

Незгода Ірина Іванівна,
доктор медичних наук, професор,
завідувачка кафедри дитячих інфекційних хвороб,
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова
nezgoda59@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-7925-3398>
м. Вінниця, Україна

Онофрійчук Олена Сергіївна,
кандидат медичних наук, Ph.D.,
доцент кафедри дитячих інфекційних хвороб,
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова
doktor5652@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-5172-1666>
м. Вінниця, Україна

Демчишин Ярослав Михайлович,
Ph.D. з медицини, асистент кафедри дитячих інфекційних хвороб,
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова
yardemchyshyn@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9816-8260>
м. Вінниця, Україна

Фік Леся Олександрівна,
кандидат медичних наук,
доцент кафедри пропедевтики дитячих захворювань та доглядом за хворими дітьми,
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова
t001182@vntu.edu.ua
<https://orcid.org/0000-0002-8958-4844>
м. Вінниця, Україна

Роль ендотеліальної дисфункції у виникненні та прогресуванні фіброзу печінки у дітей із хронічними вірусними гепатитами В і С

У статті представлено наукові дані про сучасні механізми ендотеліальної дисфункції, а також особливості рівня Arg-1, як маркера фіброзу печінки, у дітей з хронічними вірусними гепатитами В і С. Досліджено роль Arg-1, як маркера ендотеліальної дисфункції.

Мета дослідження: визначити рівень Arg-1, як маркера ендотеліальної дисфункції, у дітей, хворих на ХГВ та ХГС залежно від ступеня фіброзних змін паренхіми печінки.

Матеріал і методи: обстежено 30 пацієнтів з діагнозом хронічних вірусних гепатитів В і С (середній вік – 12,26±0,69 років). Усім хворим проводили збір анамнезу, загальноклінічне обстеження, визначення ступеня фіброзу печінки з використанням Fibrotest. Рівень Arg-1 визначали методом ELISA. Аналіз даних проводили за допомогою програмного забезпечення “Statistica 8.0”, “DataTab”, “R-Studio”. Достовірність різниці даних встановлювали за допомогою парного t-тесту Стьюдента. Різницю вважали достовірною при $p < 0,05$.

Результати: у обстежених пацієнтів основної групи рівень Arg-1 був достовірно вищим (101,03±4,52 нг/мл) порівняно з дітьми контрольної групи (71,34±7,91 нг/мл) ($p < 0,01$). Рівень Arg-1 у дітей основної групи з онкологічними захворюваннями був вищим (107,62±6,08 нг/мл), порівняно з дітьми без даного фактора (92,4±6,23 нг/мл). Рівень Arg-1 був достовірно вищим у пацієнтів основної групи із фіброзними змінами печінки на рівні F0-1 (112,37±7,07 нг/мл; $p < 0,001$), ≥F2 (94,03±5,23 нг/мл; $p < 0,05$) порівняно із контрольною групою (71,34±7,91 нг/мл). Рівень Arg-1 був достовірно вищим у дітей із ступенем фіброзних змін F0-1 порівняно із пацієнтами із змінами ≥F2 ($p < 0,05$). У хворих I групи виявлено кореляційний зв'язок між рівнем Arg-1 та ступенем фіброзу печінки ($R = -0,54$; $p = 0,002$).

Висновок: Arg-1 – інноваційний маркер, який розкриває та характеризує роль ендотеліальної дисфункції, як додаткового механізму виникнення та прогресування фіброзу печінки у дітей із хронічними вірусними гепатитами В та С.

Ключові слова: ендотеліальна дисфункція, маркери фіброгенезу (аргіназа-1), діти, хронічні вірусні гепатити В і С, фіброз печінки.

Nezgoda Iryna Ivanivna, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Pediatric Infectious Diseases, National Pirogov Memorial Medical University, nezgoda59@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-7925-3398>, Vinnitsya, Ukraine

Onofriichuk Olena Serhiivna, Candidate of Medical Sciences, Ph.D., Associate Professor at the Pediatric Infectious Diseases Department, National Pirogov Memorial Medical University, doktor5652@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-5172-1666>, Vinnitsya, Ukraine

Demchyshyn Yaroslav Mykhailovych, Ph.D., Assistant at the Pediatric Infectious Diseases Department, National Pirogov Memorial Medical University, yademchyshyn@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9816-8260>, Vinnitsya, Ukraine

Fik Lesia Oleksandrivna, Candidate of Medical Sciences, Associate Professor at the Department of Propedeutics of Pediatric Diseases with Patient Care, National Pirogov Memorial Medical University, t001182@vnm.edu.ua, <https://orcid.org/0000-0002-8958-4844>, Vinnitsya, Ukraine

The role of endothelial dysfunction in the development and progression of liver fibrosis in children with chronic viral hepatitis B and C

The article presents scientific data about modern mechanisms of endothelial dysfunction, as well as features of the level of Arg-1 as a marker of liver fibrosis in children with chronic viral hepatitis B and C. The role of Arg-1 as a marker of endothelial dysfunction was studied.

The purpose of the study: to determine the level of Arg-1, as a marker of endothelial dysfunction, in children with chronic viral hepatitis B and C depending on the degree of fibrous changes of the liver parenchyma.

Material and methods: 30 patients with diagnosed of chronic viral hepatitis B and C were examined (mean – 12,26±0,69 years). All patients underwent anamnesis collection, general clinical examination, determination of the degree of liver fibrosis using Fibrotest. The level of Arg-1 was determined by the ELISA. Data analysis was performed using the software “Statistica 8.0”, “DataTab”, “R-Studio”. The reliability of the data difference was established using the Student’s paired t-test. The difference was considered significant at $p < 0.05$.

Results: in the examined patients of the main group, the level of Arg-1 was significantly higher (101,03±4,52 ng/ml) compared to the children of the control group (71,34±7,91 ng/ml) ($p < 0,01$). The level of Arg-1 in children of the main group with oncological diseases was higher (107,62±6,08 ng/ml), compared to children without this factor (92,4±6,23 ng/ml). The level of Arg-1 was significantly higher in patients of the main group with fibrotic liver changes at the level of F0-1 (112,37±7,07 ng/ml; $p < 0,001$), ≥F2 (94,03±5,23 ng/ml; $p < 0,05$) compared to the control group (71,34±7,91 ng/ml). The level of Arg-1 was significantly higher in children with the degree of fibrotic changes F0-1 compared with patients with changes ≥F2 ($p < 0,05$). In I group of patients, a correlation between the level of Arg-1 and the degree of liver fibrosis was detected ($R = -0,54$; $p = 0,002$).

Conclusion: Arg-1 is an innovative marker that reveals and characterizes the role of endothelial dysfunction as an additional mechanism of the occurrence and progression of liver fibrosis in children with chronic viral hepatitis B and C.

Key words: endothelial dysfunction, marker of fibrogenesis (arginase-1), children, chronic viral hepatitis B and C, liver fibrosis.

Вступ. На сучасному етапі хронічні вірусні гепатити В (ХГВ) та С (ХГС) стали важливою медико-соціальною проблемою дитячої гепатології, адже вони підвищують показники інвалідизації дитячого населення та підвищують економічне навантаження на системи охорони здоров'я загалом. У більшості випадків ХГС у дітей має безсимптомний перебіг, однак у 4–6% дітей реєструється прогресування клінічної маніфестації з розвитком фіброзу та цирозу печінки [1]. Подібна тенденція реєструється й серед дітей, хворих на ХГВ. Варто зазначити, що швидкість формування прогресуючого перебігу ХГВ та ХГС у пацієнтів дитячого віку визначається патофізіологічними особливостями та динамікою процесу фіброгенезу печінки. Темпи прогресування фіброзу печінки є індивідуальними і визначаються багатьма факторами [2]. Дослідження ролі нових механізмів фіброгенезу печінки (ендотеліальна дисфункція, дисфункція екстрацелюлярного матриксу печінки, участь ліпідного компоненту у процесах дес-табілізації матриксу та ін.), пошук нових маркерів неінвазивної лабораторної діагностики фіброзу (наприклад, білок, що зв'язує жирні кислоти (FABP-1-L), хрящовий глікопротеїн (YKL-40), аргіназа-1 (Arg-1)) є актуальними питаннями, що допоможуть покращити аспект менеджменту дітей із ХГВ та ХГС.

Потенційним маркером, що дозволяє характеризувати фіброзні зміни печінки виступає Arg-1. Arg-1 є важливим маркером, який сьогодні вивчається науковцями з метою з'ясування особливостей механізмів фіброгенезу через ендотеліальну дисфункцію. Специ-

фічна для макрофагів експресія Arg-1 сприяє індукції запалення, фіброзу та загоєнню ран шляхом посилення синтезу L-проліну, поліаміну та Th2-активуючих цитокінів [3]. Arg1 є цитозольним ензимом, який конститутивно експресується в печінці, де він бере участь у елімінації азоту шляхом каталізації гідролізу аргініну до сечовини та орнітину. Синтез сечовини елімінує надлишок азоту з організму, тоді як L-орнітин може бути включеним у біохімічні процеси синтезу поліамінів, глутамату та L-проліну, останній з яких є вагомим компонентом у процесі біосинтезу колагену [3].

Встановлено, що Arg-1 пригнічує синтез NO за допомогою кількох потенційних механізмів, включаючи конкуренцію з NO-синтазою (NOS) за субстрат L-аргінін, роз'єднання NOS, що призводить до утворення поглинача NO, супероксиду та пероксинітриду, депресія трансляції і стабільність iNOS, інгібування активності iNOS через утворення сечовини та сенсibiliзацію NOS до його ендогенного інгібітора (асиметричний диметил-L-аргінін). Підвищена регуляція Arg-1 додатково пригнічує ендотеліальний iNOS-опосередкований синтез NO і може сприяти ендотеліальній дисфункції. Варто зазначити, що Arg-1 оптимізує метаболізм L-аргініну на L-орнітин з утворення поліамінів і L-проліну, які необхідні для неопроліферативних процесів та синтезу колагену [4].

Грунтуючись на результатах Kitowska K. et al., було підтверджено, що виснаження рівня L-аргініну внаслідок підвищення експресії Arg-1 може впливати на функції клітин декількома способами. По-перше, різке

зниження вільного L-аргініну призводить до зниження його біодоступності для NOS, що призводить до зниження біосинтезу NO. Було також продемонстровано, що знижений рівень NO призводить до проліферації клітин гладких м'язів і судин, що характерно для процесів фіброгенезу. По-друге, посилене утворення L-орнітину Arg-1 підвищує біодоступність поліамінів і L-проліну, необхідних регуляторів проліферації клітин і синтезу колагену [5].

Таким чином, дослідження активності Arg-1 серед дітей із ХГВ та ХГС є новим напрямком досліджень у розумінні ендотеліальної дисфункції, як додаткового механізму прогресування фіброзу печінки [6].

Мета: визначити рівень Arg-1, як маркера ендотеліальної дисфункції, у дітей, хворих на ХГВ та ХГС залежно від ступеня фіброзних змін паренхіми печінки.

Матеріали та методи. У процесі наукового дослідження було обстежено 30 пацієнтів з підтвердженими діагнозами хронічних вірусних гепатитів В і С віком від 5 до 17 років (середній вік – $12,26 \pm 0,69$ років), які сформували основну групу, а також 15 практично здорових дітей віком від 5 до 17 років (середній – $11,47 \pm 0,67$ років), які сформували контрольну групу, у період з жовтня 2020 р. по жовтень 2023 р. У 50% ($n=15$) обстежених основної групи встановлено діагноз хронічного вірусного гепатиту В, у іншій половині пацієнтів (50%; $n=15$) – підтверджено хронічний вірусний гепатит С. Усі пацієнти із хронічними вірусними гепатитами В і С перебували під динамічним спостереженням на базі КНП «Вінницька обласна клінічна дитяча інфекційна лікарня Вінницької обласної ради» та кафебри дитячих інфекційних хвороб ВНМУ ім. М.І. Пирогова, м. Вінниця. Діагнози ХГВ та ХГС були підтвердженими за допомогою детекції специфічних лабораторних маркерів з використанням методів ІФА та ПЛР. Динамічне спостереження за пацієнтами із ХГВ та ХГС проводилось відповідно чинних Стандартів надання медичної допомоги дітям на вірусні гепатити В та С. Під час обстеження всім пацієнтам проводили збір анамнезу, загальноклінічний огляд, визначення ступеня фіброзу печінки неінвазивним методом (Fibrotest). Тракування результатів Fibrotest проводилось за уніфікованою методикою із дотриманням рекомендацій MayoClinic щодо стратифікації ступеня фіброзних змін паренхіми печінки. Загальний рівень Arg-1 визначали за допомогою ELISA (Human ARG1 (Arginase-1) ELISA Kit (FineTest, China)). Методика виявлення Arg-1 методом ІФА затверджена виробником (FineTest, Китай). Контрольну групу склали практично здорові діти, які під час клінічного обстеження та у анамнезі не мали ознак ураження печінки, вірусних гепатитів В і С, медикаментозного гепатиту, токсичного гепатиту, порушень обміну речовин та метаболічних порушень, ожиріння та спадкових уражень гепатобіліарної зони. Аналіз отриманих даних проводили за допомогою програмного забезпечення «Statistica 8.0», «DataTab», «R-Studio» із застосуванням методів описивної статистики. Достовірність різниці даних між групами порівняння була встановлена за допомогою парного t-тесту Стьюдента. Дослідження виконано відповідно до принципів, стандартів і норм

місцевих етичних нормативних протоколів та Принципів Гельсінської декларації. Усі пацієнти та їхні батьки надали інформовану згоду (ICF) про участь у даному дослідженні.

Результати та їх обговорення. У ході аналітико-синтетичного процесу наукового дослідження обстежено 30 хворих із ХГВ та ХГС (I група) та 15 практично здорових дітей (II група). Варто зазначити, що серед дітей I групи 50,0% ($n=15$) становили пацієнти з діагнозом ХГВ, а також 50,0% ($n=15$) – з ХГС (табл. 1). Поряд із тим, встановлено, що середній вік обстежених дітей із ХГВ становив $11,0 \pm 0,89$ років, а дітей з ХГС – $13,53 \pm 0,96$ років, відповідно. Серед обстежених дітей основної групи переважали хлопчики – 60,0% ($n=18$), дівчатка – 40,0% ($n=12$). Поряд із цим, додатково проведений аналіз розподілу обстежених пацієнтів основної групи за віковими групами: до першої вікової групи (до 6 років) належали 6,7% ($n=2$) обстежених, до другої (від 6 до 9 років) – 10,0% ($n=3$), до третьої групи (від 9 до 17 років) – 83,3% ($n=25$) дітей (табл. 1). Середній вік практично здорових дітей становив – $11,47 \pm 0,67$ років. Варто зазначити, що серед обстежених II групи переважали хлопчики – 53,3% ($n=8$) (табл. 1).

Серед обстежених пацієнтів основної групи, які включені у дослідження, встановлено, що ступінь фіброзних змін паренхіми печінки на рівні F0-F1, за даними Fibrotest, діагностовано у 36,6% ($n=11$) пацієнтів, а $\geq F2$ – у 63,4% ($n=19$) дітей, відповідно.

У всіх обстежених пацієнтів основної та контрольної групи визначали рівень аргінази-1 (Arg-1; Human ARG1 (Arginase-1) ELISA Kit (FineTest, China)).

Встановлено, що у пацієнтів основної групи ($n=30$) рівень Arg-1 був достовірно вищим ($101,03 \pm 4,52$ нг/мл) порівняно з пацієнтами контрольної групи ($n=15$) – $71,34 \pm 7,91$ нг/мл ($p < 0,01$).

Поряд із тим, у хворих на ХГВ ($n=15$) рівень Arg-1 становив – $94,67 \pm 6,38$ нг/мл, а у дітей із діагностованим ХГС ($n=15$) – $107,38 \pm 6,19$ нг/мл ($p > 0,05$).

Також визначено розподіл рівня Arg-1 залежно від ступеня фіброзу печінки (за даними Fibrotest) (табл. 2).

Проаналізувавши розподіл рівня Arg-1 залежно від ступеня фіброзу печінки з урахуванням даних Fibrotest та рекомендацій MayoClinic, встановлено, що рівень Arg-1 був достовірно вищим у хворих основної групи із фіброзними змінами печінки на рівні F0-1 ($112,37 \pm 7,07$ нг/мл), а також $\geq F2$ ($94,03 \pm 5,23$ нг/мл) порівняно із контрольною групою ($71,34 \pm 7,91$ нг/мл). Поряд із тим, активність Arg-1 у дітей із F0-1 була вищою, аніж у дітей із виразним фіброзом печінки ($\geq F2$), що свідчить про прогресування ендотеліальної дисфункції, як додаткового механізму фіброгенезу у дітей із ХГВ та ХГС, а також демонструє аспект додаткового виснаження компенсаторних механізмів, що стабілізують метаболічну роль даного ензиму у регуляції функціональної активності печінки ($p < 0,05$) (табл. 2).

Отже, у процесі наукового дослідження встановлено, що у дітей основної групи рівень Arg-1 знижувався із прогресуванням фіброзних змін паренхіми печінки (за результатами Fibrotest).

Таблиця 1

Розподіл пацієнтів досліджуваної та контрольної груп залежно від статі та віку (%)

Параметри	Основна група (n=30)				Контрольна група (n=15)	
	Пацієнти з ХГВ (n=15)		Пацієнти з ХГС (n=15)		абс.	%
	абс.	%	абс.	%		
Середній вік (років)	11,0±0,89		13,53±0,96		11,47±0,67	
Стать:						
хлопчики	9	60,0	9	60,0	8	53,3
дівчатка	6	40,0	6	40,0	7	46,7
Вікова група:						
до 6 років	2	13,3	-	-	-	-
від 6 до 9 років	1	6,7	2	13,3	2	13,3
від 9 до 17 років	12	80,0	13	86,7	13	86,7

Таблиця 2

Рівень Arg-1 у пацієнтів основної та контрольної груп залежно від ступеню фіброзу печінки (M±m)

Лабораторний показник	Ступінь фіброзу печінки		Контрольна група (n=15)
	F0-F1 (n=11)	≥F2 (n=19)	
Аргіназа-1, нг/мл	112,37±7,07 ^{###}	94,03±5,23 ^{*#}	71,34±7,91

Примітка:

* – існує вірогідна різниця між даними дітей із фіброзними змінами печінки на рівні F0-1 та ≥F2 при p<0,05;

– існує достовірна різниця між даними порівняно з контрольною групою при p<0,05;

– існує достовірна різниця між даними порівняно з контрольною групою при p<0,01;

– існує достовірна різниця між даними порівняно з контрольною групою при p<0,001.

Поряд із аналізом дистрибутивних характеристик рівня Arg-1 залежно від ступеню фіброзних змін, визначено особливості активності даного ензиму у обстежених пацієнтів залежно від обтяженого коморбідного фактору онкологічним захворюванням у анамнезі. Варто зазначити, що рівень Arg-1 у дітей I групи із коморбідним онкологічним захворюванням (n=17) був вищим – 107,62±6,08 нг/мл, порівняно з дітьми без даного фактора (n=13) – 92,4±6,23 нг/мл (p>0,05).

Крім того, у процесі наукового дослідження встановлені особливості кореляційних зв'язків між рівнем Arg-1 та ступенем фіброзу печінки. Відзначено, що між рівнем Arg-1 та ступенем фіброзу печінки за даними Fibrotest виявлено достовірний зворотній кореляційний зв'язок середньої сили (R=-0,54; p=0,002).

Висновки

1. Аргіназа-1 (Arg-1) на сучасному етапі досліджується науковцями, як інноваційний маркер, який розкриває та характеризує роль ендотеліальної дисфункції, як додаткового механізму виникнення та прогресування фіброзу печінки у дітей із ХГВ та ХГС.

2. Рівень Arg-1 був достовірно вищим у пацієнтів із хронічними вірусними гепатитами В і С –

101,03±4,52 нг/мл, порівняно з пацієнтами контрольної групи – 71,34±7,91 нг/мл (p<0,01).

3. У дітей основної групи із коморбідним онкологічним захворюванням рівень Arg-1 був вищим – 107,62±6,08 нг/мл, порівняно з дітьми основної групи без даного фактора – 92,4±6,23 нг/мл.

4. У дітей основної групи рівень Arg-1 знижувався із прогресуванням фіброзних змін паренхіми печінки, що засвідчено достовірно вищою активністю Arg-1 у дітей із F0-1, аніж у дітей із виразним фіброзом печінки (≥F2) (p<0,05). Рівень Arg-1 достовірно вищий у хворих основної групи із фіброзними змінами паренхіми печінки за даними Fibrotest на рівні F0-1 (112,37±7,07 нг/мл; p<0,001), ≥F2 (94,03±5,23 нг/мл; p<0,05) порівняно із контрольною групою (71,34±7,91 нг/мл).

5. У обстежених дітей основної групи встановлений кореляційний зв'язок між рівнем Arg-1 та ступенем фіброзу печінки (R=-0,54; p=0,002).

Перспективи подальших досліджень. У процесі подальших наукових досліджень може бути актуальним визначення активності Arg-1 у дітей із ХГВ та ХГС у поєднанні із детермінацією активності ізоформ NOS та рівня NO, як додаткових маркерів, що характеризують ендотеліальну дисфункцію.

Інформація про конфлікт інтересів. Конфлікту інтересів авторів в дослідженні немає.

Інформація про фінансування. Автори гарантують, що не отримували винагороду у будь-якій формі, здатних вплинути на результати наукового дослідження.

Особистий внесок кожного автора у виконанні наукового дослідження:

Незгода І.І. – особистий внесок автора полягає в клініко-лабораторному обстеженні пацієнтів, аналізі отриманих даних їх статистичній обробці, підготовці рукопису статті, оформленні роботи до друку;

Онофрійчук О.С. – особистий внесок автора полягає у проведенні анкетування хворих, клініко-лабораторному обстеженні пацієнтів, статистичній обробці даних та інтерпретації отриманих результатів, оформленні статті до друку;

Демчишин Я.М. – особистий внесок автора полягає у проведенні анкетування хворих, клініко-лабораторному обстеженні хворих, статистичній обробці даних та інтерпретації отриманих результатів, підготовці рукопису статті;

Фік Л.О. – особистий внесок автора полягає у проведенні клінічних обстежень пацієнтів, статистичній обробці даних та інтерпретації отриманих результатів, оформленні статті до друку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Modin, L., Arshad, A., Wilkes, B., Benselin, J., Lloyd, C., Irving, W. L., & Kelly, D. A. (2019). Epidemiology and natural history of hepatitis C virus infection among children and young people. *Journal of hepatology*, 70(3), 371–378.
2. Sun, Y., Wu, X., Zhou, J., Meng, T., Wang, B., Chen, S., ... & You, H. (2020). Persistent low level of hepatitis B virus promotes fibrosis progression during therapy. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 18(11), 2582-2591.
3. Pesce JT, Ramalingam TR, Mentink-Kane MM, Wilson MS, El Kasmi KC, et al. (2009) Arginase-1–Expressing Macrophages Suppress Th2 Cytokine–Driven Inflammation and Fibrosis. *PLoS Pathog* 5(4): e1000371. doi:10.1371/journal.ppat.1000371
4. Durante W, Johnson FK, Johnson RA. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2007 Sep;34(9):906-11. doi: 10.1111/j.1440-1681.2007.04638.x. PMID: 17645639; PMCID: PMC1955221
5. Kitowska, K., Zakrzewicz, D., Konigshoff, M., Chrobak, I., Grimminger, F., Seeger, W., ... & Eickelberg, O. (2008). Functional role and species-specific contribution of arginases in pulmonary fibrosis. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 294(1), L34-L45
6. Nezghoda, I., & Demchyshyn, Ya. (2023). Modern diagnostic markers of liver fibrosis in children with chronic viral hepatitis B and C. *Suchasna medytsyna, farmatsiia ta psykhologichne zdorovia*, (2 (11)), 12–17.