarkers of liver fibrosis: an overview. // Advances in Hepatology. – Vol. 2014. – 15p.

5. Huang W., Zhu G., Huang M., Lou G., Liu Y., Wang S. (2010) Plasma osteopontin concentration correlates with the severity of hepatic fibrosis and inflammation in HCV-infected subjects // Clin Chim Acta. – May 2; 411(9-10): 675-8.

6. Golubovska O. (2017) Local situation in Ukraine. // 3rd Central and Eastern European Meeting on Viral Hepatitis and Co-infection with HIV, 27-28 September 2017, Ljubljana, Slovenia / Reviews in Antiviral therapy & Infectious Diseases 2017.

7. Kelleher T.B., Afdhal N. Noninvasive assessment of liver fibrosis (2005) // Clin. Liver Diseases. – Vol. 9, № 4. – p. 667-683.

8. Крамарев С.А., Дорошенко В.А., Воронов А.А., Евтушенко В.В., Килимнюк Г.И., Шайда Е.В., Агафонкина Н.М. (2016). Вирусные гепатиты В и С у детей с онкогематологической патологией. Актуальная инфектология, № 1(10), 53 – 58.

9. Крючко Т.О., Несін І.М. (2012) Сучасні аспекти діагностики та терапії хронічного вірусного гепатиту при вірусній етіології у дітей / Дитячий лікар. - № 8. - стор. 29-33.

10. Mack C.L., Gonzalez-Peralta R.P., Gupta N. et al. (2012). NASPGHAN practice guidelines: Diagnosis and management of hepatitis C infection in infants, children, and adolescents // J. Pediatr Gastroenterol. Nutr., № 54 (6). – 838-55.

11. Павлов Ч.С., Ивашкин В.Т. (2007). Как оценить и снизить риск возникновения фиброза, цирроза и гепатоцеллюлярной карциномы у пациентов с

хронической инфекцией вирусами гепатита В и С // Российский журнал гастро-энтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2007. – Т. 17. – №. 5. – С. 16-24.

12. Павлов Ч.С. (2009) Фиброз печени с хроническим вирусным гепатитом В и С: автореферат. дис. доктор мед. наук / Ч.С.Павлов. М., 2009. - 49 с.

13. Пирогова И.Ю. (2012) Диагностика фиброза печени у пациентов с хроническим гепатитом В и С и его клиническое значение: Автореферат дис. Доктор мед. Наук / И.Ю. Пирогова, 2012 – 29р.

14. Q. Ashton Acton (2013) Liver Fibrosis: New Insights for the Healthcare Professional: 2013 Edition. // Scholarly Editions. – 95p.

15. Samy A.H., Saleh S.A., Abdella H.M. (2015) Plasma osteopontin as a biomarker test in predicting liver fibrosis in Genotype 4 Chronic Hepatitis C infected patients // International Journal of Microbiology and Immunology Research Vol. 3(3), pp. 036-044.

16. Sase S.P., Ganu J.V., Nagane N. (2012) Osteopontin: a novel protein molecule // Indian Medical Gazette. – Feb. 2012. – p. 62-66.

17. Шадрін О.Г., Магомедов О.О., Чернега Н.Ф., Басараба Н.М., Дюкарева С.В., Ковальчук А.А. (2014). Деякі маркери регенерації печінки у дітей раннього віку з уродженим і хронічним гепатитом // Здоровье ребенка. - № 5, p. 7-12.

18. Shang S., Plymoth FA., Shaokui Ge, Feng Z., Rosen H.R., Sangrajrang S., Hainaut P., Marrero J.A., Baretta L. (2012) Identification of Osteopontin as a novel marker for early hepatocellular carcinoma // Hepatology. – Vol. 55, No. 2. – p. 483-490.

19. Trépo C., Chan H.L., Lok A. (2014) Hepatitis B virus infection // Lancet, 384 (9959), p. 2053-2063.

20. Weber G.F., Lett G.S., Haubein N.C. (2011) Categorical meta-analysis of osteopontin as a clinincal cancer marker // Oncology Reports 25: p. 433-441.

21. WHO Global hepatitis report, 2017.

22. Yazici O., Sendur M.A.N., Aksoy S. (2014). Hepatitis C virus reactivation in cancer patients in the era of targeted therapies // World J. Gastroenterol. № 20 (22). – p. 6716-24.

23. Ziol M., Handra-Luca A., Kettaneh A. et al. (2005) Non-invasive assessment of liver fibrosis by stiffness measurement: a prospective multicentre study in patients with chronic hepatitis C // Hepatology. – Vol. 41, № 1. – p. 48-54.

References:

1. Abeer M.N., Hala I.M. Hussien, Heba F.P., Naglaa A.M. (2011) Clinical Utility of Plasma Osteopontin in HCV-Related Chronic Liver Disease Patients // Medical journal of Cairo University, Vol. 79, No. 1, June 233-236.
2. Berezenko V.S. (2007). Kliniko-patohenetychni osoblyvosti fibrohenezu pechinky pry khronichnykh hepatytkh u ditey ta shlyakhy yoho medykamentoznoyi korektsiyi [Clinical and pathogenetic features of liver fibrogenesis in chronic hepatitis in children and ways of its medical correction]: Avtoref. dys. d-ra med. nauk. – 37p.
3. Berezenko V. S., Tsar'ova O. V. (2016). Kharakterystyka fibrozu pechinky u ditey z khronichnym virusnym hepatytom s za okremymy pryamymy ta nepryamymy markeramy [Characteristics of liver fibrosis in children with chronic viral hepatitis with separate direct and indirect markers] // Visnyk morfolohiyi, T. 22, № 1, p. 113-117.
4. Hind I. Fallatah (2014) Noninvasive Biomarkers of liver fibrosis: an overview. // Advances in Hepatology. – Vol. 2014. – 15p.
5. Huang W., Zhu G., Huang M., Lou G., Liu Y., Wang S. (2010) Plasma osteopontin concentration correlates with the severity of hepatic fibrosis and inflammation in HCV-infected subjects // Clin Chim Acta. – May 2; 411(9-10): 675-8.
6. Golubovska O. (2017) Local situation in Ukraine. // 3rd Central and Eastern European Meeting on Viral Hepatitis and Co-infection with HIV, 27-28 September 2017, Ljubljana, Slovenia / Reviews in Antiviral therapy & Infectious Diseases 2017.
7. Kelleher T.B., Afdhal N. Noninvasive assessment of liver fibrosis (2005) // Clin. Liver Diseases. – Vol. 9, № 4. – p. 667-683.
8. Kramarev S.A., Doroshenko V.A., Voronov A.A., Yevtushenko V.V., Kilimnyuk G.I., Shayda E.V., Agafonkina N.M. (2016). Virusnyye gepatity V i S u detey s onkogematologicheskoy patologiyey. [Viral hepatitis B and C in children with oncohematological pathology] // Aktual'naya infektologiya, № 1(10), p. 53 – 58.
9. Kryuchko T.O., Nesin I.M. (2012) Suchasni aspekty diahnostryky ta terapiyi khronichnoho virusnoho hepatytu pry virusniy etiolohiyi u ditey (Modern aspects of diagnosis and therapy of chronic viral hepatitis in viral etiology in children) / Dytyachyy likar. - № 8. - p. 29-33.
10. Mack C.L., Gonzalez-Peralta R.P., Gupta N. et al. (2012). NASPGHAN practice guidelines: Diagnosis and management of hepatitis C infection in infants, children, and adolescents // J. Pediatr Gastroenterol. Nutr., № 54 (6). – 838-55.

11. Pavlov C.S., Ivashkin V.T. (2007). Kak otsenit' i snizit' risk razvitiya fibroza, tsirroza i gepatotsellyulyarnoy kartsinomy u patsiyentov s khronicheskoy infektsiyey s gepatitom B i C (How to assess and reduce the risk of fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma in patients with chronic infection with viruses hepatitis B and C) // ROS. zhurnal. gastroenterol., gepatol. i koloproktal'. - T. 17, № 5. - s. 16-24.
12. Pavlov, C.S. Fibroz pecheni s khronicheskim virusnym gepatitom V i S: avtoreferat. dis. Doktor med. Nauk (Fibrosis of the liver with chronic viral hepatitis B and C: author's abstract. dis. Dr. med. Sciences) / C.S. Pavlov. M., 2009. - 49s.
13. Pirogova I.Y. (2012) Diagnostika fibroza pecheni u patsiyentov s khronicheskim gepatitom V i S i yego klinicheskoye znachenie: Avtoreferat dis. Doktor med. Nauk (Diagnosis of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B and C and its clinical significance : Author's abstract dis. Dr. med. Sciences) / I.Y. Pirogova, 2012 - 29 s.
14. Q. Ashton Acton (2013) Liver Fibrosis: New Insights for the Healthcare Professional: 2013 Edition. // Scholarly Editions. – 95p.
15. Samy A.H., Saleh S.A., Abdella H.M. (2015) Plasma osteopontin as a biomarker test in predicting liver fibrosis in Genotype 4 Chronic Hepatitis C infected patients // International Journal of Microbiology and Immunology Research Vol. 3(3), pp. 036-044.
16. Sase S.P., Ganu J.V., Nagane N. (2012) Osteopontin: a novel protein molecule // Indian Medical Gazette. – Feb. 2012. – p. 62-66.
17. Shadrin O.G., Magomedov O.O., Chernega N.F., Basaraba N.M., Dyukareva S.V., Kovalchuk A.A. (2014). Deyaki markery reheneratsiyi pechinky v ditey rann'oho viku z urodzhenym i khronichnym hepattytom. [Some markers of regeneration of the liver in the early morning of the ugly creature and chronic hepatitis] // Zdorov'e rebenka. - № 5, p. 7-12.
18. Shang S., Plymoth FA., Shaokui Ge, Feng Z., Rosen H.R., Sangrajrang S., Hainaut P., Marrero J.A., Baretta L. (2012) Identification of Osteopontin as a novel marker for early hepatocellular carcinoma // Hepatology. – Vol. 55, No. 2. – p. 483-490.
19. Trépo C., Chan H.L., Lok A. (2014) Hepatitis B virus infection // Lancet, 384 (9959), p. 2053-2063.
20. Weber G.F., Lett G.S., Haubein N.C. (2011) Categorical meta-analysis of osteopontin as a clinincal cancer marker // Oncology Reports 25: p. 433-441.
21. WHO Global hepatitis report, 2017.
22. Yazici O., Sendur M.A.N., Aksoy S. (2014). Hepatitis C virus reactivation in cancer patients in the era of targeted therapies // World J. Gastroenterol. № 20 (22). – p. 6716-24.

23. Ziol M., Handra-Luca A., Kettaneh A. et al. (2005) Non-invasive assessment of liver fibrosis by stiffness measurement: a prospective multicentre study in patients with chronic hepatitis C // *Hepatology*. – Vol. 41, № 1. – p. 48-54.