

ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΓΕΝΙΚΟ ΝΟΣΟΚΟΜΕΙΟ «ΑΤΤΙΚΟΝ»
Β΄ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΗΣ ΥΠΕΡΗΧΟΓΡΑΦΙΚΗΣ 2-DIMENSIONAL
SHEAR WAVE ΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΣΤΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ
ΗΠΑΤΙΚΗΣ ΙΝΩΣΗΣ ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ**

ΓΑΛΗΝΑ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ
ΙΑΤΡΟΣ ΑΚΤΙΝΟΔΙΑΓΝΩΣΤΡΙΑ

ΑΘΗΝΑ 2021

Ημερομηνία έναρξης διατριβής: 22/7/2016

Ημερομηνία υποστήριξης διατριβής: 08/04/2021

Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής

1) **ΕΥΘΥΜΙΑ ΑΛΕΞΟΠΟΥΛΟΥ (επιβλέπων)**

Καθηγήτρια Παιδοακτινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

2) **ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΚΕΛΕΚΗΣ**

Καθηγητής Ακτινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

3) **ΣΟΥΛΤΑΝΑ ΣΙΑΧΑΝΙΔΟΥ**

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας, Α Παιδιατρική Κλινική, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Μέλη Επταμελούς Εξεταστικής Επιτροπής

1) **ΕΥΘΥΜΙΑ ΑΛΕΞΟΠΟΥΛΟΥ (επιβλέπων)**

Καθηγήτρια Παιδοακτινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

2) **ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΚΕΛΕΚΗΣ**

Καθηγητής Ακτινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

3) **ΣΟΥΛΤΑΝΑ ΣΙΑΧΑΝΙΔΟΥ**

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Παιδιατρικής-Νεογνολογίας, Α Παιδιατρική Κλινική, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών,

4) **ΧΡΙΣΤΙΝΑ ΚΑΝΑΚΑ ΓΚΑΝΤΕΜΠΕΪΝ**

Καθηγήτρια Παιδιατρικής, Α Παιδιατρική Κλινική, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

5) **ΑΘΑΝΑΣΙΟΣ ΜΙΧΟΣ**

Αναπληρωτής Καθηγητής Παιδιατρικής-Λοιμωξιολογίας, Α Παιδιατρική Κλινική, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

6) **ΣΤΑΥΡΟΣ ΣΠΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ**

Αναπληρωτής Καθηγητής Ακτινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

7) **ΟΛΥΜΠΙΑ ΠΑΠΑΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ**

Επίκουρη Καθηγήτρια Ακτινολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών

Δημοσιεύσεις βασιζόμενες στα αποτελέσματα της μελέτης:

Galina P, Alexopoulou E, Zellos A et al (2019) Performance of two-dimensional ultrasound shear wave elastography: reference values of normal liver stiffness in children. *Pediatr Radiol* 49:91-98.

Galina P, Alexopoulou E, Mentessidou A et al (2021) Diagnostic accuracy of two-dimensional shear wave elastography in detecting hepatic fibrosis in children with autoimmune hepatitis, biliary atresia, and other chronic liver diseases. *Pediatr Radiol* DOI: 10.1007/s00247-020-04959-9

*Στον σύζυγό μου Κώστα
και στον γιο μου Γιάννη
για την αμέριστη υποστήριξη και συμπαράσταση*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω όλους εκείνους που συνέβαλαν άμεσα ή έμμεσα στην επιτυχή ολοκλήρωση της διατριβής.

Καταρχάς θα ήθελα να εκφράσω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στην επιβλέπουσα αυτής της Διδακτορικής Διατριβής, Καθηγήτρια της Παιδοακτινολογίας κα Έφη Αλεξοπούλου για την πολύτιμη και πολύπλευρη υποστήριξη της καθώς και για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθ' όλη την πορεία της εκπόνησης της μελέτης αυτής. Την ευγνωμονώ για την συμπαράστασή της σε όλο αυτό το ταξίδι γνώσης.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να απευθύνω στον κ. Νικόλαο Κελέκη, Καθηγητή Ακτινολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών, του οποίου η επιστημονική βοήθεια ήταν καθοριστική στην εκπόνηση αυτής της μελέτης ως μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής. Η συμβολή του υπήρξε άκρως σημαντική για την ολοκλήρωση της διατριβής.

Οφείλω επίσης ένα μεγάλο ευχαριστώ στην κα Σουλτάνα Σιαχανίδου, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια της Παιδιατρικής-Νεογνολογίας στην Α Παιδιατρική Κλινική του Πανεπιστημίου Αθηνών, μέλος της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, που μου έδειξε αμέριστη συμπαράσταση σε όλη τη διάρκεια αυτής της μελέτης. Την ευχαριστώ ιδιαίτερα για τον καταλυτικό και ενθαρρυντικό της ρόλο στον να ξεκινήσει αυτή η διατριβή.

Απευθύνω εκ βάθους καρδιάς τις πιο θερμές ευχαριστίες μου σε όλους τους παιδίατρος και παθολογοανατόμους του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία» που έχουν στηρίξει ένθερμα την πορεία της μελέτης, χωρίς αυτούς θα ήταν αδύνατη η εκπόνηση της.

Οφείλω, επίσης, ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους τους συναδέλφους μου στο Ακτινολογικό Τμήμα του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία» που συνέβαλαν είτε πρακτικά με το να μειώνουν τον καθημερινό φόρτο εργασίας, είτε ψυχικά με τις παραινέσεις τους στην ολοκλήρωση της μελέτης μου.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα επίσης να εκφράσω στη Συντονίστρια Διευθύντρια του Ακτινολογικού Τμήματος του Νοσοκομείου Παίδων «Η Αγία Σοφία» κα Μαρία Ζαρίφη για την αμέριστη υποστήριξη και ενθάρρυνση όχι μόνο κατά την εκπόνηση αυτής της διδακτορικής διατριβής, αλλά και στη μέχρι τώρα πορεία μου στην Παιδιατρική Ακτινολογία.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένειά μου για την απεριόριστη υπομονή της και ιδιαιτέρως στον σύζυγό μου Κώστα Σαλπασαράνη, που ανέλαβε και πραγματοποίησε με μεγάλη προθυμία την συνολική στατιστική επεξεργασία των δεδομένων αυτής της μελέτης, η προσπάθεια του αποτέλεσε τον σημαντικότερο παράγοντα για την επιτυχή ολοκλήρωσή της.

Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	8
ABSTRACT.....	10
I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	12
1. ΧΡΟΝΙΕΣ ΗΠΑΤΟΠΑΘΕΙΕΣ ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ	13
1.1. Είδη χρόνιων ηπατοπαθειών στα παιδιά.....	13
1.2. Ηπατική ίνωση: κύρια επιπλοκή των χρόνιων ηπατοπαθειών	14
1.3. Ηπατική ίνωση: παθογένεια.....	14
1.4. Αξιολόγηση και αναστρεψιμότητα ηπατικής ίνωσης.....	16
2. ΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ	17
2.1. Ορισμός-είδη ελαστογραφίας	17
2.2. 2-Dimensional-Shear Wave Ελαστογραφία: Βασικές αρχές	19
2.3. 2-Dimensional-Shear Wave Ελαστογραφία: Τεχνική εξέτασης.....	24
2.4. Two-Dimensional-Shear Wave Ελαστογραφία: δυνατότητα επίτευξης και αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου (feasibility and reproducibility)	25
2.5. Two-Dimensional-Shear Wave Ελαστογραφία: παράγοντες που επηρεάζουν τις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας (confounding factors)	26
II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	28
1. ΣΚΟΠΟΣ.....	29
2. ΟΜΑΔΕΣ ΜΕΛΕΤΗΣ- ΜΕΘΟΔΟΙ.....	30
2.1. Ομάδα παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ	30
2.1.1. Πρωτόκολλο εξέτασης με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία	31
2.1.2. Μεθοδολογία μελέτης με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία των παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ	34
2.2. Ομάδες ασθενών-ασθενειών	35
2.2.1. Ομάδα ελέγχου-μάρτυρες (control group)	37
2.2.2. Πρωτόκολλο εξέτασης με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία	37
2.2.3. Ηπατική βιοψία	38
3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ.....	39
3.1. Στατιστική επεξεργασία δεδομένων ομάδας παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ	39
3.2. Στατιστική επεξεργασία δεδομένων των ομάδων ασθενών-ασθενειών	40
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	42
4.1. Αποτελέσματα ομάδας παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ.....	42
4.2. Αποτελέσματα ομάδων ασθενών-ασθενειών	51
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	71
5.1. Παιδιά με φυσιολογικό ήπαρ.....	72
5.2. Παιδιά με χρόνιες ηπατοπάθειες	78
5.3. Περιορισμοί της μελέτης	85
6. Συμπεράσματα	87
Βιβλιογραφία.....	89

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Εισαγωγή: Η 2-Dimensional (2-D) Shear Wave ελαστογραφία είναι μια καινούργια υπερηχογραφική μέθοδος για την μη επεμβατική αξιολόγηση της ελαστικότητας (stiffness) του ηπατικού παρεγχύματος. Η ίνωση στις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες είναι ο κύριος καθοριστικός παράγοντας που διαμορφώνει την ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος. Επιπλέον, άλλοι παράγοντες, που σχετίζονται με διάφορες ασθένειες και συνήθως δεν λαμβάνονται υπόψη σε μελέτες με την ηπατική ελαστογραφία, όπως η φλεγμονή και η χολόσταση, μπορούν να επηρεάσουν την ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος.

Σκοπός: Ο σκοπός αυτής της μελέτης ήταν: 1) ο καθορισμός τιμών της ελαστικότητας του φυσιολογικού ηπατικού παρεγχύματος με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία στα παιδιά, και 2) η αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας στην εκτίμηση της ηπατικής ίνωσης των παιδιών με χρόνιες ηπατοπάθειες, ελέγχοντας ταυτόχρονα την πιθανή επίδραση διαφόρων παραγόντων στην ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος, που σχετίζονται με την ασθένεια και τον ασθενή.

Υλικό και μέθοδοι: Μελετήθηκαν με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία 202 παιδιά χωρίς ηπατική νόσο, από τη νεογνική έως την εφηβική ηλικία, τα οποία χωρίστηκαν σε 4 ηλικιακές ομάδες: νεογέννητα και βρέφη, παιδιά προσχολικής ηλικίας, πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης και έφηβοι. Διερευνήσαμε την επίδραση της ηλικίας, του βάθους της μέτρησης της ελαστογραφίας, του ηχοβολέα, του αριθμού των μετρήσεων ανά παιδί, του μεγέθους του ήπατος και των παραμέτρων Doppler της ηπατικής ροής του αίματος στις τιμές ελαστικότητας του ήπατος.

Τα παιδιά με χρόνιες ηπατοπάθειες μελετήθηκαν σε 3 διαφορετικές ομάδες ασθενειών: 1) διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες, 2) αυτοάνοση ηπατίτιδα και 3) ατρησία χοληφόρων. Το ιστολογικό σύστημα METAVIR χρησιμοποιήθηκε για την σταδιοποίηση της ηπατικής ίνωσης και για την αξιολόγηση της ενεργότητας της φλεγμονής. Χρησιμοποιήθηκε πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση για την αξιολόγηση της σχέσης μεταξύ των μετρήσεων της ελαστικότητας του ήπατος και παραγόντων που σχετίζονται με την ασθένεια. Η διαγνωστική ακρίβεια της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας για την πρόβλεψη των σταδίων ίνωσης αξιολογήθηκε υπολογίζοντας την περιοχή κάτωθεν της καμπύλης.

Αποτελέσματα: Η μέση τιμή φυσιολογικής ηπατικής ελαστικότητας στον πληθυσμό της μελέτης ήταν: 4.29 ± 0.59 kilopascals (kPa). Στα νεογνά και βρέφη η μέση τιμή ηπατικής ελαστικότητας ήταν $4.63 (\pm 0.6)$ kPa, στα παιδιά προσχολικής ηλικίας και

πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης $4.05 (\pm 0.57)$ kPa και $4.15 (\pm 0.52)$ kPa αντίστοιχα, και στους εφήβους $4.39 (\pm 0.55)$ kPa. Οι τιμές της ηπατικής ελαστικότητας των νεογνών και βρεφών, όπως, επίσης και των εφήβων ήταν στατιστικά σημαντικά υψηλότερες συγκριτικά με αυτές των παιδιών προσχολικής ηλικίας και πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης (Kruskal-Wallis, $P < 0.001$; Mann-Whitney U tests, $P < 0.05$). Δεν διαπιστώθηκε σημαντική στατιστική συσχέτιση των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας με το μέγεθος του δεξιού ηπατικού λοβού ή με τις Doppler παραμέτρους της ηπατικής ροής. Τα διαφορετικά βάρη και ο αριθμός των ελαστογραφικών μετρήσεων δεν είχαν καμία επίδραση στις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας.

Στην ομάδα με τις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες [$n=32$, 7.1 ± 4.9 (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση) έτη] η μέση τιμή ηπατικής ελαστικότητας ήταν 8.9 ± 5.0 (μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση) kPa, στην ομάδα της αυτοάνοσης ηπατίτιδας ($n=33$, 8.1 ± 4.4 έτη) 7.1 ± 2.7 kPa, και στην ομάδα της ατρησίας χοληφόρων ($n=19$, 0.2 ± 0.1 έτη) 19.7 ± 15.2 kPa. Οι τιμές της ηπατικής ελαστικότητας ήταν διαφορετικές για τα διάφορα στάδια ίνωσης κατά METAVIR σε όλες τις ομάδες ασθενειών. Οι υψηλότερες τιμές διαπιστώθηκαν στην ατρησία χοληφόρων για τα στάδια ίνωσης $\geq F2$ ($F2: 12.4 \pm 1.6$ kPa, $F3: 17.8 \pm 2$ kPa, $F4: 41.5 \pm 12.4$ kPa). Η ηπατική ελαστικότητα σχετίστηκε σημαντικά μόνο με την ίνωση ($P < 0.0001$) στην ομάδα με τις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες, με τη φλεγμονώδη ενεργότητα ($P < 0.0001$) και την ίνωση ($P = 0.002$) στην αυτοάνοση ηπατίτιδα και με την ηλικία ($P < 0.0001$), την ίνωση ($P < 0.0001$) και την χολόσταση ($P = 0.009$) στην ατρησία χοληφόρων. Τα βέλτιστα κατώφλια διάγνωσης για τη διάκριση της ικανής ίνωσης ($\geq F3$) ήταν τα 16 kPa στην ατρησία χοληφόρων (περιοχή κάτωθεν της καμπύλης 0.98, ευαισθησία 87.5%, ειδικότητα 96.7%) και τα 8.7 kPa στις άλλες χρόνιες ηπατοπάθειες (περιοχή κάτωθεν της καμπύλης 0.98, ευαισθησία 93.8%, ειδικότητα 96.1%).

Συμπεράσματα: Η 2-dimensional (2-D) shear wave ελαστογραφία είναι εφικτή ως μέθοδος σε ευρύ ηλικιακό φάσμα στα παιδιά. Είναι μια αξιόπιστη μέθοδος για την αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης στις χρόνιες ηπατοπάθειες των παιδιών. Εκτός από την ίνωση, η ενεργότητα της φλεγμονής στην αυτοάνοση ηπατίτιδα και η ηλικία μαζί με την χολόσταση στην ατρησία χοληφόρων θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη.

ABSTRACT

Background Two-dimensional (2-D) shear wave elastography is a new sonographic elastography method for noninvasive measurement of liver stiffness. Fibrosis is the main determinant of liver stiffness and other disease-related factors usually disregarded in studies on liver elastography, such as inflammation and cholestasis, may influence liver stiffness.

Objective The aim of this study was 1) to establish reference values of normal liver stiffness on two-dimensional shear wave elastography in children, and 2) to evaluate the accuracy of two-dimensional shear wave elastography in assessing liver fibrosis in children with chronic liver disease by controlling for the confounding role of several disease- and patient-related factors.

Materials and methods Two-dimensional shear wave elastography values were measured in 202 children with no liver disease from the neonatal period to puberty, who were divided into 4 age groups: newborns and infants, preschoolers, elementary school children and adolescents. We investigated the effects of age, depth of elastography measurement, transducer, number of measurements per child, liver size and Doppler parameters of hepatic blood flow on liver elasticity values.

Three disease groups were studied: 1) various chronic liver diseases, 2) autoimmune hepatitis, and 3) biliary atresia. METAVIR score was used for fibrosis staging and grading of necroinflammatory activity. Multiple linear regression was used to evaluate the relationship between liver stiffness measurements and disease-related factors. The diagnostic accuracy of elastography for predicting fibrosis stages was assessed by calculating the area under the receiver-operating characteristic curves.

Results. The mean normal liver elasticity value in the study population was: 4.29 ± 0.59 kilopascals (kPa). In neonates and infants, mean liver elasticity value was $4.63 (\pm 0.6)$ kPa, in preschoolers and elementary school children, $4.05 (\pm 0.57)$ kPa and $4.15 (\pm 0.52)$ kPa, respectively, and in adolescents, $4.39 (\pm 0.55)$ kPa. Values in neonates and infants as well as adolescents were significantly higher than in preschoolers and elementary school children (Kruskal-Wallis, $P < 0.001$; Mann-Whitney U tests, $P < 0.05$). There was no significant association between liver elasticity values and size of the right lobe or Doppler parameters of hepatic blood flow. Different depths and the number of elastography measurements had no effect on liver elasticity values.

'Various chronic liver diseases' group [$n=32$; 7.1 ± 4.9 (mean \pm standard deviation) years] showed liver stiffness of 8.9 ± 5.0 (mean \pm standard deviation) kPa, 'autoimmune

hepatitis' group (n=33; 8.1±4.4 years) of 7.1±2.7 kPa, and 'biliary atresia' group (n=19; 0.2±0.1 years) 19.7±15.2 kPa. Liver stiffness measurements differed across METAVIR fibrosis categories in all disease groups. The highest values were found in biliary atresia, at fibrosis stages ≥F2 (F2: 12.4±1.6 kPa; F3: 17.8±2 kPa; F4: 41.5±12.4 kPa). Liver stiffness was strongly associated only with fibrosis ($P<0.0001$) in various chronic liver diseases, with necroinflammatory activity ($P<0.0001$) and fibrosis ($P=0.002$) in autoimmune hepatitis, and with age ($P<0.0001$), fibrosis ($P<0.0001$) and cholestasis ($P=0.009$) in biliary atresia. Optimal cut-offs for detecting advanced fibrosis (\geq F3) were 16 kPa (area under curve, 0.98; sensitivity, 87.5%; specificity, 96.7%) in biliary atresia and 8.7 kPa (area under curve, 0.98; sensitivity, 93.8%; specificity, 96.1%) in other chronic liver diseases.

Conclusion Two-dimensional shear wave elastography is achievable in a wide range of age in children. Two-dimensional shear wave elastography is reliable in assessing liver fibrosis in children with chronic liver diseases. Except fibrosis, inflammatory activity in autoimmune hepatitis, and age and cholestasis in biliary atresia should be considered.

I. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΧΡΟΝΙΕΣ ΗΠΑΤΟΠΑΘΕΙΕΣ ΣΤΗΝ ΠΑΙΔΙΑΤΡΙΚΗ ΗΛΙΚΙΑ

1.1. Είδη χρόνιων ηπατοπαθειών στα παιδιά

Οι χρόνιες ηπατοπάθειες της παιδικής ηλικίας είναι σύνηθες αίτιο νοσηρότητας και θνησιμότητας. Ο όρος χρόνια ηπατική νόσο συνεπάγεται μια μακροχρόνια μη αναστρέψιμη αλλαγή στην ηπατική δομή που μπορεί να καταλήξει σε επιπλοκές όπως η κίρρωση που οδηγεί σε πρόωρο θάνατο. Οι χρόνιες ηπατοπάθειες της παιδικής ηλικίας συνιστούν ευρύτερο φάσμα ασθενειών από εκείνο των ενηλίκων, διότι εκτός από τα ιογενούς ή αυτοάνοσης αιτιολογίας ηπατικά νοσήματα, στην παιδική ηλικία εκδηλώνεται, επιπλέον, μεγάλος αριθμός μεταβολικών, γενετικών ή ανατομικής αιτιολογίας ηπατικών παθήσεων [1]. Το φάσμα των παιδιατρικών παθήσεων του ήπατος, ειδικά εκείνων γενετικής και μεταβολικής αιτιολογίας, παρουσιάζει διακυμάνσεις με βάση τη γεωγραφική εντόπιση [2]. Επιπλέον, η αιτιολογία των χρόνιων ηπατοπαθειών στα παιδιά καθορίζεται από την ηλικία εκδήλωσης. Στα νεογνά και στα βρέφη στο πρώτο έτος ζωής τα πιο συχνά αίτια χρόνιων ηπατοπαθειών αποτελούν οι διαταραχές νεογνικής χολόστασης (όπως η ατρησία των χοληφόρων, η νεογνική ηπατίτιδα, το σύνδρομο Alagille, η οικογενής ενδοηπατική χολόσταση) καθώς και τα μεταβολικά νοσήματα (όπως οι γλυκογονιάσεις, η γαλακτοζαιμία, η τυροσιναιμία). Ακολουθούν η ανεπάρκεια A1 αντιθρυψίνης, η συγγενής ηπατική ίνωση και η κύστη χοληδόχου πόρου [2]. Στα μεγαλύτερα παιδιά τα πιο συχνά αίτια χρόνιων ηπατοπαθειών είναι η αυτοάνοση ηπατίτιδα, η χρόνια ιογενής ηπατίτιδα C και B, η νόσος Wilson, η κυστική ίνωση και η σκληρυντική χολαγγειίτιδα [2,3]. Τα τελευταία χρόνια, η μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος παρουσιάζει αυξημένη επίπτωση στον παιδιατρικό πληθυσμό, με μέση συχνότητα εμφάνισης 7,65% στο γενικό παιδιατρικό πληθυσμό και 34% στα παχύσαρκα παιδιά [4]. Σε ποσοστό 5-15% των παιδιών με κίρρωση ήπατος δεν ανευρίσκεται το αίτιο (κρυπτογενής κίρρωση) [5].

1.2. Ηπατική ίνωση: κύρια επιπλοκή των χρόνιων ηπατοπαθειών

Η ηπατική ίνωση αποτελεί την κύρια επιπλοκή των χρόνιων ηπατοπαθειών και είναι αποτέλεσμα επαναλαμβανόμενης ή παρατεταμένης ηπατικής φλεγμονής από ποικίλα αίτια, με σοβαρές μακροπρόθεσμες συνέπειες λόγω της πιθανής εξέλιξης σε κίρρωση. Οι κύριες επιπλοκές της κίρρωσης είναι η πυλαία υπέρταση, οι αιμορραγία κιστών, το ηπατονεφρικό σύνδρομο, η ασκίτική συλλογή, η ηπατική εγκεφαλοπάθεια και η ηπατική ανεπάρκεια [6,7].

Βλάβη είτε των ηπατοκυττάρων σε παρεγχυματική ηπατική νόσο είτε του επιθηλίου των χοληφόρων στα χολοστατικά νοσήματα αποτελεί απαραίτητη προϋπόθεση για την ενεργοποίηση του μηχανισμού φλεγμονής και κατά συνέχεια της ίνωσης από διάφορα αίτια, όπως: ιογενή, μεταβολικά και αυτοάνοσα νοσήματα, το αλκοόλ, οι τοξικοί παράγοντες, τα φάρμακα και η καρδιακή συμφόρηση [8].

1.3. Ηπατική ίνωση: παθογένεια

Η ηπατική ίνωση είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης διαφόρων τύπων κυττάρων, όπως μακροφάγων, μυοϊνοβλαστών και επιθηλιακών κυττάρων. Το αποτέλεσμα είναι η συσσώρευση ινιδίων κολλαγόνων (κυρίως τύπου I και III) επί εδάφους αλλαγών στη σύνθεση, την δομή και την ποσότητα της εξωκυττάριας ουσίας [9].

Σε κυτταρικό επίπεδο το κεντρικό γεγονός στην ανάπτυξη της ηπατικής ίνωσης αποτελεί η ενεργοποίηση των ηπατικών αστεροειδών κυττάρων [8]. Τα αστεροειδή κύτταρα είναι μεσεγχυματικά κύτταρα, που εντοπίζονται στο χώρο του Disse μεταξύ του ενδοθηλίου των ηπατικών κολποειδών και της άκρης των ηπατοκυττάρων. Τα αστεροειδή κύτταρα βρίσκονται σε στενή γεινίαση με τη φυσιολογική βασική μεμβράνη της εξωκυττάριας ουσίας. Η φυσιολογική εξωκυττάρια ουσία αποτελείται από κολλαγόνο τύπου IV, προσκολλητικές γλυκοπρωτεΐνες, και πρωτεογλυκάνες. Στην οξεία και χρόνια ηπατική βλάβη τα αστεροειδή κύτταρα ενεργοποιούνται - μετατρέπονται (transdifferentiation) από αδρανή κύτταρα (quiescent cell) σε μυοϊνοβλάστες. Η ενεργοποίηση αυτών των κυττάρων σε μυοϊνοβλάστες σχετίζεται με την παραγωγή ινιδίων κολλαγόνων, ελαστίνης και πρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας [9,10]. Η ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων επηρεάζεται από ένα πλήθος κυτοκινών και αυξητικών παραγόντων (PDGF, FGF, TGF- α , TGF β 1) με αποτέλεσμα τη δημιουργία ινογένεσης και ουλής. Ενώ, παλαιότερες μελέτες θεωρούσαν ότι οι μηχανισμοί ενεργοποίησης των αστεροειδών κυττάρων ήταν οι ίδιοι για όλα τα νοσήματα, είναι τώρα σαφές ότι υπάρχουν ειδικοί μηχανισμοί ίνωσης εξαρτώμενοι

από τη νόσο [11], όπως για παράδειγμα έχει παρατηρηθεί στην μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος [12]. Επιπλέον, μηχανισμοί ανοσίας και φλεγμονής διαφόρων τύπων κυττάρων (όπως μακροφάγα, Β κύτταρα, δενδριτικά κύτταρα, επιθηλιακά κύτταρα κ.α.) είναι σημαντικοί για την ενεργοποίηση των αστεροειδών κυττάρων, καθένας από τους οποίους ενεργοποιείται από την ηπατική βλάβη και μπορεί είτε να προάγει είτε να αναστείλει την ίνωση [13,14].

Κατά την ανάπτυξη της ίνωσης η φυσιολογική εξωκυττάρια ουσία (κολλαγόνο τύπου IV) σταδιακά αποδομείται και αντικαθίσταται προοδευτικά από ίνες κολλαγόνου τύπου I και III. Αυτή η συσσώρευση ινιδίων κολλαγόνου προκαλεί τριχοειδοποίηση των ηπατικών κολλοειδών, η οποία αυξάνεται περισσότερο μέχρι να συνδεθούν μεταξύ τους οι αγγειακές δομές και να διαταραχθεί σημαντικά η αρχιτεκτονική του ήπατος [15]. Επιπλέον, οι αλλαγές της εξωκυττάριας ουσίας κατά την ανάπτυξη της ίνωσης αφορούν και την ποσότητα της εκτός των αλλαγών στη σύνθεση και τη δομή της. Συγκεκριμένα, στο κίρρωτικό ήπαρ, συγκριτικά με το υγιές, έχει παρατηρηθεί ότι η ποσότητα κολλαγόνου και γλυκοζοαμινογλυκανών αυξάνεται κατά 4 έως 7 φορές [15]. Τα ενεργοποιημένα αστεροειδή κύτταρα ενισχύουν την έκφραση αναστολέων των μεταλλοπρωτεϊνών (TIMPs) [16] καθώς και χημειοτακτικών και αγγειοδραστικών παραγόντων. Οι μεταλλοπρωτεϊνάσες (MMPs) παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποδόμηση των μακρομορίων της εξωκυττάριας ουσίας. Ο σημαντικότερος αναστολέας των μεταλλοπρωτεϊνών, TIMP-1, εμποδίζει τις ενδογενείς ενέργειες ενός ευρέως φάσματος μεταλλοπρωτεϊνών για αποδόμηση της εξωκυττάριας ουσίας με αποτέλεσμα τον σχηματισμό ουλών. Ο ίδιος αναστολέας TIMP-1 μπορεί επίσης να προάγει τον πολλαπλασιασμό των μυοϊνοβλαστών και να εμποδίσει την αποπρωσσή τους [9].

Ενώ οι μελέτες της ηπατικής ίνωσης επικεντρώνονται στους ενδογενείς μηχανισμούς των ηπατικών κυττάρων, είναι σημαντικό να ειπωθεί ότι η ίνωση επηρεάζεται και από εξωηπατικά ερεθίσματα, συμπεριλαμβανομένων των σημάτων που προέρχονται από το έντερο, τους μυς, το λιπώδη ιστό καθώς και από συστηματικά αγγειακά νοσήματα [8]. Χαρακτηριστικά παραδείγματα εξωηπατικών ερεθισμάτων στον μηχανισμό της ηπατικής ίνωσης αποτελούν οι ενδοτοξίνες εντέρου, που έχουν ενοχοποιηθεί στην παθογένεια της ηπατικής ίνωσης στη μη αλκοολική ηπατική νόσο και στα χολοστατικά νοσήματα, η αντίσταση στη ινσουλίνη και το μεταβολικό σύνδρομο, καθώς και οι αγγειακές διαταραχές στο σύνδρομο Budd-Chiari και στην καρδιακή συμφόρηση [8].

1.4. Αξιολόγηση και αναστρεψιμότητα ηπατικής ίνωσης

Η ακριβής αξιολόγηση και ποσοτικοποίηση της ηπατικής ίνωσης καθώς και η αξιόπιστη διάγνωση της κίρρωσης είναι ζωτικής σημασίας στην θεραπευτική αντιμετώπιση των χρόνιων ηπατοπαθειών [17,18]. Επιπλέον, οι μέχρι τώρα μελέτες σε ενήλικες με διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες (όπως αιμοχρωμάτωση, ηπατίτιδα C και B, μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος, αυτοάνοση ηπατίτιδα) έχουν δείξει ότι η ηπατική ίνωση και σε μερικές περιπτώσεις ακόμη και η κίρρωση μπορεί να είναι αναστρέψιμες με την κατάλληλη θεραπευτική αντιμετώπιση [19 -24]. Λίγες μελέτες όσον αφορά την αυτοάνοση ηπατίτιδα στα παιδιά αναφέρουν ότι η ηπατική ίνωση και η πρώιμη κίρρωση μπορεί να είναι αναστρέψιμες μετά από κατάλληλη και έγκαιρη θεραπευτική αντιμετώπιση [25,26]. Βελτίωση της κίρρωσης έχει αναφερθεί σε ασθενείς με νόσο του Wilson μετά από θεραπεία με πενικιλλαμίνη [27] και σε μερικούς ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα B και C μετά τη χορήγηση αντιικών παραγόντων [28,29].

Η βιοψία ήπατος παραμένει η «gold standard» μέθοδος για την αξιολόγηση του βαθμού της ίνωσης του ήπατος πριν και μετά τη θεραπεία στις χρόνιες ηπατοπάθειες [30,31]. Όμως, η ηπατική βιοψία έχει αρκετούς περιορισμούς, όπως το ότι είναι επεμβατική μέθοδος με πιθανότητα επιπλοκών και ότι στα παιδιά γίνεται μόνο με γενική αναισθησία [32-34]. Επιπλέον, η διαγνωστική ακρίβεια της ηπατικής βιοψίας έχει αμφισβητηθεί λόγω διαφόρων παραγόντων, όπως το περιορισμένο μέγεθος των δειγμάτων της ηπατικής βιοψίας, ο ημιποσοτικός προσδιορισμός της ίνωσης, η υποκειμενικότητα στα διάφορα συστήματα διαβάθμισης της ίνωσης καθώς και η περιορισμένη επαναληψιμότητα της μεθόδου [35]. Λόγω αυτών των περιορισμών η ηπατική βιοψία δεν αποτελεί την πιο κατάλληλη μέθοδο για την παρακολούθηση μιας χρόνιας ηπατικής νόσου.

Η μη επεμβατική αξιολόγηση του βαθμού της ηπατικής ίνωσης με εναλλακτικές μεθόδους αποτελεί πεδίο μελέτης τα τελευταία χρόνια, οδηγώντας στην εισαγωγή νέων τεχνολογιών, όπως η 2 Dimensional-Shear Wave Ελαστογραφία, που αποτελεί την πιο σύγχρονη υπερηχογραφική και πολλά υποσχόμενη μέθοδο ελαστογραφίας για την αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης [36-37].

2. ΕΛΑΣΤΟΓΡΑΦΙΑ

2.1. Ορισμός-είδη ελαστογραφίας

Η ελαστογραφία είναι μια μη επεμβατική μέθοδος που χρησιμοποιείται για την εκτίμηση της ελαστικότητας (stiffness) των ιστών διαφόρων οργάνων, όπως το ήπαρ. Ο όρος “ελαστογραφία” χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στην αρχή της τελευταίας δεκαετίας του 20^{ου} αιώνα. Η εφαρμογή της ελαστογραφίας βασίζεται στο ότι σε αντίθεση με άλλες φυσικές παραμέτρους, η ελαστικότητα των ιστών είναι η μόνη παράμετρος που επηρεάζεται σε τόσο σημαντική έκταση από την επίδραση φυσιολογικών ή παθολογικών διεργασιών [38]. Όταν μια εξωγενής δύναμη εφαρμόζεται σε έναν ιστό, αυτός παραμορφώνεται περισσότερο ή λιγότερο ανάλογα με την ελαστικότητά του. Ο λιγότερο ελαστικός ιστός παραμορφώνεται λιγότερο, όταν υπόκειται σε εξωτερική δύναμη. Οι διάφορες τεχνικές ελαστογραφίας μετρούν την μετατόπιση- παραμόρφωση του ιστού, όταν υποβάλλεται σε εξωτερική δύναμη. Στις χρόνιες ηπατοπάθειες, καθώς εξελίσσεται η ίνωση, ο ιστός του ήπατος γίνεται πιο σκληρός, λιγότερο ελαστικός. Έτσι, η δυσκαμψία του ήπατος θεωρείται δείκτης της σοβαρότητας της ίνωσης του ήπατος [36,39].

Πολλές τεχνικές ελαστογραφίας έχουν αναπτυχθεί, με την πιο δημοφιλή και ευρέως εφαρμοσμένη στην κλινική πράξη να είναι η υπερηχογραφική ελαστογραφία [40]. Η υπερηχογραφική ελαστογραφία διακρίνεται 1) **στην ελαστογραφία τάσης (strain)**, η οποία βασίζεται στην παραμόρφωση του ιστού, που προκαλείται είτε από την πίεση της επιφάνειας του σώματος είτε από εσωτερική φυσιολογική κίνηση (μετρά τη διαμήκη μετατόπιση) και 2) **στην ελαστογραφία εγκάρσιου κύματος – Shear Wave** (η οποία μετρά την ταχύτητα διάδοσης των εγκάρσιων κυμάτων, που παράγεται στον ιστό όταν εφαρμόζεται εξωτερική δύναμη). Με βάση το είδος του παλμού που δημιουργεί τα εγκάρσια κύματα, η Shear Wave ελαστογραφία διακρίνεται α) **στην παροδική (Transient) ελαστογραφία** (όπου ένα μηχανικό ερέθισμα εφαρμόζεται στον ιστό) και β) **στην ελαστογραφία με τεχνικές ακουστικής κρουστικής δύναμης ακτινοβολίας -acoustic radiation force impulse (ARFI)**, όπου το ερέθισμα που παραμορφώνει τον ιστό είναι ένας ακουστικός "παλμός ώθησης", που παράγεται από τον ηχοβολέα του υπερηχογραφικού μηχανήματος. Η ελαστογραφία με τεχνικές ARFI διακρίνεται στην **point Shear Wave ελαστογραφία**, στην οποία η ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος υπολογίζεται σε μια περιοχή ενδιαφέροντος-region of interest (ROI) και στην **πολυδιάστατη Shear Wave ελαστογραφία**, όπως η **2 Dimensional-**

Shear Wave Ελαστογραφία, στην οποία παράγεται μια έγχρωμη εικόνα, το ελαστόγραμμα, που αποτελεί την περιοχή ενδιαφέροντος-region of interest (ROI). Στην έγχρωμη περιοχή ενδιαφέροντος (ελαστόγραμμα) υπολογίζεται η ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος [40,41].

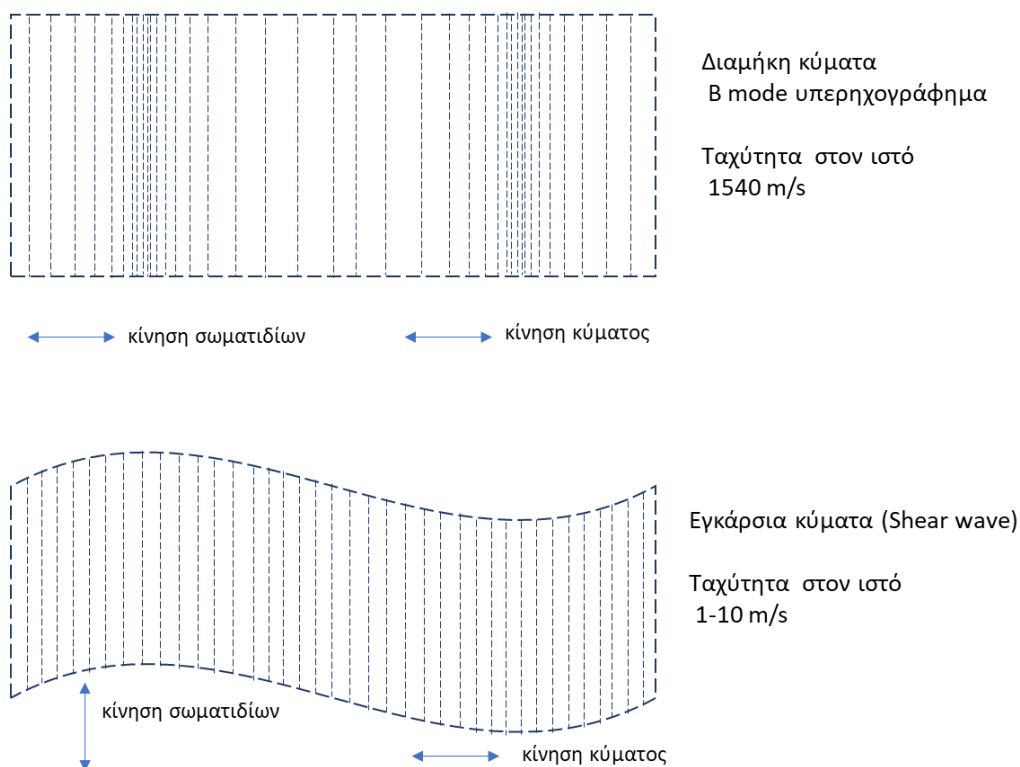
Η 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία είναι απ' όλες τις τεχνικές ελαστογραφίας η πιο καινούργια [42,43] και έχει τα ακόλουθα πλεονεκτήματα έναντι της παλαιότερης και πιο εφαρμοσμένης παροδικής (Transient) ελαστογραφίας:

1) πραγματοποιείται σε συμβατικό μηχάνημα υπερήχων με ταυτόχρονη απεικόνιση του ήπατος.

2) προσφέρει ποιοτικές και ποσοτικές μετρήσεις της ελαστικότητας του ιστού στο έγχρωμο ελαστόγραμμα, εκφραζόμενες σε meter / second (m/s) ή Kilopascals (kPa) [44].

2.2. 2-Dimensional-Shear Wave Ελαστογραφία: Βασικές αρχές

Η Shear Wave ελαστογραφία είναι μια απεικονιστική μέθοδος, που ποσοτικοποιεί την δυσκαμψία των ιστών, υπολογίζοντας την ταχύτητα των εγκάρσιων κυμάτων στον ιστό [45,46].



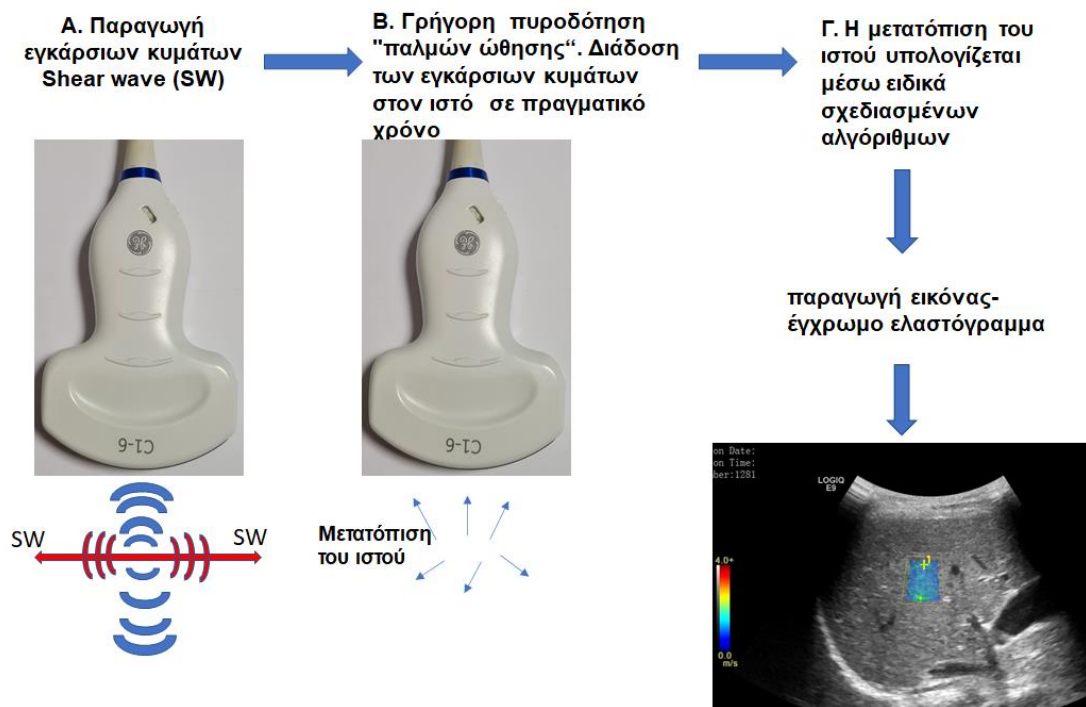
Εικόνα 1. Κίνηση εγκάρσιων και διαμήκων κυμάτων. Σε ένα διαμήκες κύμα, η κίνηση των σωματιδίων είναι παράλληλη προς την κατεύθυνση διάδοσης του κύματος. Το υπερηχητικά κύματα είναι τύποι διαμήκων κυμάτων. Σε ένα εγκάρσιο κύμα η κίνηση των σωματιδίων είναι κάθετη προς την κατεύθυνση διάδοσης του κύματος.

Όπως φαίνεται στην **εικόνα 1** τα εγκάρσια κύματα (Shear Waves) είναι τύποι μηχανικών κυμάτων, που μπορούν να διαδοθούν μόνο σε ένα στερεό. Η Shear Wave ελαστογραφία σε όλους τους τύπους της χρησιμοποιεί τη δυναμική διέγερση για να παράγει εγκάρσια κύματα στο σώμα. Με απλοποιημένες παραδοχές, η ταχύτητα των εγκάρσιων κυμάτων (c_t) σε ένα μέσο σχετίζεται με το μοντέλο ελαστικότητας του Young- the Young's Modulus (E), το οποίο υπολογίζει τη δυσκαμψία του μέσου:

$$E = 3\rho c_t^2$$

όπου ρ είναι πυκνότητα. Επομένως, η υποκείμενη δυσκαμψία των ιστών μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με την εκτίμηση της ταχύτητας του εγκάρσιου κύματος [45]. Όσο πιο δύσκαμπτο το μέσο τόσο υψηλότερη η ταχύτητα [47]. Η ταχύτητα των εγκάρσιων κυμάτων μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε άμεσα για την εκτίμηση της δυσκαμψίας εκφραζόμενη σε meter / second (m/s) ή να μετατραπεί στο μοντέλο ελαστικότητας του Young εκφραζόμενη σε Kilopascals (kPa).

Στην 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία τα εγκάρσια κύματα (Shear Wave) παράγονται με την τεχνική ακουστικής κρουστικής δύναμης ακτινοβολίας-acoustic radiation force impulse (ARFI τεχνολογία), που προέρχεται από το υπερηχογραφικό μηχάνημα. Τα εγκάρσια κύματα διαδίδονται κάθετα στο κύριο υπερηχογραφικό κύμα με χαμηλότερη ταχύτητα (**Εικ. 2**). Σε αντίθεση με την μονήρη ζώνη εστίασης που προκαλεί τον "παλμό ώθησης" της ακουστικής ακτινοβολίας (acoustic radiation force impulse) στην point Shear Wave ελαστογραφία για την παραγωγή εγκάρσιων κυμάτων, στην 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία πυροδοτούνται πολλαπλές ζώνες πρόκλησης "παλμών ώθησης" σε ταχεία διαδοχή. Αυτή η πυροδότηση πραγματοποιείται πιο γρήγορα από την ταχύτητα των ταυτόχρονων πολλαπλών εγκάρσιων κυμάτων που παράγονται, με αποτέλεσμα να συλλαμβάνεται η διάδοση των εγκάρσιων κυμάτων στον ιστό σε πραγματικό χρόνο [43,47]. Αυτή η διέγερση χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της μετατόπισης-παραμόρφωσης του ιστού, καθώς τα εγκάρσια κύματα διαδίδονται σ' αυτόν. Η μετατόπιση του ιστού υπολογίζεται μέσω ειδικά σχεδιασμένων αλγόριθμων [48] με αποτέλεσμα την παραγωγή εικόνας-frame (έγχρωμο ελαστόγραμμα), στο οποίο θα μετρηθεί η ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος (**Εικ. 2**).



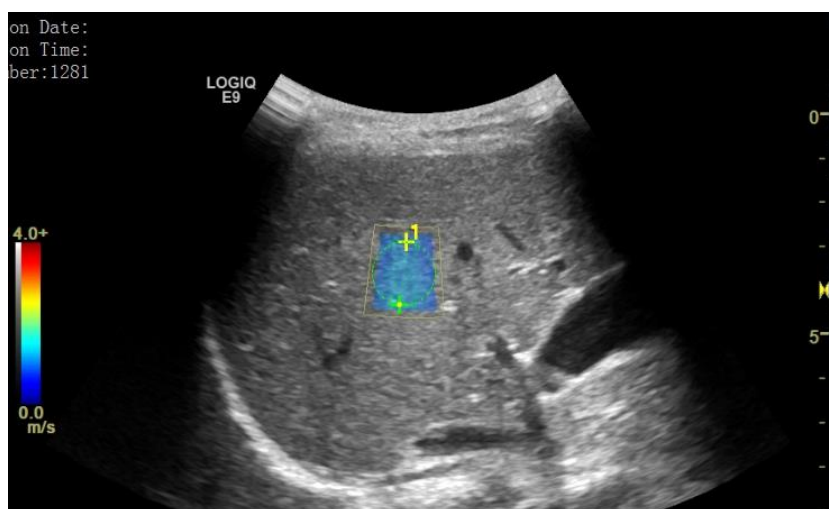
Εικόνα 2. **A.** Παραγωγή εγκάρσιων κυμάτων. Τα εγκάρσια κύματα διαδίδονται κάθετα στο κύριο υπερηχογραφικό κύμα με χαμηλότερη ταχύτητα. **B.** Στην 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία πυροδοτούνται γρήγορα πολλαπλές ζώνες πρόκλησης "παλμών ώθησης" σε ταχεία διαδοχή, με ταχύτητα μεγαλύτερη από την ταχύτητα των ταυτόχρονων πολλαπλών εγκάρσιων κυμάτων που παράγονται. Το αποτέλεσμα είναι η σύλληψη της διάδοσης των εγκάρσιων κυμάτων στον ιστό σε πραγματικό χρόνο και η μετατόπιση-παραμόρφωση του ιστού, καθώς τα εγκάρσια κύματα διαδίδονται σ' αυτόν. **Γ.** Η μετατόπιση του ιστού υπολογίζεται μέσω ειδικά σχεδιασμένων αλγόριθμων με αποτέλεσμα την παραγωγή εικόνας-frame (έγχρωμο ελαστογράμμα), στο οποίο θα μετρηθεί η ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος

Η 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία έχει την ικανότητα να παράγει συνεχή πλαίσια εικόνων (frames): από 5000 έως 20000 εικόνες / δευτερόλεπτο [47]. Ο ρυθμός των πλαισίων εικόνων (frame rate) υπαγορεύεται:

- 1) από τον απαιτούμενο χρόνο απόκτησης όλων των δεδομένων από το υπερηχογραφικό σύστημα, που χρειάζονται για να δημιουργήσει την εικόνα.
- 2) από το χρόνο αναμονής του συστήματος, πριν αυτό μπορέσει να αρχίσει να αποκτά δεδομένα για το επόμενο καρέ [45].

Η ταχύτητα των εγκάρσιων κυμάτων υπολογίζεται στο έγχρωμο ελαστόγραμμα είτε εκφραζόμενη σε meter / second (m/s) ή ως μοντέλο ελαστικότητας του Young εκφραζόμενη σε Kilopascals (kPa).

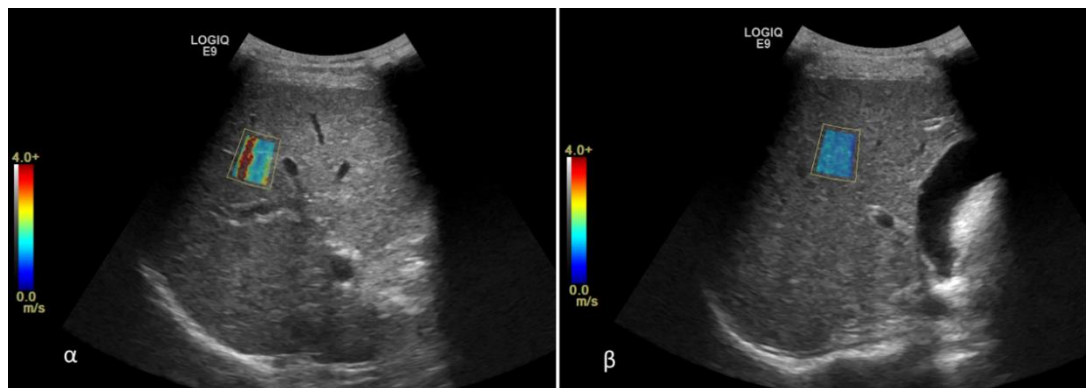
Στην 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία το έγχρωμο ελαστόγραμμα ή αλλιώς έγχρωμη περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) επιπροβάλλεται στην εικόνα του απλού υπερηχογραφήματος, όπως φαίνεται στην **εικόνα 3**.



Εικόνα 3: η περιοχή ενδιαφέροντος-το έγχρωμο ελαστόγραμμα απεικονίζεται ως ένα έγχρωμο πλαίσιο που επιπροβάλλεται στην B-mode υπερηχογραφική εικόνα του ήπατος. Εντός της περιοχής ενδιαφέροντος πραγματοποιούνται οι ποσοτικές μετρήσεις της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος σε οποιοδήποτε σημείο της περιοχής. Με τη δυνατότητα αξιολόγησης του χρώματος του πλαισίου πραγματοποιούνται οι ποιοτικές μετρήσεις της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος.

Το μέγεθος και η θέση της περιοχής ενδιαφέροντος (ROI) μπορούν να ρυθμιστούν από τον χειριστή με βάση την ανατομία του οργάνου, που αναδεικνύεται ταυτόχρονα στο B-mode υπερηχογράφημα. Στην έγχρωμη περιοχή ενδιαφέροντος (ROI), που είναι μια εικόνα, δίνεται η δυνατότητα ποσοτικής και ποιοτικής μέτρησης της ελαστικότητας του ιστού. Η ποσοτική μέτρηση επιτυγχάνεται μέσω υπολογισμού της ταχύτητα διάδοσης των εγκάρσιων κυμάτων σε οποιοδήποτε σημείο της περιοχής ενδιαφέροντος (ROI) (**Εικ.3**) [45]. Στην έγχρωμη περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) δίνεται η δυνατότητα της ποιοτικής εκτίμησης της μέτρησης της ελαστικότητας του ιστού εκτός της ποσοτικής (δισδιάστατη εκτίμηση). Καθώς το χρώμα στην περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως από τις κινήσεις και την αναπνοή του εξεταζόμενου ή από την μη καλή επαφή του ηχοβολέα με το όργανο, δίνεται η δυνατότητα στον εξεταστή να μετατοπίσει την περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) ή να παράγει καινούργια για το καλύτερο δυνατό ποιοτικό αποτέλεσμα των μετρήσεων της ελαστικότητας του ιστού [45] (**Εικ. 4**).

Επί του παρόντος, η 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία εφαρμόζεται σε διάφορα υπερηχογραφικά συστήματα όπως GE Healthcare, Supersonic Imagine, Philips, Siemens Healthineers [48].



Εικόνα 4. 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία (εικόνες α και β) κοριτσιού 15 ετών με φυσιολογικό ήπαρ. α) έγχρωμη περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) με ανομοιογενές χρώμα και artifacts, εντονότερα στο δεξιό τμήμα της, λόγω τοποθέτησής της πάνω σε κλάδους αγγείων της πυλαίας φλέβας. β) Μετακινώντας την έγχρωμη περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) σε άλλη περιοχή του ήπατος μακριά από αγγεία έχουμε το καλύτερο δυνατό ποιοτικό αποτέλεσμα: περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) με ομοιογενές μπλέ χρώμα, όπως αναμένεται σε φυσιολογικό ήπαρ.

2.3. 2-Dimensional-Shear Wave Ελαστογραφία: Τεχνική εξέτασης

Αρχικά, για την πραγματοποίηση της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία απαιτείται εμπειρία από τον εξεταστή [41,36]. Με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες δεν είναι σαφές προς το παρόν για το πώς ορίζεται ο έμπειρος εξεταστής για την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία. Η εκπαίδευση και η εμπειρία του εξεταστή απαιτείται όχι μόνο για την ελαστογραφική εξέταση, αλλά και για το B mode υπερηχογράφημα, που πραγματοποιείται ταυτόχρονα. Οπότε, προτείνεται ως ικανοποιητική εμπειρία εξεταστή η πραγματοποίηση άνω των 300 υπερηχογραφήματων κοιλίας και η συμμετοχή του σε άνω των 50 εξετάσεων ελαστογραφίας [36,49].

Με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες η τεχνική εξέτασης, που προτείνεται για την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία είναι η εξής: Ο ασθενής εξετάζεται, μετά από νηστεία 4-6 ωρών, σε ύπτια θέση με το δεξιό βραχίονα σε απαγωγή. Στους ενήλικες προτείνεται στιγμιαίο κράτημα της αναπνοής και όχι εισπνοή, ώστε να μην επηρεάζεται από τις αναπνευστικές κινήσεις το χρώμα στην εικόνα του ελαστογράμματος [36,50]. Στα παιδιά, κυρίως βρέφη και προσχολικής ηλικίας, όπου η συνεργασία στις αναπνευστικές κινήσεις είναι αδύνατη, η τεχνική της ελαστογραφίας είναι πιο δύσκολη συγκριτικά με τους ενήλικες. Για τα παιδιά προτείνονται οι ήρεμες αναπνοές, κατά τη διάρκεια των οποίων είναι εφικτή η λήψη ελαστογραμμάτων [51-53]. Η κεφαλή του ηχοβολέα τοποθετείται κάθετα στην ηπατική κάψα και με τόση πίεση όση απαιτείται, ώστε να επιτυγχάνεται σταθερή επαφή της με το μεσοπλευρικό διάστημα. Το έγχρωμο κουτί του ελαστογράμματος τοποθετείται στο δεξιό ηπατικό λοβό μακριά από τις πλευρές και τα μεγάλα αγγεία. Η κορυφή του ελαστογράμματος πρέπει να απέχει τουλάχιστον 1 εκατοστό από την ηπατική κάψα και η μεσότητα του 3-6 εκατοστά περίπου [36,50]. Με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες απαιτούνται 10 μετρήσεις ηπατικής ελαστικότητας για την σωστή αξιολόγηση της ίνωσης [36,50]. Από αρκετές, όμως, μελέτες στους ενήλικες προκύπτει ότι μπορεί να πραγματοποιηθεί και μικρότερος αριθμός μετρήσεων, όπως 3, 4 ή 5 [54-56] για την αξιόπιστη αξιολόγηση της ίνωσης. Όσον αφορά τα παιδιά, τα οποία δύσκολα συνεργάζονται, δεν υπάρχουν μελέτες, που να προτείνουν τον σωστό αριθμό μετρήσεων της ηπατικής ελαστικότητας, παρά μόνο μία, σύμφωνα με την οποία οι 3 μετρήσεις είναι αρκετές σε παιδιά ηλικίας άνω των έξι ετών, ανεξαρτήτως παθολογίας, ενώ για τα μικρότερα παιδιά κάτω των 6 ετών απαιτούνται περισσότερες μετρήσεις [51].

2.4. Two-Dimensional-Shear Wave Ελαστογραφία: δυνατότητα επίτευξης και αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου (feasibility and reproducibility)

Διάφορες μελέτες σε ενήλικες ανέδειξαν τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία ως μια μέθοδο με σχετικά υψηλή δυνατότητα επίτευξης (ποσοστό επιτυχίας > 89.6%) [57-59]. Η 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία είναι εφικτή σε ασθενείς με ασκίτη [57, 60] σε αντίθεση με την Transient ελαστογραφία. Η παχυσαρκία, το αυξημένο πάχος του κοιλιακού τοιχώματος, τα στενά μεσοπλεύρια διαστήματα είναι από τους παράγοντες που επηρεάζουν την επίτευξη της μεθόδου [61]. Όσον αφορά τα παιδιά υπάρχουν πολύ λίγες μελέτες για την δυνατότητα επίτευξης της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας. Οι συγκεκριμένες μελέτες αναφέρουν ότι η μέθοδος είναι εφικτή ακόμη και στα νεογνά [51,62], με κύριο περιοριστικό παράγοντα την μη ικανοποιητική συνεργασία των μικρών παιδιών. Γι' αυτό προτείνεται μικρός αριθμός μετρήσεων της ηπατικής ελαστικότητας, ώστε να περιοριστεί η διάρκεια της εξέτασης [51].

Για την αναπαραγωγιμότητα των μετρήσεων της ηπατικής ελαστικότητας με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία υπάρχουν μελέτες μόνο για τους ενήλικες, στις οποίες αναφέρεται ότι η αναπαραγωγιμότητα των μετρήσεων είναι υψηλή εφ' όσον πραγματοποιούνται από έμπειρο εξεταστή [60, 63]. Σε υγιείς ενήλικες η αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου όσον αφορά τις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας από τον ίδιο εξεταστή (intra-observer reproducibility) είναι εξαιρετική (ICC 0.92 to 0.95), ενώ μεταξύ εξεταστών (inter-observer reproducibility) είναι καλή με ICC που κυμαίνεται από 0.63 έως 0.84 [63 -65]. Σε διάφορες μελέτες ενήλικων ασθενών με χρόνιες ηπατοπάθειες η αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου είναι εξαιρετική όσον αφορά τις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας από τον ίδιο εξεταστή (intra-observer reproducibility) (ICC 0.90 to 0.95) καθώς επίσης και μεταξύ εξεταστών (inter-observer reproducibility) με ICC που κυμαίνεται από 0.83 έως 0.94 [66-69]. Στα παιδιά δεν υπάρχουν αρκετές μελέτες, παρά μόνον μια μελέτη 35 παιδιών με μη αλκοολική λιπώδη νόσο του ήπατος, στην οποία διαπιστώνεται εξαιρετική αναπαραγωγιμότητα της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας μεταξύ εξεταστών με ICC 0.90 to 0.97 [70].

2.5. Two-Dimensional-Shear Wave Ελαστογραφία: παράγοντες που επηρεάζουν τις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας (confounding factors)

Στους ενήλικες έχει αποδειχθεί ότι η λήψη τροφής αυξάνει τη δυσκαμψία του ηπατικού παρεγχύματος με αποτέλεσμα την υπερεκτίμηση της ηπατικής ίνωσης λόγω ψευδώς υψηλών μετρήσεων [71-73]. Έχει, επίσης, παρατηρηθεί ότι οι τιμές της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος επανέρχονται σε κανονικά επίπεδα 180 λεπτά μετά τη λήψη τροφής [71]. Για αυτό προτείνεται η ελαστογραφία να πραγματοποιείται τουλάχιστον 4 ώρες μετά τη λήψη τροφής. Στα νεογνά και στα βρέφη προτείνεται η τρίωρη νηστεία, διότι σ' αυτές τις ηλικίες η πολύωρη νηστεία είναι δύσκολη και προκαλεί μεγάλη νευρική δραστηριότητα στα μωρά με αποτέλεσμα τη μη δυνατότητα επίτευξης της ελαστογραφίας [74]. Η άσκηση επίσης αυξάνει τη δυσκαμψία του ηπατικού παρεγχύματος [75].

Στα παιδιά η ηλικία είναι ένας σημαντικός παράγοντας, που μπορεί να επηρεάζει τις τιμές της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία λόγω διαφορών στο σωματότυπο των βρεφών σε σχέση με τα μεγαλύτερα παιδιά (διαφορετικό μέγεθος ήπατος, διαφορετικό εύρος μεσοπλευρίων διαστημάτων), αλλά και του διαφορετικού βαθμού συνεργασίας ανά ηλικιακή μονάδα, που μπορεί να επηρεάσει τις τιμές ελαστικότητας ακόμη και σε υγιή παιδιά [74]. Σε μια μελέτη με Transient ελαστογραφία σε 240 υγιή παιδιά αναφέρεται ότι το 27% των παιδιών < 6 ετών είχαν μη έγκυρες μετρήσεις όσον αφορά την ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος, συγκριτικά με τα μεγαλύτερα παιδιά, που το αντίστοιχο ποσοστό των μη ικανοποιητικών μετρήσεων ήταν σαφώς μικρότερο (9%) [76]. Στην ίδια μελέτη οι τιμές ελαστικότητας του ήπατος ήταν διαφορετικές μεταξύ των ηλικιακών ομάδων (0-5, 6-11, 12-18 ετών).

Το φύλο, επίσης, μπορεί να επηρεάσει τις τιμές της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος στην εφηβεία λόγω ορμονικών επιδράσεων, κυρίως στα κορίτσια, στα οποία παρατηρείται 'φυσιολογική' αντίσταση στην ινσουλίνη και εναπόθεση λιπώδους ιστού [74].

Ο δείκτης μάζας σώματος- Body Mass Index (BMI) σε κάποιες μελέτες αναφέρεται ότι επηρεάζει τις τιμές της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος, ενώ έχουν καταγραφεί υψηλότερες τιμές σε παιδιά με υψηλό BMI συγκριτικά με αυτών με φυσιολογικό BMI [74].

Σε μία μελέτη με 51 φυσιολογικά παιδιά, που εξετάσθηκαν με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία στο υπερηχογραφικό σύστημα Aixplorer, Supersonic Imagine, αναφέρεται ότι ο τύπος κεφαλής επηρέασε τις τιμές της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος (υψηλότερες τιμές με ηχοβολία χαμηλών συχνοτήτων) [62].

Το βάθος των μετρήσεων στο ήπαρ δεν φαίνεται να επηρεάζει τις τιμές της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος [74].

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος εκτός της ίνωσης είναι ο βαθμός ενεργότητας της φλεγμονής του ήπατος, η αποφρακτικού τύπου χολόσταση, η οξεία ηπατίτιδα και η ηπατική συμφόρηση [60, 74]. Ο βαθμός ηπατικής στεάτωσης φαίνεται να μην επηρεάζει την ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος [77, 79]. Σε παιδιά με μεταμοσχευμένο ήπαρ και χωρίς ίνωση οι τιμές της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος είναι υψηλότερες από αυτές του ήπατος των υγιών παιδιών [80].

II. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ

Παρ' ότι στους ενήλικες υπάρχουν αρκετές μελέτες για την διαγνωστική ικανότητα της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας στην αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης στις χρόνιες ηπατοπάθειες, στα παιδιά οι αντίστοιχες μελέτες είναι εξαιρετικά περιορισμένες. Επίσης, εξαιρετικά σπάνιες είναι οι μελέτες σχετικά με τις τιμές της ελαστικότητας του φυσιολογικού ηπατικού παρεγχύματος με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία στον παιδικό πληθυσμό.

Οι στόχοι της παρούσας μελέτη ήταν:

1. Ο καθορισμός τιμών της ελαστικότητας του φυσιολογικού ηπατικού παρεγχύματος με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία στα παιδιά από τη νεογνική ηλικία έως την εφηβεία.
2. Η αξιολόγηση της πιθανής επίδρασης διαφόρων παραγόντων στη διαμόρφωση των τιμών ελαστικότητας του φυσιολογικού ηπατικού παρεγχύματος στα παιδιά, όπως η ηλικία, ο δείκτης μάζας σώματος, το μέγεθος του ήπατος και η ροή των ηπατικών αγγείων.
3. Η αξιολόγηση της διαγνωστικής ακρίβειας της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας στη διάγνωση της ηπατικής ίνωσης των παιδιών με χρόνιες ηπατοπάθειες.
4. Ο καθορισμός της συσχέτισης των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας, όπως υπολογίζονται με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, με τα διαφορετικά στάδια της ηπατικής ίνωσης, όπως προκύπτουν από τα ημιποσοτικά αποτελέσματα της ηπατικής βιοψίας σε χρόνιες ηπατοπάθειες στα παιδιά.
5. Η αξιολόγηση της πιθανής επίδρασης διαφόρων παραγόντων εκτός της ηπατικής ίνωσης, που σχετίζονται με την ασθένεια και τον ασθενή και που μπορεί να επηρεάζουν τις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας με την ελαστογραφία.

2. ΟΜΑΔΕΣ ΜΕΛΕΤΗΣ- ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Ομάδα παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ

Η ομάδα περιελάμβανε συνολικά 202 παιδιά, 102 αγόρια και 100 κορίτσια. Κανένα από τα παιδιά της ομάδας δεν είχε ιστορικό ηπατοπάθειας, συστηματικού νοσήματος, χρωμοσωμικής ανωμαλίας, ούτε προηγούμενο ιστορικό φαρμακευτικής αγωγής. Με βάση την ηλικία μελετήθηκαν 4 ηλικιακές ομάδες: νεογνά και βρέφη (≤ 2 ετών, $n=37$), προσχολική ηλικία (>2 έως ≤ 6 ετών, $n=36$), παιδιά πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης (> 6 έως ≤ 12 ετών, $n=78$) και έφηβοι (>12 to ≤ 16 ετών, $n=51$).

Η ομάδα παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ με βάση τα ανωτέρω κριτήρια προέκυψε από: α) 103 υγιή παιδιά του προσωπικού του νοσοκομείου μας, β) 63 παιδιά που προσήλθαν στο ακτινολογικό τμήμα για υπερηχογράφημα ρουτίνας είτε του ουροποιογεννητικού συστήματος (όπως παρακολούθηση διάτασης πυελοκαλυκτικού συστήματος ή πρώιμης ήβης), είτε του νευρικού συστήματος (διερεύνηση μακροκεφαλίας σε ασυμπτωματικά βρέφη χωρίς χρωμοσωμικές ανωμαλίες ή απλού εντυπώματος ιερού σε ασυμπτωματικά νεογνά), γ) 36 παιδιά, που παραπέμφθηκαν από το τμήμα επειγόντων στο ακτινολογικό είτε λόγω οξέος κοιλιακού άλγους ή επώδυνου ημιόσχεου, είτε λόγω ηπίου τραυματισμού χωρίς συνοδό κάκωση ήπατος. Σημειώνεται εδώ, ότι το οξύ κοιλιακό άλγος σε αυτά τα παιδιά ήταν παροδικό και δεν οφειλόταν σε ηπατικό ή συστηματικό νόσημα.

Τα παιδιά της ομάδας επιλέχθηκαν με κριτήριο τις φυσιολογικές τιμές των ηπατικών ενζύμων, όπως η πυροσταφυλική αμινοτρανσφεράση (SGPT), η οξαλοξική αμινοτρανσφεράση (SGOT), η γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση (γ-GT) και τη φυσιολογική γενική εξέταση αίματος. Ο εργαστηριακός έλεγχος πραγματοποιήθηκε πριν την ελαστογραφία. Σε όλα τα παιδιά προηγήθηκε απλό υπερηχογράφημα ήπατος και σπληνός, αμέσως πριν τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία.

Τα υπερηχογραφικά κριτήρια που πληρούσαν τα παιδιά για την ομάδα ελέγχου ήταν η φυσιολογική ηχομορφολογία και το φυσιολογικό μέγεθος του ήπατος και του σπληνός για την ηλικία και το ύψος του κάθε παιδιού. Το μέγεθος και η ηχομορφολογία των δύο οργάνων αξιολογήθηκε ως εξής: σε κάθε παιδί για το μέγεθος του ήπατος υπολογίστηκε, στην ύπτια θέση, σε παραοβελιαία τομή, στο ύψος της πρόσθιας μασχालιάς γραμμής, ο επιμήκης άξονας του δεξιού ηπατικού λοβού από το ύψος του οπίσθιου διαφράγματος μέχρι και το κατώτερο δεξιό ηπατικό

χείλος με ταυτόχρονη απεικόνιση του δεξιού νεφρού. Το μέγεθος του σπληνός σε όλα τα παιδιά υπολογίστηκε στην ύπτια θέση, μετρώντας τον επιμήκη άξονα μεταξύ των δύο πόλων σε στεφανιαία τομή στο επίπεδο της σπληνικής πύλης. Οι μετρήσεις του επιμήκη άξονα του ήπατος και του σπληνός με βάση την ηλικία και το ύψος του κάθε παιδιού, συγκρίθηκαν με τις φυσιολογικές τιμές των αντίστοιχων οργάνων στη βιβλιογραφία [81], ώστε να διαπιστωθεί το φυσιολογικό μέγεθος του οργάνου για το κάθε παιδί της ομάδας ελέγχου. Το οξύαιχο κατώτερο χείλος του δεξιού ηπατικού λοβού ήταν ένα δεύτερο κριτήριο αξιολόγησης του φυσιολογικού μεγέθους του ήπατος. Η ηχοδομή του παρεγχύματος του ήπατος και του σπληνός αξιολογήθηκε ως φυσιολογική, όταν ήταν ομοιογενής και η ηχογένεια του θεωρήθηκε φυσιολογική, όταν ήταν υψηλότερη συγκριτικά με αυτή του παρεγχύματος του νεφρικού φλοιού των υποκείμενων νεφρών για το κάθε όργανο [82].

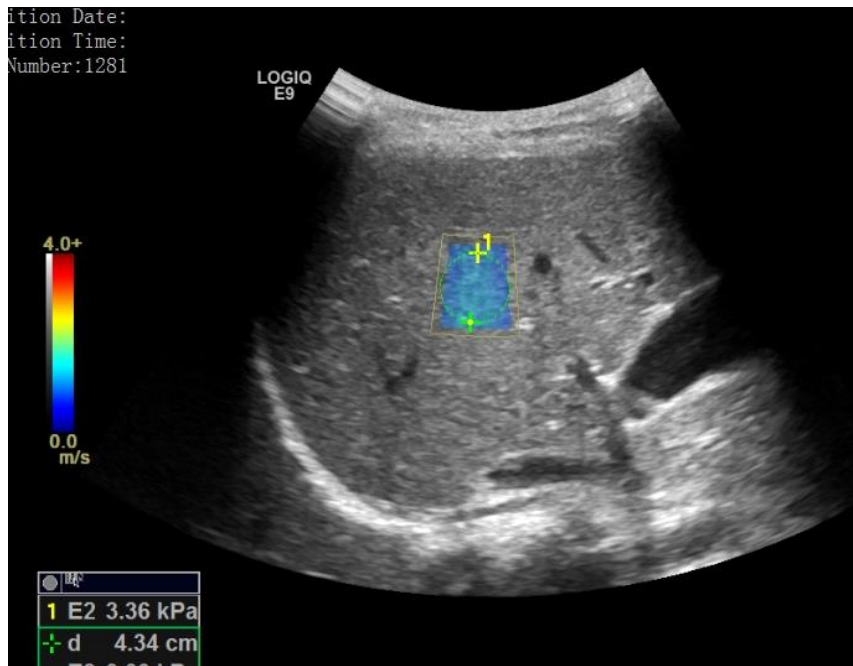
2.1.1. Πρωτόκολλο εξέτασης με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία

Το ίδιο πρωτόκολλο εξέτασης όσον αφορά την τεχνική της ελαστογραφίας πραγματοποιήθηκε σε όλες τις ομάδες μελέτης: στην ομάδα των παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ και στις ομάδες ασθενών.

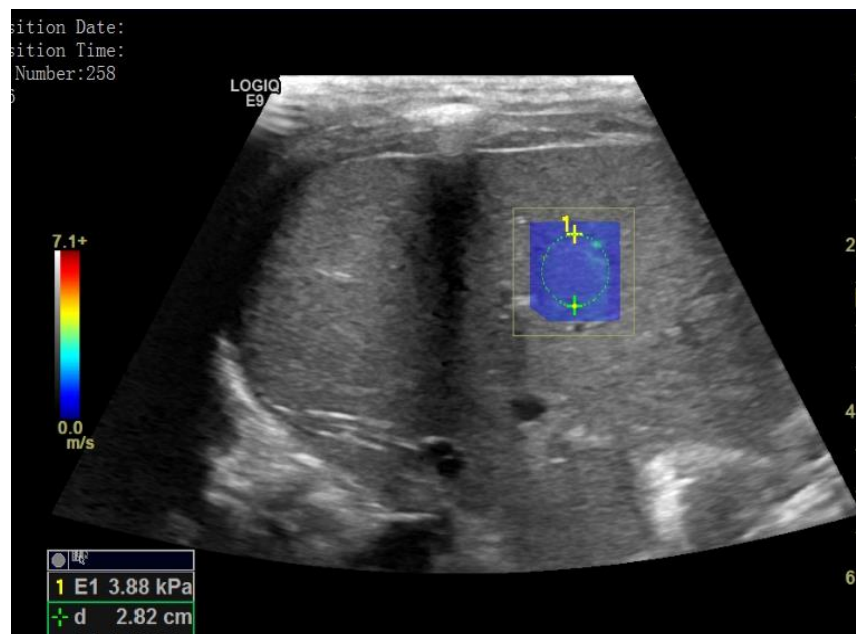
Στη μελέτη μας χρησιμοποιήθηκε το υπερηχογραφικό σύστημα LOGIQ E9 US system (General Electric Healthcare, Wauwatosa, WI, USA) για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία. Το συγκεκριμένο υπερηχογραφικό σύστημα παράγει ακολουθία ψηφιακών εικόνων από έγχρωμα ελαστογράμματα, στα οποία υπολογίζεται η ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος. Η ταχύτητα των εγκάρσιων κυμάτων υπολογίζεται στο έγχρωμο ελαστογράμμα είτε εκφραζόμενη σε meter / second (m/s) ή ως μοντέλο ελαστικότητας του Young εκφραζόμενη σε Kilopascals (kPa). Το μέγεθος και η θέση του έγχρωμου ελαστογράμματος μπορεί να ρυθμιστεί από τον εξεταστή, ο οποίος χρησιμοποιεί ως οδηγό την ανατομία του ηπατικού παρεγχύματος, που απεικονίζεται ταυτόχρονα με το απλό υπερηχογράφημα. Οι μετρήσεις της ελαστικότητας μπορούν να πραγματοποιηθούν με υψίσυχο ηχοβολέα 9L και με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6 (**Εικ. 5,6**).

Η ελαστογραφία πραγματοποιήθηκε μετά από νηστεία τουλάχιστον 3 ωρών όσον αφορά τα νεογνά και τα βρέφη. Για τα μεγαλύτερα παιδιά η νηστεία ήταν πάνω από 4 ώρες. Τα παιδιά εξετάστηκαν σε ύπτια θέση με το δεξιό βραχίονα σε απαγωγή. Με τη βοήθεια των γονέων ή συνοδών τα νεογνά και βρέφη επίσης εξετάστηκαν σε

ύπτια θέση. Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια ελεύθερης αναπνοής, λόγω του ότι στα παιδιά, κυρίως βρέφη και προσχολικής ηλικίας, η συνεργασία στις αναπνευστικές κινήσεις είναι αδύνατη [51-53]. Στη μελέτη μας οι μετρήσεις της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος πραγματοποιήθηκαν στο δεξιό λοβό, μέσω του 9^{ου}, 8^{ου} και 7^{ου} μεσοπλεύριου διαστήματος, τοποθετώντας τη κεφαλή του ηχοβολέα κάθετα στην ηπατική κάψα, με τόση πίεση όση απαιτείται, ώστε να επιτυγχάνεται η σταθερή επαφή της με το μεσοπλεύριο διάστημα. Το έγχρωμο κουτί του ελαστογράμματος τοποθετήθηκε στο δεξιό ηπατικό λοβό μακριά από τις πλευρές και τα μεγάλα αγγεία. Η κορυφή του ελαστογράμματος απείχε τουλάχιστον 1 εκατοστό από την ηπατική κάψα. Μετά τη λήψη ακολουθιών ψηφιακών εικόνων από έγχρωμα ελαστογράμματα, τα πιο κατάλληλα από αυτά, όσα δηλαδή είχαν ομοιόμορφα κατανεμημένο χρώμα σε όλη την έκτασή τους, επιλέχθηκαν από το εξεταστή για τις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας. Το μέγεθος του κάθε ελαστογράμματος ήταν σταθερό για την κάθε μέτρηση σε όλα τα παιδιά (2 χ 1,5 εκ. με τον υψίσυχο ηχοβολέα 9L και 2 χ 2,5 εκ. με τον ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1-6). Για κάθε μέτρηση μία κυκλική περιοχή ενδιαφέροντος-region of interest, (ROI), τοποθετήθηκε στο κέντρο του έγχρωμου ελαστογράμματος, διαστάσεων τουλάχιστον 1χ1 cm² (**Εικ. 5,6**). Όταν το κουτί του έγχρωμου ελαστογράμματος πληρούταν με χρώμα σε έκταση μικρότερη του 50%, τότε θεωρούνταν μη κατάλληλο για τη μέτρηση της ελαστικότητας του ήπατος. Τουλάχιστον πέντε μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν σε κάθε παιδί της ομάδας ελέγχου και υπολογίστηκε η μέση και η διάμεση τιμή της ηπατικής ελαστικότητας εκφραζόμενη σε kPa. Ο αριθμός των μετρήσεων καθορίστηκε από το βαθμό συνεργασίας του κάθε παιδιού, από τον σωματότυπο του και από τη δυνατότητα απόκτησης κατάλληλων έγχρωμων ελαστογραμμάτων. Έγκυρη μέση και διάμεση τιμή των μετρήσεων της ηπατικής ελαστικότητας θεωρήθηκε μόνο όταν προέκυψε από μετρήσεις που αποκτήθηκαν σε κατάλληλους χρωματιστούς χάρτες με ομοιογενές χρώμα και με ένα εύρος τιμών μεταξύ των τεταρτημορίων (interquartile range) < 30% [45].



Εικόνα 5. 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία φυσιολογικού ήπατος σε αγόρι 10 ετών με ηχοβολία χαμηλών συχνοτήτων, C1–6. Εντός του έγχρωμου ελαστογράμματος με το ομοιογενές μπλέ χρώμα απεικονίζεται μια κυκλική περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) εντός της οποίας η τιμή της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος υπολογίζεται στα 3.36 kPa σε βάθος 4.34 εκ. από το κοιλιακό τοίχωμα. Το έγχρωμο κουτί του ελαστογράμματος τοποθετήθηκε στο δεξιό ηπατικό λοβό μακριά από τις πλευρές και τα μεγάλα αγγεία.



Εικόνα 6. 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία φυσιολογικού ήπατος σε νεογνό την ενδέκατη μέρα ζωής με υψίσυχο ηχοβολία 9L. Εντός του έγχρωμου ελαστογράμματος με το ομοιογενές μπλέ χρώμα απεικονίζεται μια κυκλική περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) εντός της οποίας η τιμή της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος υπολογίζεται στα 3.88 kPa σε βάθος 2.82 εκ. από το κοιλιακό τοίχωμα.

2.1.2. Μεθοδολογία μελέτης με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία των παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ

Οι μετρήσεις της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος πραγματοποιήθηκαν με υψίσυχο ηχοβολέα 9L και με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6. Συγκεκριμένα τα νεογνά και βρέφη (με εύρος ηλικίας: από 8 ημερών έως 24 μηνών) εξετάστηκαν με υψίσυχο ηχοβολέα 9L, ενώ τα μεγαλύτερα παιδιά >2 ετών με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6. Για την αποφυγή λανθασμένων αποτελεσμάτων λόγω χρησιμοποίησης του υψίσυχου ηχοβολέα στα νεογνά και βρέφη, εξετάσαμε 20 από αυτά και με τους δύο ηχοβολείς και μελετήσαμε αν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στις μετρήσεις που προέκυψαν και με τις δύο κεφαλές.

Στα παιδιά ηλικίας >2 ετών, που εξετάστηκαν με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6, οι μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας σε κάθε παιδί πραγματοποιήθηκαν σε διαφορετικά βάθη από το κοιλιακό τοίχωμα: ≥ 3 εκ., ≥ 4 εκ. και ≥ 5 εκ. έως 6 εκ.. Στα νεογνά και βρέφη, που εξετάστηκαν με υψίσυχο ηχοβολέα 9L, το βάθος των μετρήσεων δεν ξεπέρασε τα 3 εκατοστά λόγω σωματότυπου. Οι τιμές των μετρήσεων της ηπατικής ελαστικότητας, που προέκυψαν σε διαφορετικά βάθη (≥ 3 εκ., ≥ 4 εκ. και ≥ 5 εκ. έως 6 εκ.) συγκρίθηκαν μεταξύ τους σε 38 παιδιά, που εξετάστηκαν με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6, (18 κορίτσια και 20 αγόρια, μέση ηλικία 11,5 έτη). Σε κάθε παιδί έγιναν δύο μετρήσεις για το καθένα ξεχωριστό βάθος.

Διερευνήθηκε η σχέση των μετρήσεων της φυσιολογικής ελαστικότητας του ήπατος με την ηλικία, καθώς και τα βιομετρικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού, όπως ο δείκτης σωματικής μάζας και το μέγεθος ήπατος στις διαφορετικές ηλικιακές ομάδες. Ο λόγος είναι ότι οι αλλαγές στο δείκτη σωματικής μάζας και στο μέγεθος του ήπατος με την πάροδο του χρόνου μπορεί να ευθύνονται για διαφορές στη φυσιολογική ηπατική ελαστικότητα μεταξύ των διαφορετικών ηλικιακών ομάδων.

Λόγω του ότι η ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος πιθανόν να επηρεάζεται από την ροή του αίματος που εισέρχεται με την πυλαία φλέβα και την ηπατική αρτηρία [83] συσχετίστηκαν οι μετρήσεις της φυσιολογικής ελαστικότητας του ήπατος με βασικές αγγειακές παραμέτρους, όπως προέκυψαν με το Doppler υπερηχογράφημα στις διαφορετικές ηλικιακές ομάδες. Υπολογίστηκε το εύρος της πυλαίας φλέβας στο ύψος της ηπατικής πύλης, η μέγιστη συστολική και η μέγιστη time-averaged ταχύτητα (cm/s) της πυλαίας φλέβας στην ηπατική πύλη και ο δείκτης αγγειακής αντίστασης- resistance index (RI) της ηπατικής αρτηρίας ενδο και εξωηπατικά.

2.2. Ομάδες ασθενών-ασθενειών

Μελετήθηκαν με τη 2-Dimensional-Shear Wave ασθενείς με γνωστή ή αγνώστου αιτιολογίας ηπατοπάθεια με βάση την κλινική εξέταση, τον εργαστηριακό έλεγχο και τη βιοψία ήπατος.

Στις λίγες μέχρι τώρα μελέτες στα παιδιά με διάφορους τύπους ελαστογραφίας αναφέρεται ότι εκτός από την ηπατική ίνωση υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν τις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας, όπως η ενεργότητα φλεγμονής, το οίδημα, η καρδιακή συμφόρηση, η νέκρωση, η αιμοσιδήρωση και η χολόσταση [62, 84 -87]. Σε δύο μελέτες με Transient ελαστογραφία στα παιδιά αναφέρεται ότι η φλεγμονή και το είδος ασθένειας, όπως η αυτοάνοση ηπατίτιδα, μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά τις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας [88,89]. Επίσης, η ατρησία χοληφόρων είναι το μοναδικό αίτιο νεογνικής χολόστασης, που χαρακτηρίζεται από ραγδαία ηπατική ίνωση από τις πρώτες εβδομάδες ζωής [90,91] και για αυτό το λόγο μπορεί να επηρεάσει διαφορετικά την ηπατική ελαστικότητα από τα άλλα χολοστατικά νοσήματα στη νεογνική και βρεφική ηλικία [91]. Σε παιδιά με μεταμοσχευμένο ήπαρ ακόμη και χωρίς ίνωση οι τιμές της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος είναι υψηλότερες από αυτές του ήπατος των υγιών παιδιών [80].

Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω διαχωρίσαμε τις ομάδες ασθενειών για να μελετήσουμε την ικανότητα της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας στην αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης σε παιδιά με χρόνιες ηπατικές παθήσεις ελέγχοντας, όμως, και την πιθανή επίδραση διαφόρων παραγόντων, που σχετίζονται με την ασθένεια και που μπορεί να επηρεάσουν τις τιμές ελαστικότητας του ήπατος. Η επίδραση διαφόρων παραγόντων, που σχετίζονται με την ασθένεια και τον ασθενή μαζί με την ίνωση στις μετρήσεις ελαστικότητας του ήπατος αξιολογήθηκε με πολυμεταβλητή ανάλυση.

Οι ομάδες ασθενειών που προέκυψαν με βάση τα ανωτέρω κριτήρια ήταν τρεις:

1. Η πρώτη ομάδα περιελάμβανε ένα ευρύ φάσμα γνωστών ή αγνώστου αιτιολογίας χρόνιων ηπατικών παθήσεων, στις οποίες, ωστόσο, μόνο η ηπατική ίνωση ήταν ο κύριος παράγοντας, που αναμενόταν να επηρεάσει τις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία. Κανένας άλλος παράγοντας σχετιζόμενος με ασθένεια, που ήταν πιθανό να επηρεάσει την ηπατική ελαστικότητα δεν ήταν εμφανής σε

αυτή την ομάδα ασθενειών. Για το λόγο αυτό αποκλείσαμε από αυτήν την ομάδα παιδιά με αυτοάνοση ηπατίτιδα, ατρησία χοληφόρων, συμφορητική καρδιακή νόσο, μεταμοσχευμένο ήπαρ, οξεία ηπατίτιδα ή οξεία ηπατική ανεπάρκεια, καθώς και παιδιά με ιστορικό μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων.

2. Η δεύτερη ομάδα περιελάμβανε παιδιά με αυτοάνοση ηπατίτιδα. Στη μελέτη μας για όλα τα παιδιά της συγκεκριμένης ομάδας χρησιμοποιήθηκαν τυπικά διαγνωστικά κριτήρια σύμφωνα με το απλοποιημένο σύστημα βαθμολόγησης για την αυτοάνοση ηπατίτιδα στον παιδιατρικό πληθυσμό [92].
3. Η τρίτη ομάδα περιελάμβανε νεογνά και βρέφη ηλικίας <6 μηνών με πρωτοδιαγνωσμένη ατρησία χοληφόρων πριν την επέμβαση Kasai ή την ηπατική μεταμόσχευση.

Σε όλα τα παιδιά και των τριών ομάδων πραγματοποιήθηκε ο βασικός εργαστηριακός έλεγχος την ίδια μέρα που μελετήθηκαν με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, ο οποίος περιλάμβανε: γενική αίματος, ηπατικά ένζυμα, (πυροσταφυλική αμινοτρανσφεράση, οξαλοξική αμινοτρανσφεράση, γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση), επίπεδα ολικής και άμεσης χολερυθρίνης καθώς και υπολογισμό χρόνου προθρομβίνης. Επιπλέον, σε όλα τα παιδιά με βάση τα κλινικά ευρήματα πραγματοποιήθηκαν και άλλες εργαστηριακές εξετάσεις, όπως: δείκτες για ηπατίτιδα Β και C, αντιπυρηνικά και κατά των λείων μυϊκών ινών αντισώματα, κυτταροπλασματικά ANCA (c-ANCA) και περιπυρηνικά ANCA (p-ANCA) αντισώματα, επίπεδα ανοσοσφαιρινών E, G, M και A, γονιδιακός έλεγχος για ανεπάρκεια α-1 αντιθρυψίνης και για κυστική ίνωση, τεστ ιδρώτα, επίπεδα σερουλοπλασμίνης και επίπεδα χαλκού στα ούρα, επίπεδα οργανικών οξέων στα ούρα, επίπεδα αμινοξέων ορού, α-φετοπρωτεΐνης, και έλεγχος όξινης φωσφατάσης και ενζύμων που σχετίζονται με μεταβολικά νοσήματα ήπατος.

2.2.1. Ομάδα ελέγχου-μάρτυρες (control group)

Δημιουργήθηκαν τρεις ομάδες ελέγχου-μαρτύρων (control groups), η καθεμία από τις οποίες περιελάμβανε παιδιά ίδιου φύλου και ηλικίας με τους ασθενείς κατά αντιστοιχία της κάθε ομάδας. Οι τρεις ομάδες ελέγχου προέκυψαν από τα 202 παιδιά της μελέτης μας με φυσιολογικό ήπαρ. Οι ασθενείς των τριών ομάδων και τα παιδιά των τριών ομάδων ελέγχου-μαρτύρων αντιστοιχίστηκαν 1:1 ανά φύλο και ηλικία [93,94]. Από τα συνολικά 202 παιδιά με φυσιολογική ηπατική ελαστικότητα, τα 32 αποτέλεσαν τους μάρτυρες για την πρώτη ομάδα των διάφορων χρόνιων ηπατικών παθήσεων (ποσοστό επιτυχούς αντιστοίχισης με το φύλο:94%, επιτυχούς αντιστοίχισης με την ηλικία: 94%), τα 33 για την ομάδα της αυτοάνοσης ηπατίτιδας (αντιστοίχιση φύλου:100%, αντιστοίχιση ηλικίας 99%), και τα 19 για την ομάδα της ατρησίας των χοληφόρων (αντιστοίχιση φύλου: 90%, αντιστοίχιση ηλικίας 85%).

2.2.2. Πρωτόκολλο εξέτασης με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία

Το ίδιο πρωτόκολλο εξέτασης όσον αφορά την τεχνική της ελαστογραφίας πραγματοποιήθηκε σε όλες τις ομάδες της μελέτης μας: στην ομάδα των παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ και στις ομάδες των ασθενών, το οποίο περιγράφεται στην παράγραφο 2.1.2. Επισημαίνεται ότι η χρήση του όρου «αυξημένες ή υψηλές τιμές ηπατικής ελαστικότητας» για τους ασθενείς αντιστοιχεί σε αυξημένη-παθολογική δυσκαμψία (stiffness) του ηπατικού παρεγχύματος.

Όπως και στα παιδιά με φυσιολογικό ήπαρ, οι μετρήσεις της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος στους ασθενείς μας πραγματοποιήθηκαν με υψίσυχο ηχοβολέα 9L και με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6. Συγκεκριμένα τα νεογνά και βρέφη (με εύρος ηλικίας: 9 ημερών έως 24 μηνών) εξετάστηκαν με υψίσυχο ηχοβολέα 9L, ενώ τα μεγαλύτερα παιδιά >2 ετών με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6, διότι με βάση την εμπειρία μας, όταν τα νεογνά και τα βρέφη εξετάζονται με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων συχνά τα ελαστογράμματα έχουν ανομοιογενές χρώμα, με συνέπεια τη δυσκολία της σωστής τοποθέτησης της κυκλικής περιοχής ενδιαφέροντος για τις μετρήσεις της ελαστικότητας του ήπατος. Όπως και στα παιδιά με φυσιολογικό ήπαρ, για την αποφυγή λανθασμένων αποτελεσμάτων λόγω χρησιμοποίησης του υψίσυχου ηχοβολέα στα νεογνά και βρέφη, εξετάσαμε και με τους δύο τύπους ηχοβολέων 22 ασθενείς μας, τυχαία επιλεγόμενους, με διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες.

2.2.3. Ηπατική βιοψία

Σε όλους τους ασθενείς της μελέτης μας πραγματοποιήθηκε ηπατική βιοψία. Στους περισσότερους ασθενείς πραγματοποιήθηκε διαδερμική ηπατική βιοψία. Μόνο σε 10 παιδιά με ατρησία χοληφόρων η ηπατική βιοψία πραγματοποιήθηκε χειρουργικά, με μέσο χρονικό διάστημα μετά την ελαστογραφία μια εβδομάδα (με διακύμανση ημερών: 3-10 ημέρες). Σε 34 ασθενείς η ελαστογραφία πραγματοποιήθηκε την ίδια μέρα με την διαδερμική ηπατική βιοψία. Σε αυτές τις περιπτώσεις η ελαστογραφία προηγήθηκε χρονικά της ηπατικής βιοψίας. Στο σύνολο των ασθενών, που πραγματοποιήθηκε διαδερμική ηπατική βιοψία, το μέσο χρονικό διάστημα μεταξύ της ελαστογραφίας και της βιοψίας ήταν 1 ημέρα (με διακύμανση ημερών: 0-90 ημέρες). Η διαδερμική ηπατική βιοψία πραγματοποιήθηκε σε όλους τους ασθενείς από παιδογαστρεντερολόγο στο χειρουργικό χώρο, αφού πρώτα η περιοχή εισόδου στο κατάλληλο δεξιό μεσοπλεύριο διάστημα είχε σημανθεί με το υπερηχογράφημα. Χρησιμοποιήθηκε για την ηπατική βιοψία βελόνη Tru-Cut. Το κατάλληλο ηπατικό τεμαχίδιο για την ιστολογική εξέταση έπρεπε να είχε μήκος τουλάχιστον 1,5 εκ. και να περιλάμβανε 10 πυλαία διαστήματα.

Ο βαθμός της ηπατικής ίνωσης εκτιμήθηκε ημιποσοτικά με το σύστημα METAVIR, σύμφωνα με οποίο το στάδιο F0 αντιστοιχεί σε απουσία ίνωσης, το F1 σε επέκταση των πυλαίων διαστημάτων χωρίς σχηματισμό πυλαιο-πυλαιων διαφραγματίων, το F2 σε σχηματισμό λίγων πυλαιο-πυλαιων διαφραγματίων, το F3 σε σχηματισμό πολυάριθμων πυλαιο-πυλαιων διαφραγματίων και το F4 σε κίρρωση [30]. Η ηπατική ίνωση κατά αντιστοιχία ταξινομήθηκε σε ήπια (F1), σε μέτρια (F2), σε ικανή (F3) και σε κίρρωση (F4) [30].

Η ενεργότητα της χρόνιας ηπατίτιδας, σε όσες ηπατοπάθειες της μελέτης μας αναδείχθηκε ιστολογικά, εκτιμήθηκε με το σύστημα METAVIR και κατηγοριοποιήθηκε σε ελάχιστη-ήπια (A1), σε μέτρια (A2), και σε ικανή ενεργότητα (A3) [30].

3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ

3.1. Στατιστική επεξεργασία δεδομένων ομάδας παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ

Αρχικά πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος της κανονικότητας (έλεγχος Kolmogorov-Smirnov και Shapiro-Wilk). Ακολούθησαν οι μη παραμετρικοί έλεγχοι (Mann-Whitney or Kruskal-Wallis) για τα δεδομένα μη κανονικής κατανομής, ενώ παραμετρικοί έλεγχοι [t-test ή ανάλυση διασποράς (ANOVA)] χρησιμοποιήθηκαν για τα δεδομένα κανονικής κατανομής. Για τα «δείγματα» που δεν ήταν ανεξάρτητα μεταξύ τους, αλλά ήταν ανά ζεύγη, χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος t για «δείγματα» ανά ζεύγη (paired t-test ή ο έλεγχος προσημασμένης διάταξης του Wilcoxon-Wilcoxon signed rank test). Οι στατιστικοί δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν για τα δεδομένα κανονικής κατανομής ήταν ο μέσος όρος (mean) και η τυπική απόκλιση (standard deviation) και για τα δεδομένα μη κανονικής κατανομής ο διάμεσος όρος (median) και το εύρος τιμών (range).

Η σχέση μεταξύ της ηπατικής ελαστικότητας και της ηλικίας διερευνήθηκε με την ανάλυση παλινδρόμησης (regression analysis). Γραμμική και μη γραμμική παλινδρόμηση χρησιμοποιήθηκε, ώστε να ανευρεθεί η κατάλληλη καμπύλη για τα δεδομένα μας. Η σχέση μεταξύ της ηπατικής ελαστικότητας και των υπόλοιπων μεταβλητών (δείκτης μάζας σώματος, μέγεθος ήπατος, και μετρήσεις Doppler) διερευνήθηκε με την πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης. Η μέθοδος Bland-Altman plots χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της συμφωνίας ανάμεσα σε διαφορετικά σύνολα μετρήσεων, όπως στις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας σε διαφορετικά βάθη, καθώς και στο διαφορετικό αριθμό επαναλαμβανόμενων μετρήσεων. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το IBM SPSS software (SPSS, version 24).

3.2. Στατιστική επεξεργασία δεδομένων των ομάδων ασθενών-ασθενειών

Αρχικά πραγματοποιήθηκε ο έλεγχος της κανονικότητας (έλεγχος Kolmogorov-Smirnov και Shapiro-Wilk). Ακολούθησαν οι παραμετρικοί έλεγχοι [t-test ή ανάλυση διασποράς (ANOVA)] για τα δεδομένα κανονικής κατανομής και οι μη παραμετρικοί έλεγχοι (Mann-Whitney or Kruskal-Wallis) για τα δεδομένα μη κανονικής κατανομής. Επιπλέον, χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος διαμέσου (Median test) στις τρεις ομάδες ασθενειών για την αξιολόγηση διαφορών μεταξύ των σταδίων ίνωσης, ως πιο κατάλληλος από τον έλεγχο Kruskal-Wallis όσον αφορά τη σύγκριση ομάδων με άνισες κατανομές και μεγέθη [95].

Οι στατιστικοί δείκτες που χρησιμοποιήθηκαν για τα δεδομένα κανονικής κατανομής ήταν ο μέσος όρος (mean) και η τυπική απόκλιση (standard deviation) και για τα δεδομένα μη κανονικής κατανομής ο διάμεσος όρος (median) και το εύρος τιμών (range). Οι τιμές της ηπατικής ελαστικότητας εκφράστηκαν σε kPa.

Η πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (Multivariable stepwise linear regression analysis) χρησιμοποιήθηκε για τη διερεύνηση της σχέσης μεταξύ της ηπατικής ελαστικότητας και των μεταβλητών, που αφορούν τις χρόνιες ηπατοπάθειες, όπως η ηπατική ίνωση, για την κάθε ομάδα ασθενειών. Για να αποφευχθούν λάθη που σχετίζονται με τον αριθμό των παιδιών σε κάθε ομάδα ασθενειών, επιλέχθηκαν οι πιο σχετικές μεταβλητές για την κάθε ομάδα ασθενειών. Πιο συγκεκριμένα, το σύστημα METAVIR βαθμολόγησης των σταδίων της ηπατικής ίνωσης (METAVIR fibrosis stage), η πυροσταφυλική αμινοτρανσφεράση, η γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση και η άμεση χολερυθρίνη είναι οι μεταβλητές, που επιλέχθηκαν για την πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης και στις τρεις ομάδες ασθενειών ως τις πιο πιθανά σχετιζόμενες με την ηπατική ελαστικότητα [87, 88,96,97]. Επιπλέον, η ηλικία του ασθενούς συμπεριλήφθηκε ως μεταβλητή και στις τρεις ομάδες ασθενειών λόγω του ευρέος φάσματός της (στην ομάδα με τις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες και στην ομάδα της αυτοάνοσης ηπατίτιδας) και λόγω της πιθανής σχέσης της με τις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας στην ομάδα της ατρησίας των χοληφόρων [90,91]. Τέλος, ο βαθμός ενεργότητας της φλεγμονής συμπεριλήφθηκε στην ανάλυση ως μεταβλητή στην ομάδα με τις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες και στην ομάδα της αυτοάνοσης ηπατίτιδας, αλλά δεν συμπεριλήφθηκε στην ομάδα της ατρησίας των χοληφόρων, καθώς δεν αποτελεί ιστολογικό εύρημα για τη συγκεκριμένη νόσο [30]. Πετύχαμε έτσι μια αποδεκτή αναλογία ασθενών-μεταβλητών 5:1 [98].

Η υπόθεση της μη πολυσυγγραμμικότητας (non-multicollinearity) ικανοποιήθηκε σε όλα τα μοντέλα παλινδρόμησης: ο συντελεστής διόγκωσης της διασποράς (Variance Inflation Factor, VIF) ήταν <4 για όλες τις μεταβλητές [99]. Οι μεταβλητές με οριακή συγγραμμικότητα (collinearity) ($VIF > 2.5$) εξετάστηκαν σε διαφορετικά μοντέλα [100]. Η ανάλυση Receiver operating characteristic (ROC) χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό των βέλτιστων κατωφλίων διάγνωσης (cut-offs) και της αντίστοιχης διαγνωστικής ακρίβειας της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας για τη διάκριση της ελάχιστης ιστολογικής ίνωσης, $\geq F1$ ($F0$ έναντι $F1-4$), της μέτριας ιστολογικής ίνωσης, $\geq F2$ ($F0-1$ έναντι $F2-4$), της ικανής ιστολογικής ίνωσης, $\geq F3$ ($F0-2$ έναντι $F3-4$) και της κίρρωσης $F4$ ($F0-3$ έναντι $F4$) [62,88,101]. Η περιοχή κάτωθεν της καμπύλης (area under the curve-AUC), τα βέλτιστα κατώφλια διάγνωσης (cut-offs), η ευαισθησία και η ειδικότητα υπολογίστηκαν με τη ανίχνευση του σημείου, που ελαχιστοποιεί την ευκλείδεια απόσταση μεταξύ της καμπύλης ROC και του σημείου (0,1) [102]. Τα αποτελέσματα από όλους τους ελέγχους θεωρήθηκαν σημαντικά εάν το $P < 0.05$. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με το IBM SPSS software (SPSS, version 24).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1. Αποτελέσματα ομάδας παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ

Αρχικά, λόγω της ετερογένειας στην προέλευση των παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ έγινε σύγκριση των τιμών της ελαστικότητας του ήπατος μεταξύ των παιδιών με βάση την προέλευσή τους, δηλαδή μεταξύ των παιδιών του προσωπικού του νοσοκομείου μας, των παιδιών με υπερηχογράφημα ρουτίνας νευρικού ή ουροποιογεννητικού συστήματος και των παιδιών με παροδικό οξύ κοιλιακό άλγος χωρίς συμμετοχή ήπατος. Δεν διαπιστώθηκε σημαντική στατιστική διαφορά στις μέσες τιμές της ελαστικότητας του ήπατος μεταξύ αυτών των ομάδων παιδιών (Πίνακας 1, Kruskal-Wallis $P > 0.1$), γεγονός που επέτρεψε την συνολική μελέτη όλων των παιδιών ως μία ομάδα.

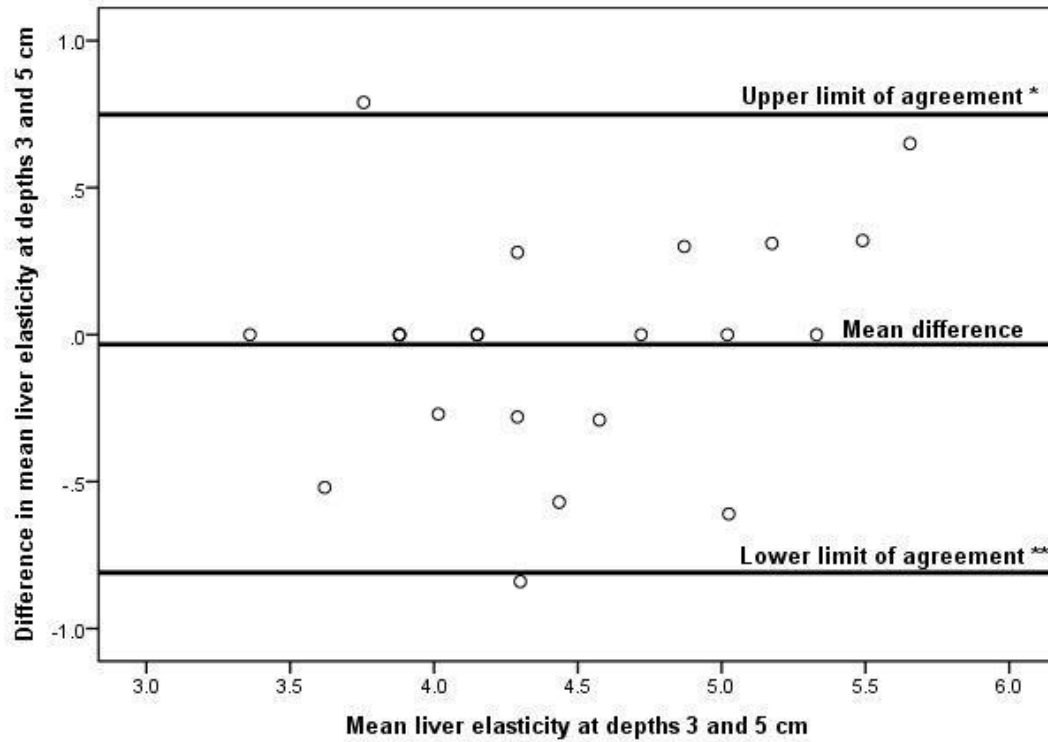
Πίνακας 1. Ομάδες παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ με βάση την προέλευσή τους, αριθμός παιδιών κάθε ομάδας και η αντίστοιχη μέση τιμή ελαστικότητας του ήπατος

Ομάδες παιδιών με φυσιολογικό ήπαρ	Αριθμός παιδιών (n)	Μέση τιμή ελαστικότητας (mean) ± τυπική απόκλιση (standard deviation)
Παιδιά προσωπικού	103	4.24 ± 0.53 kPa
Παιδιά με υπερηχογράφημα ρουτίνας νευρικού ή ουροποιογεννητικού συστήματος	63	4.36 ± 0.67 kPa
Παιδιά με παροδικό οξύ κοιλιακό άλγος χωρίς συμμετοχή ήπατος	36	4.25 ± 0.55 kPa
Συνολικά	202	

Λόγω χρησιμοποίησης υψίσυχνου ηχοβολέα 9L στα νεογνά και βρέφη και ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6 στα μεγαλύτερα παιδιά >2 ετών, εξετάσαμε 20 νεογνά και βρέφη με φυσιολογικό ήπαρ και με τους δύο ηχοβολείς για να δούμε αν υπήρχαν διαφορές στις τιμές ελαστικότητας του ήπατος με τους δύο ηχοβολείς.

Πραγματοποιήθηκαν από 5 μετρήσεις με κάθε ηχοβολέα σε κάθε παιδί σε βάθος ≤ 3 εκατοστά από το κοιλιακό τοίχωμα. Δεν διαπιστώθηκε σημαντική στατιστική διαφορά στις μέσες τιμές της ελαστικότητας του ήπατος (mean values) και με τους δύο ηχοβολείς στα 20 νεογνά και βρέφη (4.55 ± 0.76 kPa με C1–6 ηχοβολέα έναντι 4.6 ± 0.67 kPa με 9 L ηχοβολέα, paired t-test, $P > 0.1$), υποδηλώνοντας ότι οποιαδήποτε διαφορά στα αποτελέσματα της ομάδας των νεογνών και βρεφών δεν θα έπρεπε να αποδοθεί στη χρήση του υψίσυχνου ηχοβολέα 9L.

Επίσης, οι μέσες τιμές της ηπατικής ελαστικότητας, που προέκυψαν από μετρήσεις σε διαφορετικά βάθη από το κοιλιακό τοίχωμα (≥ 3 εκ., ≥ 4 εκ. και ≥ 5 εκ. έως 6 εκ.) σε 38 παιδιά, που εξετάστηκαν με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6, (18 κορίτσια και 20 αγόρια, μέση ηλικία 11,5 έτη) δεν είχαν σημαντική στατιστική διαφορά: 4.27 ± 0.71 kPa στα 3 εκ., 4.27 ± 0.74 kPa στα 4 εκ. και 4.27 ± 0.68 kPa στα 5 εκ. (ANOVA, $F = 0.001$, $P > 0.1$). Επιπλέον, οι μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας στα 3 εκ. και στα 5 εκ., στο μικρότερο και μεγαλύτερο βάθος αντιστοίχως, ήταν σε συμφωνία όπως φαίνεται στο διάγραμμα Bland-Altman, (one-sample t-test, $P > 0.69$) (Εικ. 7) [103]. Με βάση αυτό το αποτέλεσμα, σε όλα τα παιδιά, που εξετάστηκαν με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6, οι μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας πραγματοποιήθηκαν ανεξαρτήτως βάθους. Στη συντριπτική πλειοψηφία αυτών των παιδιών, το βάθος όπου αποκτήθηκαν τα καταλληλότερα ελαστογράμματα, αυτά δηλαδή με ομοιόμορφο ομοιογενές χρώμα, κυμαινόταν μεταξύ 4 και 5 εκατοστών από το κοιλιακό τοίχωμα.



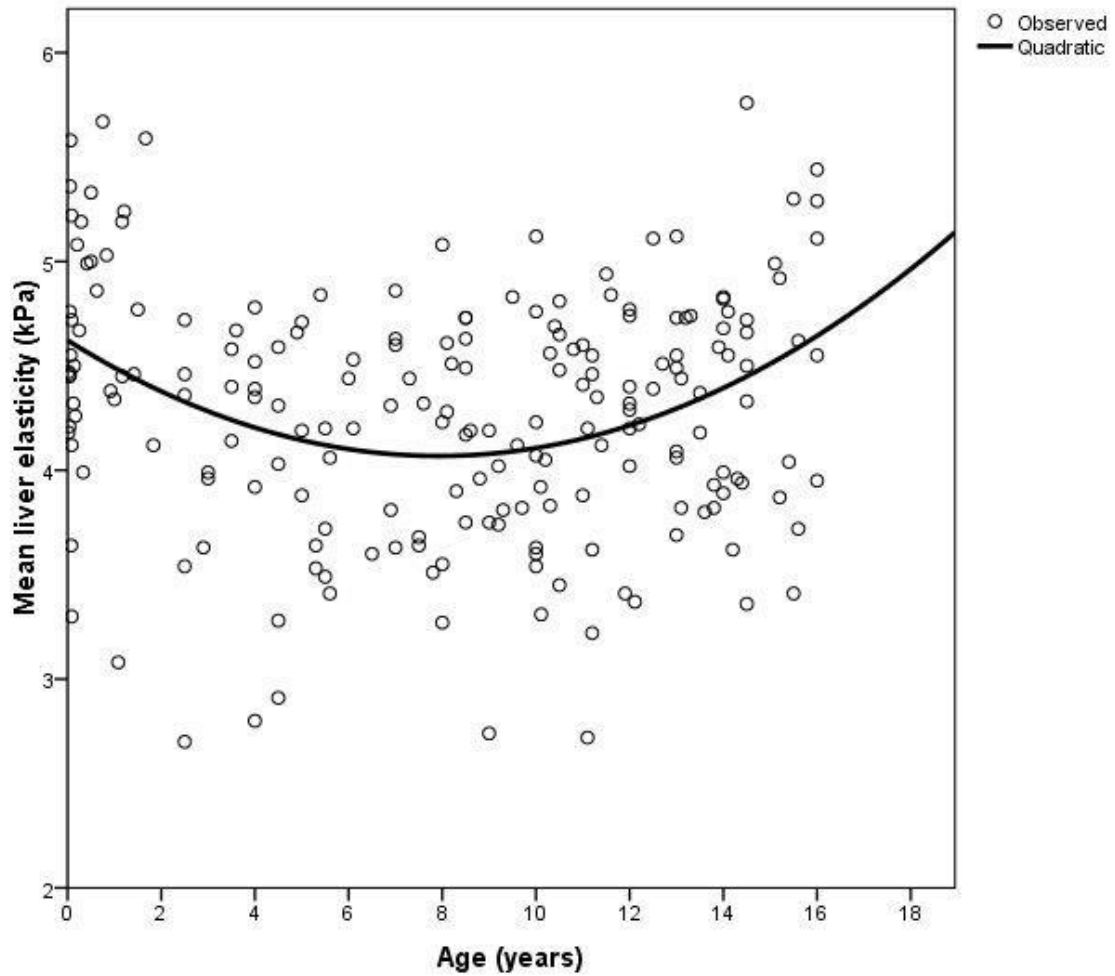
* + 1.96 standard deviations
 ** - 1.96 standard deviations

Εικόνα 7. Διάγραμμα Bland-Altman των διαφορών των μέσων όρων της ηπατικής ελαστικότητας στα μικρότερα (3 εκ.) και στα μεγαλύτερα (5 εκ.) βάθη (Difference in mean liver elasticity at depths 3 an 5 cm) σε σχέση με τους μέσους όρους των μετρήσεων σε βάθη 3 και 5 εκατοστών (Mean liver elasticity at depths 3 an 5 cm). Οι έντονες οριζόντιες γραμμές απεικονίζουν τη μέση διαφορά καθώς και τα αντίστοιχα ανώτερα και κατώτερα όρια, που καθορίζονται ως η μέση διαφορά ± 1.96 φορές την τυπική απόκλιση αυτών. Περισσότερο από 95% των μετρήσεων ικανοποιούν τις άνω συνθήκες και βρίσκονται μεταξύ των βαθών των 3 και 5 εκατοστών.

Οι τιμές ελαστικότητας του φυσιολογικού ήπατος με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία σε όλο τον παιδικό πληθυσμό της μελέτης μας κυμαινόταν από 2.7 έως 5.7 kPa, με μέση τιμή (mean value) 4.29 kPa και τυπική απόκλιση 0.59. Τα αγόρια είχαν υψηλότερες μέσες τιμές ηπατικής ελαστικότητας συγκριτικά με τα κορίτσια (4.39 ± 0.56 kPa έναντι 4.17 ± 0.59 kPa, t-test, $P=0.007$).

Οι τιμές αναφοράς της ελαστικότητας του φυσιολογικού ήπατος ανά ηλικιακή ομάδα αναγράφονται στον Πίνακα 2.

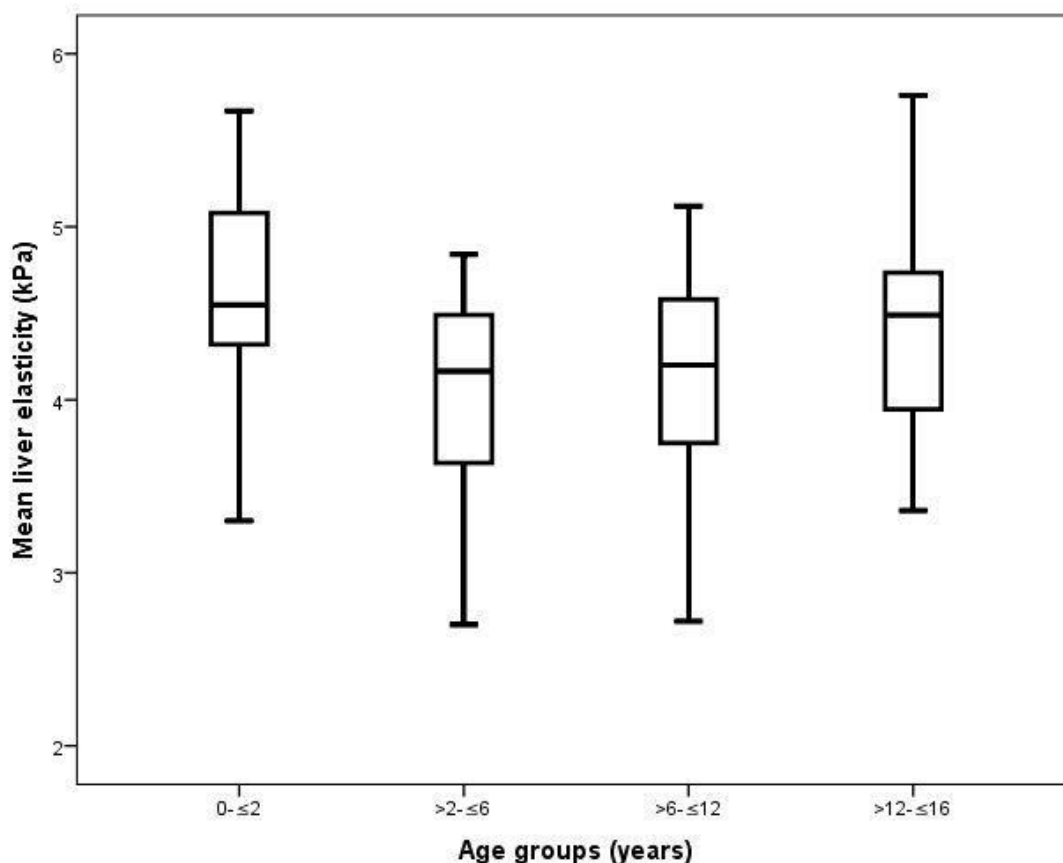
Στη μελέτη μας διαπιστώθηκε μη γραμμική συσχέτιση της ηπατικής ελαστικότητας με την ηλικία. Στην εικόνα 8 απεικονίζεται η καμπύλη, που προέκυψε από την ανάλυση παλινδρόμησης, η οποία περιγράφεται καλύτερα με μια συνάρτηση δευτέρου βαθμού της μέσης ηπατικής ελαστικότητας και της ηλικίας : $y=0.008x^2 -0.14x +4.6$, όπου y η μέση ηπατική ελαστικότητα (mean liver elasticity) σε kPa και x η ηλικία σε έτη (regression analysis , $P<0.0001$) [103]. Στην απεικονιζόμενη καμπύλη αναδεικνύονται υψηλότερες τιμές ελαστικότητας στα πρώτα χρόνια ζωής (≤ 2 ετών) και στην εφηβεία (>12 έως ≤ 16 ετών) από ό,τι στην παιδική ηλικία (≥ 2 έως ≤ 12 ετών).



Quadratic: $y=0.0088186x^2-0.139767x+4.622348$, where y stands for Mean liver elasticity (kPa) and x refers to Age (in years).

Εικόνα 8: Μη γραμμική συσχέτιση της ηπατικής ελαστικότητας με την ηλικία όπως φαίνεται στο διάγραμμα της μέσης τιμής της ελαστικότητας [mean liver elasticity (kPa)] σε σχέση με την ηλικία [age (years)]. Απεικονίζεται η βέλτιστη καμπύλη συνάρτησης δευτέρου βαθμού, που προέκυψε από την ανάλυση παλινδρόμησης.

Τα ίδια αποτελέσματα παρατηρούνται και στην εικόνα 9, σύμφωνα με την οποία, οι υψηλότερες μέσες τιμές ηπατικής ελαστικότητας διαπιστώθηκαν στα νεογνά και βρέφη (≤ 2 ετών) καθώς και στην εφηβεία (≥ 12 ετών), (Kruskal-Wallis, $P < 0.001$; individual group Mann-Whitney U tests, $P < 0.05$), [103]. Δεν διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές στη μέση τιμή ηπατικής ελαστικότητας μεταξύ των παιδιών προσχολικής ηλικίας και παιδιών ηλικίας $>6 - \leq 12$ ετών ($P = 0.439$).



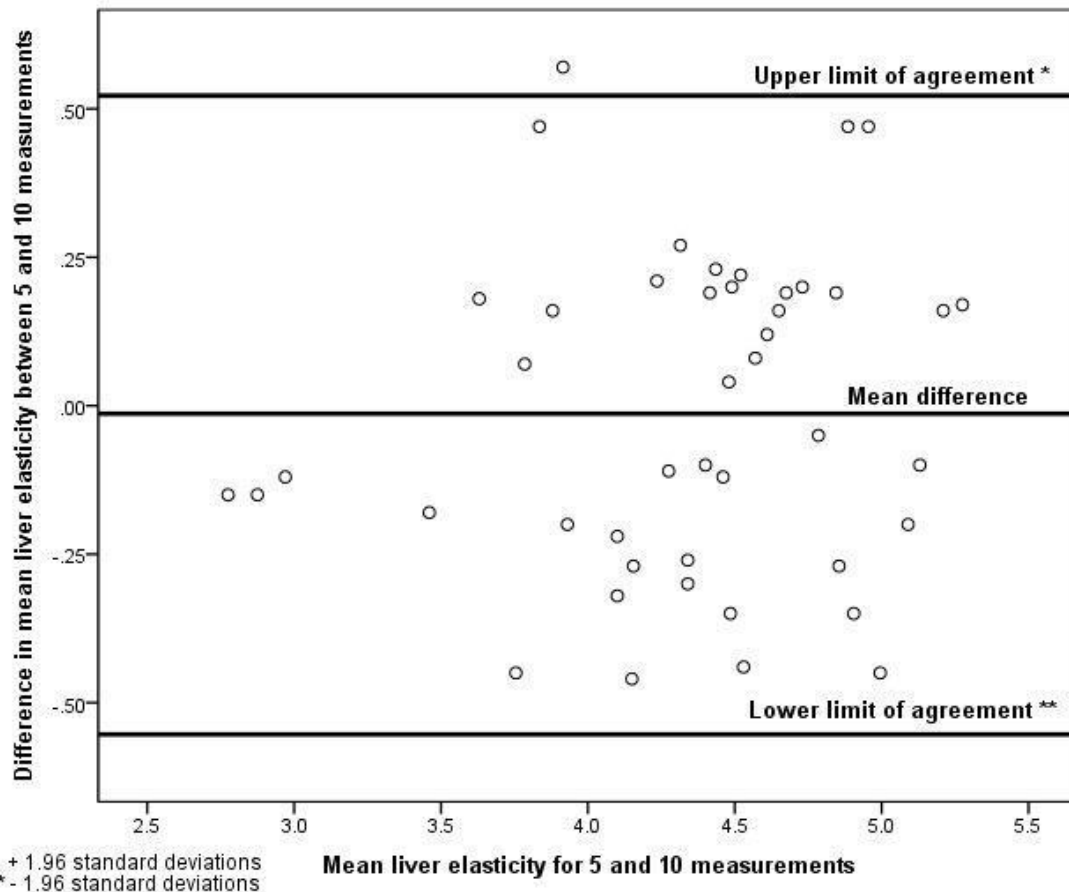
Εικόνα 9. Διαγράμματα πλαισίου (Box plots) των μέσων τιμών φυσιολογικής ηπατικής ελαστικότητας (mean liver elasticity) στις ηλικιακές ομάδες [age groups (years)]. Το άνω και το κάτω άκρο του κάθε πλαισίου συνιστούν αντιστοίχως το 25^ο και το 75^ο εκατοστιαίο σημείο των παρατηρήσεων, η εσωτερική οριζόντια γραμμή σε κάθε πλαίσιο δείχνει τη διάμεση τιμή, η ανώτερη και η κατώτερη οριζόντια γραμμή έξω από τα πλαίσια (whiskers) περιλαμβάνουν αντιστοίχως το ανώτερο 25% και το κατώτερο 25% των παρατηρήσεων.

Στον πίνακα 2 εκτός των τιμών αναφοράς της ελαστικότητας του φυσιολογικού ήπατος ανά ηλικιακή ομάδα, αναγράφονται και οι μέσοι όροι του δείκτη σωματικής μάζας, του μεγέθους του ήπατος και των παραμέτρων του Doppler ανά ηλικιακή ομάδα. Δεν διαπιστώθηκε καμία συσχέτιση της μέσης τιμής της ηπατικής ελαστικότητας με το δείκτη σωματικής μάζας και το μέγεθος του ήπατος. Όπως, επίσης δεν βρέθηκε καμία συσχέτιση της μέσης τιμής της ηπατικής ελαστικότητας με το εύρος της πυλαίας φλέβας και τις Doppler παραμέτρους (μέγιστη συστολική και μέγιστη time-averaged ταχύτητα πυλαίας φλέβας και δείκτη αγγειακής αντίστασης ηπατικής αρτηρίας), [πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (multiple linear regression analysis), $P>0.1$].

Όσον αφορά τον αριθμό των μετρήσεων, σε 157 παιδιά πραγματοποιήθηκαν πέντε μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας μέσω διαφορετικών μεσοπλευρίων διαστημάτων σε κάθε παιδί, με μέσο όρο ηπατικής ελαστικότητάς 4.27 ± 0.58 kPa. Στα υπόλοιπα 45 παιδιά πραγματοποιήθηκαν δέκα μετρήσεις σε κάθε παιδί, με μέσο όρο ηπατικής ελαστικότητάς 4.30 ± 0.65 kPa. Σε αυτά τα 45 παιδιά, στα οποία ήταν διαθέσιμες και οι 5 και οι 10 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, υπήρξε συμφωνία μεταξύ αυτών των δύο συνόλων μετρήσεων. Αυτό φαίνεται στο διάγραμμα Bland-Altman στην εικόνα 10, όπου δεν υπάρχει σημαντική διαφορά μεταξύ της μέσης διαφοράς των 2 συνόλων μετρήσεων (5 και 10) και του μηδενός (one-sample t-test, $P>0.75$), [103].

Πίνακας 2. Αποτελέσματα τιμών ελαστικότητας (kPa) με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, δείκτη μάζας σώματος, μέγεθος ήπατος και μεταβλητών Doppler ανά ηλικιακή ομάδα.

Ηλικιακές ομάδες	≤ 2 ετών (n=37)	>2- ≤ 6 ετών (n=36)	>6-≤ 12 ετών (n=78)	>12-≤ 16 ετών (n=51)
Ελαστικότητα, μέσος όρος (mean) ± τυπική απόκλιση (standard deviation) (kPa)	4.63 ± 0.6	4.05 ± 0.57	4.15 ± 0.52	4.39 ± 0.55
Ελαστικότητα, διάμεσος (median) ± τυπικό σφάλμα (standard error) (kPa)	4.55 ± 0.09	4.16 ± 0.1	4.20 ± 0.05	4.49 ± 0.07
Ελαστικότητα, εύρος (kPa)	3.08-5.67	2.7-4.84	2.72-5.12	3.36-5.76
Δείκτης σωματικής μάζας (μέσος όρος ± τυπική απόκλιση)	15.1 ± 2.76	15.1 ± 2.3	17.88 ± 3.31	19.61 ± 2.37
Μέγεθος δεξιού λοβού (εκ) (μέσος όρος ± τυπική απόκλιση)	6.56 ± 1.57	10.02 ± 1.05	11.75 ± 1.21	13.49 ± 1.55
Εύρος πυλαίας φλέβας (εκ) (μέσος όρος ± τυπική απόκλιση)	0.44 ± 0.09	0.69 ± 0.09	0.78 ± 0.14	0.95 ± 0.15
Μέγιστη συστολική ταχύτητα πυλαίας φλέβας (cm/s) (μέσος όρος ± τυπική απόκλιση)	37.49 ± 7.4	37.68 ± 7.61	37.68 ± 7.07	37.17 ± 9.97
Μέγιστη time-averaged ταχύτητα της πυλαίας φλέβας (cm/s) (μέσος όρος ± τυπική απόκλιση)	31.71±6.36	32.46 ± 6.1	31.11 ± 5.87	29.97 ± 7.95
Ηπατική αρτηρία δείκτης αγγειακής αντίστασης εξωηπατικά (μέσος όρος ± τυπική απόκλιση)	0.65 ± 0.07	0.63 ± 0.06	0.63 ± 0.05	0.63 ± 0.08
Ηπατική αρτηρία δείκτης αγγειακής αντίστασης ενδοηπατικά (μέσος όρος ± τυπική απόκλιση)	0.59 ± 0.06	0.56 ± 0.07	0.56 ± 0.07	0.54 ± 0.08



Εικόνα 10. Διάγραμμα Bland-Altman των διαφορών των μέσων όρων της ηπατικής ελαστικότητας μεταξύ 5 και 10 επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (Difference in mean liver elasticity between 5 and 10 measurements) σε σχέση με τους μέσους όρους των 2 συνόλων των μετρήσεων (Mean liver elasticity for 5 and 10 measurements). Οι έντονες οριζόντιες γραμμές απεικονίζουν τη μέση διαφορά καθώς και τα αντίστοιχα ανώτερα και κατώτερα όρια, που καθορίζονται ως η μέση διαφορά ± 1.96 φορές την τυπική απόκλιση αυτών. Περισσότερο από 95% των μετρήσεων ικανοποιούν τις άνω συνθήκες υποδηλώνοντας συμφωνία μεταξύ των δύο συνόλων μετρήσεων.

4.2. Αποτελέσματα ομάδων ασθενών-ασθενειών

Μελετήθηκαν με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία 84 ασθενείς, 36 αγόρια και 48 κορίτσια, με μέση τιμή ηλικίας τα 5,7 έτη και τυπική απόκλιση 5,2 (εύρος ηλικίας: 0,02-14,5 έτη). Η πρώτη ομάδα μελέτης περιελάμβανε 32 παιδιά με διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες, η ομάδα της αυτοάνοσης ηπατίτιδας 33 παιδιά και η ομάδα της ατρησίας χοληφόρων 19 νεογνά και βρέφη. Οι διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες της πρώτης ομάδας παρουσιάζονται στον πίνακα 3. Τα δημογραφικά στοιχεία των ασθενών μας, οι τιμές του βιοχημικού ελέγχου, οι μέσες τιμές ελαστικότητας του ήπατος καθώς και η κατανομή των ασθενών ανά στάδιο ίνωσης και βαθμού ενεργότητας της φλεγμονής στις τρεις ομάδες ασθενειών παρουσιάζονται στον πίνακα 4.

Πίνακας 3. Διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες των παιδιών της πρώτης ομάδας

Νοσήματα	Αριθμός ασθενών (n=32)
Οικογενή ενδοηπατική χολόσταση	7
Χρόνιες ηπατοπάθειες αγνώστου αιτιολογίας	7
Κρυπτογενής κίρρωση	5
Νόσο Wilson	3
Χρόνια ηπατίτιδα C	2
Αγενεσία πυλαίας φλέβας	2
Ανεπάρκεια λυσοσωμικής όξινης λιπάσης	1
Χρόνια ηπατοπάθεια μετά από θεραπεία νεφροβλαστώματος	1
Χρόνια ηπατοπάθεια επί εδάφους αυτοάνοσου νοσήματος (ανεπάρκεια STAT3)	1
α-β υπολιποπρωτεϊναιμία	1
Χρόνια ηπατοπάθεια επί εδάφους συνδρόμου Williams	1
Χρόνια ηπατοπάθεια επί εδάφους συνδρόμου Schachmann Diamond	1

Πίνακας 4. Συνολική παρουσίαση των ομάδων ασθενειών: δημογραφικά στοιχεία ασθενών, τιμές βιοχημικού ελέγχου, μέσες τιμές ελαστικότητας του ήπατος καθώς και η κατανομή των ασθενών ανά στάδιο ίνωσης και βαθμού ενεργότητας της φλεγμονής στις τρεις ομάδες ασθενειών

	Διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες (n=32)	Αυτοάνοση ηπατίτιδα (n=33)	Ατρησία χοληφόρων (n=19)
Ηλικία (έτη), μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	7.1 ± 4.9	8.1 ± 4.4	0.2 ± 0.1
Φύλο (άρρεν) n	17	12	7
Ολική χολερυθρίνη (mg/dL), μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	1.2 ± 1.5	0.6 ± 0.9	8.7 ± 4.1
Άμεση χολερυθρίνη (mg/dL), μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	0.7 ± 1.1	0.4 ± 0.9	6.3 ± 2.5
Οξαλοξική αμινοτρανσφεράση (U/L), μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	94.4 ± 69.4	162.6 ± 259.3	200.9 ± 162.9
Πυροσταφυλική αμινοτρανσφεράση (U/L), μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	121 ± 104.6	256.9 ± 438.8	25.3 ± 88.5
γ-γλουταμυλ τρανσπεπτιδάση (U/L), μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	99.3 ± 126.8	67.1 ± 87.5	478.4 ± 328.4
Αλκαλική φωσφατάση (U/L), μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	309.2 ± 154.4	262 ± 124.4	540. ± 234.1
Αλβουμίνη (g/dL), μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	4.43 ± 0.3	4.39 ± 0.3	4.3 ± 0.5
Χρόνος προθρομβίνης (s), μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	12.7 ± 2.2	12.4 ± 1.3	12.7 ± 2.7
Μέση τιμή ηπατικής ελαστικότητας (kPa), μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	8.9 ± 5	7.1 ± 2.7	19.7 ± 15.2

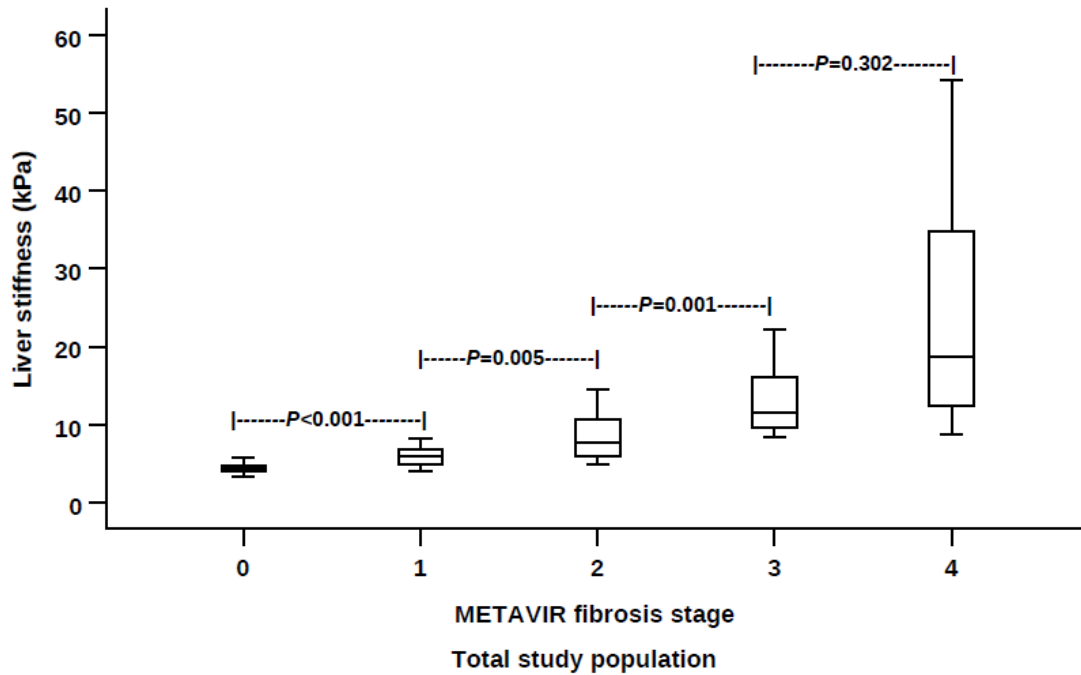
METAVIR στάδιο ίνωσης, fibrosis stage, (n)			
Απουσία (F0)	3	0	0
Ήπια (F1)	8	13	5
Μέτρια (F2)	8	18	5
Ικανή (F3)	4	2	4
Κίρρωση (F4)	9	0	5
METAVIR νεκροφλεγμονώδης ενεργότητα, necroinflammatory activity grade, (n)			
Απουσία	3	0	0
Ελάχιστη- ήπια (A1)	10	14	0
Μέτρια (A2)	4	12	0
Ικανή (A3)	0	7	0

Στα 22 παιδιά με διάφορες χρόνιες ηπατικές παθήσεις, τα οποία επιλέχθηκαν τυχαία και εξετάστηκαν και με τους δύο ηχοβολείς, δεν διαπιστώθηκε σημαντική στατιστική διαφορά στις μέσες τιμές ελαστικότητας του ήπατος, που προέκυψαν και με τους δύο ηχοβολείς. Σε κάθε παιδί πραγματοποιήθηκαν πέντε μετρήσεις ελαστικότητας με τον κάθε ηχοβολέα. Ο μέσος όρος ηλικίας των παιδιών ήταν 5,1 έτη με τυπική απόκλιση τα 4 έτη και εύρος 0,2-12 έτη. Η μέση τιμή ηπατικής ελαστικότητας με τον C1-6 ηχοβολέα ήταν 9.8 kPa με τυπική απόκλιση 7 kPa, έναντι 9.9 kPa και τυπική απόκλιση 7 kPa με τον 9 L ηχοβολέα (paired t-test, $P= 0.45$). Οπότε, οποιαδήποτε διαφορά στα αποτελέσματα της ομάδας των νεογνών και βρεφών δεν θα έπρεπε να αποδοθεί στη χρήση του υψίσυχνου ηχοβολέα 9L.

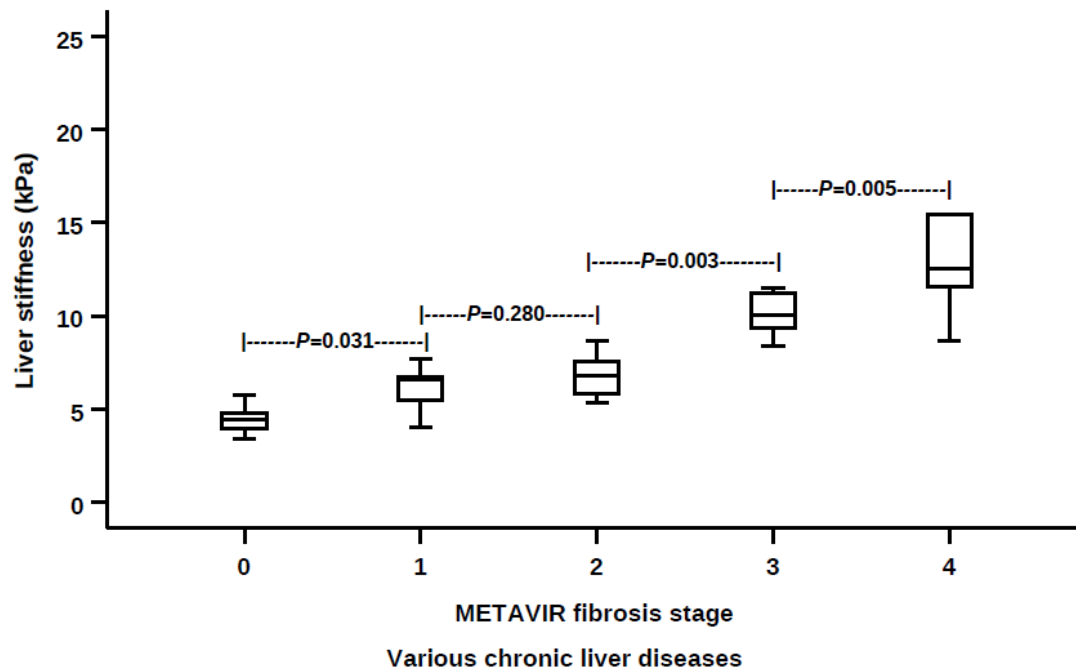
Μεταξύ των ομάδων ασθενών και των αντίστοιχων ομάδων μαρτύρων (matched control groups) διαπιστώθηκαν σημαντικές στατιστικές διαφορές στις μέσες τιμές ελαστικότητας του ήπατος. Συγκεκριμένα, οι ομάδες μαρτύρων είχαν σημαντικά χαμηλότερες τιμές στην ελαστογραφία του ήπατος συγκριτικά με αυτές των αντίστοιχων ομάδων ασθενών-ασθενειών (t-tests, ομάδα με διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες έναντι μαρτύρων: μέση τιμή \pm τυπική απόκλιση, 8.9 ± 5.0 kPa vs 4.4 ± 0.6 kPa, $P<0.0001$; ομάδα αυτοάνοσης ηπατίτιδας έναντι μαρτύρων : 7.1 ± 2.7 kPa vs 4.3 ± 0.6 kPa, $P<0.0001$, ομάδα ατρησίας χοληφόρων έναντι μαρτύρων: 19.7 ± 15.2 kPa vs 4.5 ± 0.5 kPa , $P<0.0001$).

Στη μελέτη μας παρατηρήθηκε αύξηση των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας (stiffness) στα υψηλότερα στάδια της ίνωσης σε όλους τους ασθενείς συνολικά, αλλά και στην κάθε ομάδα ασθενειών χωριστά (**Εικ. 11-14**) [104]. Υπήρξαν σημαντικές στατιστικές διαφορές στις μέσες και διάμεσες τιμές των μετρήσεων της ελαστογραφίας μεταξύ των σταδίων ίνωσης F1, F2, F3 και F4 σε όλες τις ομάδες ασθενειών ($P < 0,05$), εκτός μεταξύ των σταδίων F1 και F2 ($P=0.280$) στην ομάδα των διάφορων χρόνιων ηπατοπαθειών και μεταξύ των σταδίων F2 και F3 ($P=0.134$) στην ομάδα της αυτοάνοσης ηπατίτιδας (**Εικ.12,13**) [104].

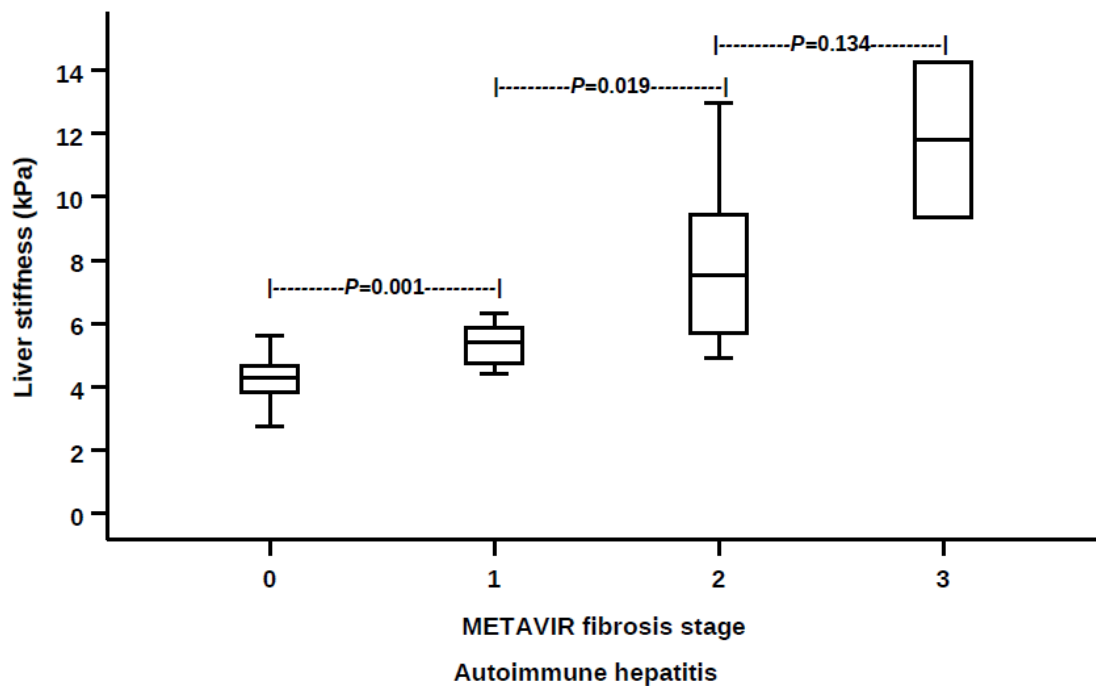
Οι υψηλότερες τιμές ηπατικής ελαστικότητας (stiffness) παρατηρήθηκαν στην ομάδα της ατρησίας χοληφόρων συγκριτικά με τις άλλες δύο ομάδες για τα στάδια ίνωσης \geq F2 (πίνακας 5). Στην ομάδα της αυτοάνοσης ηπατίτιδας οι τιμές της ηπατικής ελαστικότητας κυμαινόταν στα ίδια επίπεδα με τις τιμές της ομάδας με τις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες σε όλα τα στάδια ίνωσης (Kruskal-Wallis H test, F1: $P=0.17$; F2: $P=0.22$; F3: $P=0.80$).



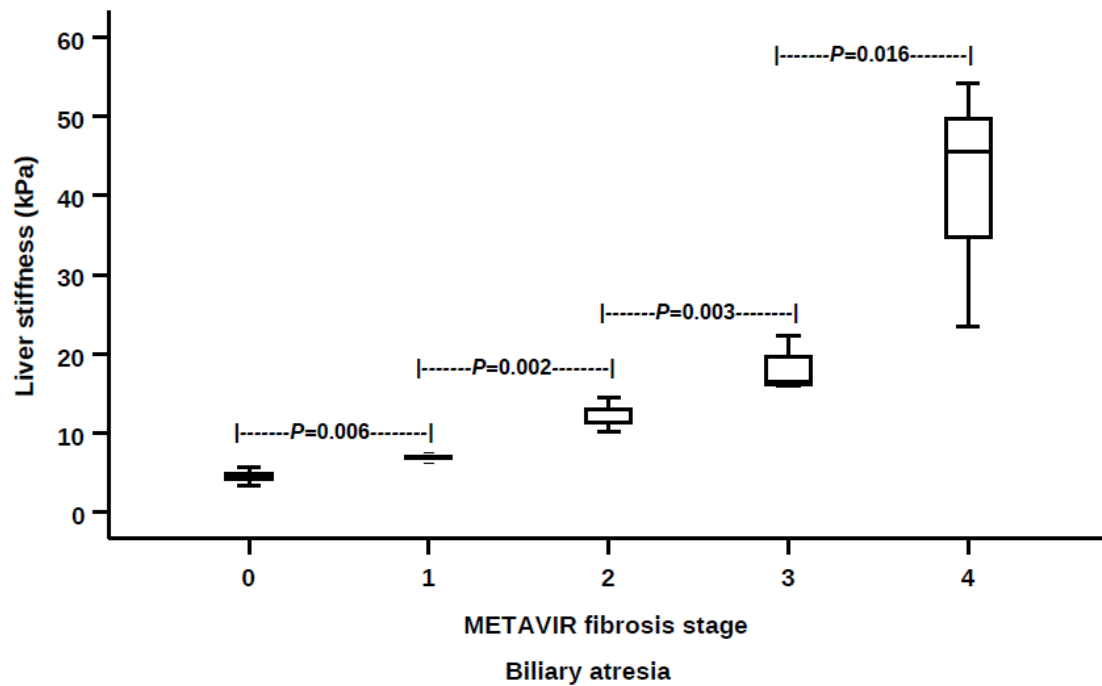
Εικόνα 11. Διαγράμματα πλαισίου (Box plots) της μέσης τιμής των μετρήσεων της ηπατικής ελαστικότητας (liver stiffness) σε σχέση με τα στάδια ίνωσης κατά METAVIR ταξινόμηση (METAVIR fibrosis stage) στο σύνολο των ασθενών και μαρτύρων: τα στάδια ίνωσης 1-4 περιλαμβάνουν όλους τους ασθενείς συνολικά και το στάδιο 0 όλους τους αντίστοιχους μάρτυρες στο σύνολό τους. Απεικονίζονται οι αντίστοιχες τιμές *P* που προέκυψαν από τη σύγκριση των τιμών ελαστικότητας μεταξύ των σταδίων ίνωσης με τον έλεγχο διαμέσου (Median test) στο σύνολο των ομάδων ασθενειών και μαρτύρων (total study population).



Εικόνα 12. Διαγράμματα πλαισίου (Box plots) της μέσης τιμής των μετρήσεων της ηπατικής ελαστικότητας (liver stiffness) σε σχέση με τα στάδια ίνωσης κατά METAVIR ταξινόμηση (METAVIR fibrosis stage) στην ομάδα με τις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες: τα στάδια ίνωσης 1-4 περιλαμβάνουν όλους τους ασθενείς αυτής της ομάδας και το στάδιο 0 τους αντίστοιχους μάρτυρες της ομάδας. Απεικονίζονται οι αντίστοιχες τιμές P που προέκυψαν από τη σύγκριση των τιμών ελαστικότητας μεταξύ των σταδίων ίνωσης με τον έλεγχο διαμέσου (Median test) στη συγκεκριμένη ομάδα.



Εικόνα 13. Διαγράμματα πλαισίου (Box plots) της μέσης τιμής των μετρήσεων της ηπατικής ελαστικότητας (liver stiffness) σε σχέση με τα στάδια ίνωσης κατά METAVIR ταξινόμηση (METAVIR fibrosis stage) στην ομάδα της αυτοάνοσης ηπατίτιδας: τα στάδια ίνωσης 1-3 περιλαμβάνουν τους ασθενείς με αυτοάνοση ηπατίτιδα και το στάδιο 0 τους αντίστοιχους μάρτυρες. Απεικονίζονται οι αντίστοιχες τιμές P που προέκυψαν από τη σύγκριση των τιμών ελαστικότητας μεταξύ των σταδίων ίνωσης με τον έλεγχο διαμέσου (Median test) στη συγκεκριμένη ομάδα.



Εικόνα 14. Διαγράμματα πλαισίου (Box plots) της μέσης τιμής των μετρήσεων της ηπατικής ελαστικότητας (liver stiffness) σε σχέση με τα στάδια ίνωσης κατά METAVIR ταξινόμηση (METAVIR fibrosis stage) στην ομάδα της ατρησίας χοληφόρων: τα στάδια ίνωσης 1-4 περιλαμβάνουν τους ασθενείς με ατρησία χοληφόρων και το στάδιο 0 τους αντίστοιχους μάρτυρες. Απεικονίζονται οι αντίστοιχες τιμές P που προέκυψαν από τη σύγκριση των τιμών ελαστικότητας μεταξύ των σταδίων ίνωσης με τον έλεγχο διαμέσου (Median test) στη συγκεκριμένη ομάδα.

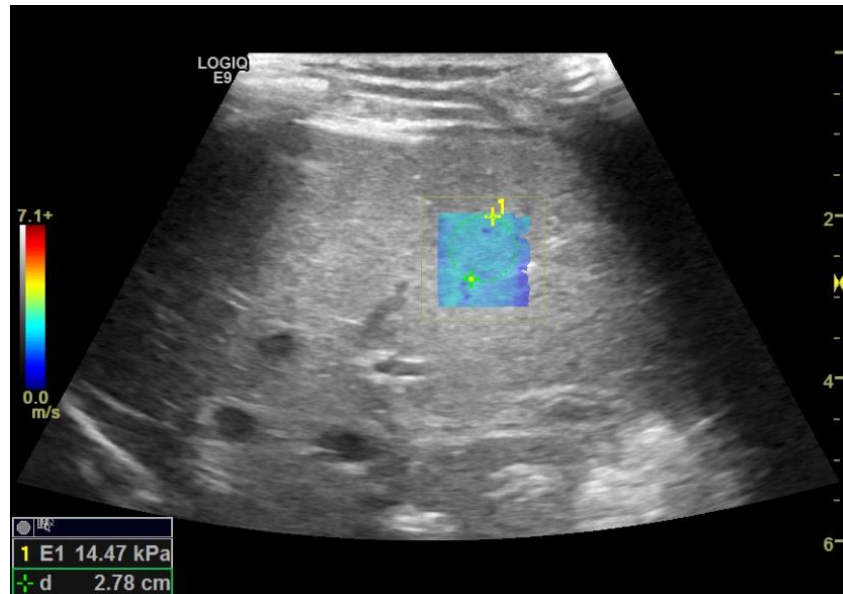
Πίνακας 5. Αποτελέσματα της ηπατικής ελαστικότητας (stiffness) με τη 2-dimensional shear wave ελαστογραφία για το κάθε στάδιο ίνωσης στις τρεις ομάδες ασθενειών

Μετρήσεις ηπατικής ελαστικότητας	Διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες	Αυτοάνοση ηπατίτιδα	Ατρησία χοληφόρων
METAVIR score F1			
Ελαστικότητα, μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (kPa)	6.1 ± 1.2	5.6 ± 1.1	6.9 ± 0.4
Ελαστικότητα, διάμεσος (median) ± τυπικό σφάλμα (standard error) (kPa)	6.5 ± 0.5	5.4 ± 0.3	6.9 ± 0.2
Ελαστικότητα, εύρος (kPa)	4.0 - 7.7	4.4 - 8.3	6.2 - 7.4
<i>P</i> values	0.08	0.01	
METAVIR score F2			
Ελαστικότητα, μέσος όρος ± τυπική απόκλιση (kPa)	6.8 ± 1.2	8.1 ± 2.7	12.4 ± 1.6
Ελαστικότητα, διάμεσος (median) ± τυπικό σφάλμα (standard error) (kPa)	6.8 ± 0.4	7.5 ± 0.7	13 ± 0.7
Ελαστικότητα, εύρος (kPa)	5.3 - 8.6	4.9 - 12	10.2 - 14.4
<i>P</i> values	0.003	0.007	
METAVIR score F3			

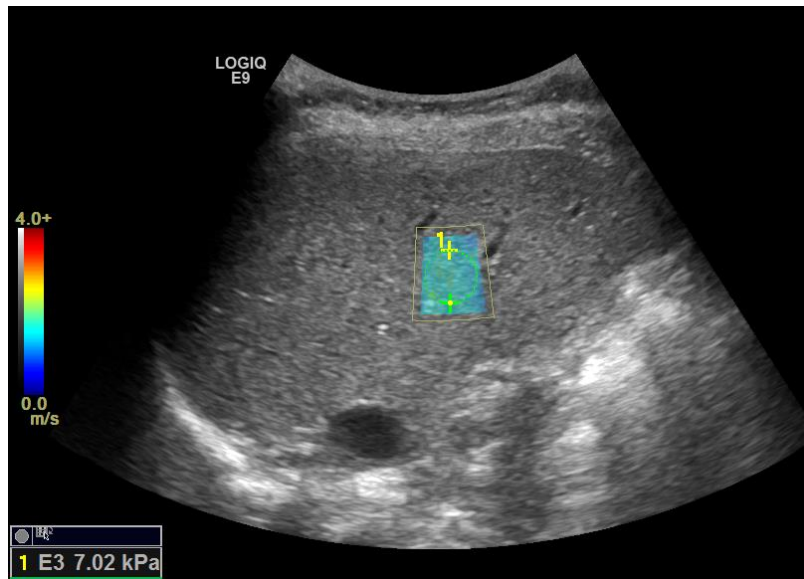
Ελαστικότητα, μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση (kPa)	10.1 \pm 1.3	11.8 \pm 3.5	17.8 \pm 2
Ελαστικότητα, διάμεσος (median) \pm τυπικό σφάλμα (standard error) (kPa)	10 \pm 0.6	11.8 \pm 2.5	16.5 \pm 1.5
Ελαστικότητα, εύρος (kPa)	8.4 - 11.5	9.3 - 14.3	16.1 - 22.3
<i>P</i> values	0.003	0.01	
METAVIR score F4			
Ελαστικότητα, μέσος όρος \pm τυπική απόκλιση (kPa)	14.4 \pm 5.1		41.5 \pm 12.4
Ελαστικότητα, διάμεσος (median) \pm τυπικό σφάλμα (standard error) (kPa)	12.5 \pm 1.7		45.5 \pm 5.6
Ελαστικότητα, εύρος (kPa)	8.7 - 23.3		23.4 - 54.2
<i>P</i> values	0.005		

Οι τιμές *P* αντιστοιχούν στις διαφορές των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας μεταξύ της ατρησίας των χοληφόρων και των άλλων δύο ομάδων για το κάθε στάδιο ίνωσης χρησιμοποιώντας Kruskal-Wallis H test, που ακολουθήθηκε από Dunn-Bonferroni post hoc test. Τα ίδια αποτελέσματα προέκυψαν και με το median test.

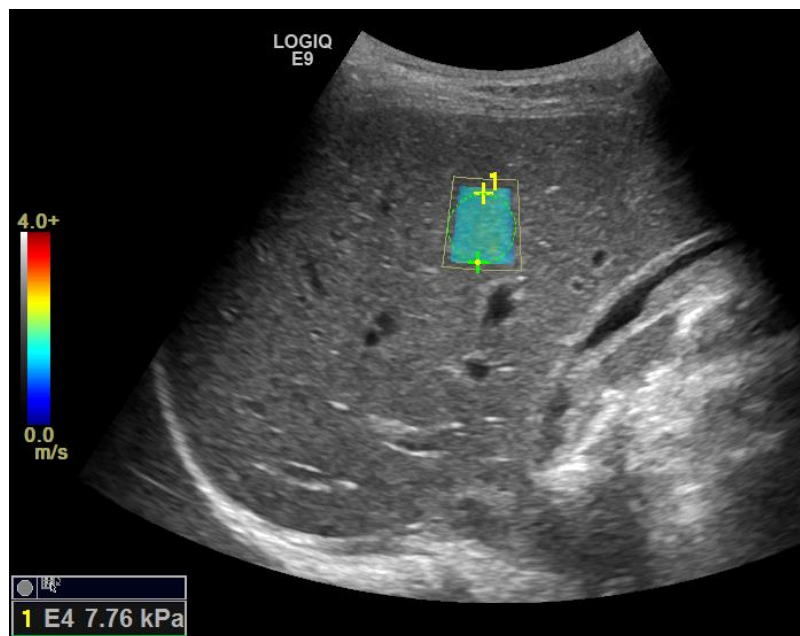
Στις εικόνες 15-17 απεικονίζονται περιπτώσεις ασθενών από την κάθε ομάδα ασθενειών με τις αντίστοιχες τιμές ηπατικής ελαστικότητας για το ίδιο στάδιο ίνωσης F2 κατά METAVIR.



Εικόνα 15. 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία ήπατος σε βρέφος 42 ημερών με ατρησία χοληφόρων. Η εξέταση πραγματοποιήθηκε με υψίσυχο ηχοβολέα 9L. Εντός του έγχρωμου ελαστογράμματος απεικονίζεται μια κυκλική περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) εντός της οποίας η τιμή της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος υπολογίζεται στα 14.4 kPa (η μέση τιμή όλων των μετρήσεων ήταν 13.2 kPa). Η βιοψία ήπατος ανέδειξε μέτρια ίνωση F2 METAVIR.



Εικόνα 16. 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία ήπατος σε κορίτσι 9 ετών με αυτοάνοση ηπατίτιδα: Η τιμή της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος υπολογίζεται στα 7.02 kPa (η μέση τιμή όλων των μετρήσεων ήταν 7.72 kPa). Ιστολογικά αναδείχθηκε μέτρια ίνωση F2 METAVIR και μέτρια (A2) ενεργότητα φλεγμονής.



Εικόνα 17. 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία ήπατος σε αγόρι 14 ετών με προοδευτική οικογενή ενδοηπατική χολόσταση τύπου 2: Η τιμή της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος υπολογίζεται στα 7.76 kPa (η μέση τιμή όλων των μετρήσεων 7.25 kPa). Ιστολογικά αναδείχθηκε μέτρια ίνωση F2 METAVIR.

Η πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (Multivariable linear regression analysis) πραγματοποιήθηκε για τη διερεύνηση της επίδρασης συγκεκριμένων παραγόντων, που σχετίζονται με τον ασθενή και την ασθένεια, στις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας για την κάθε ομάδα ασθενειών (πίνακας 6). Στην ομάδα των διάφορων χρόνιων ηπατοπαθειών μόνο το στάδιο ίνωσης κατά METAVIR είχε σημαντική επίδραση στις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας.

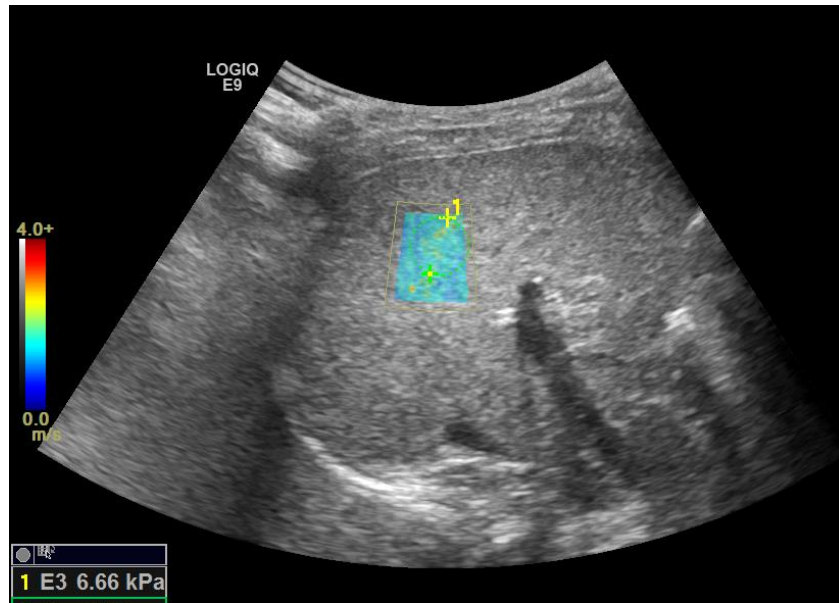
Στην ομάδα της αυτοάνοσης ηπατίτιδας, εκτός από το στάδιο ίνωσης κατά METAVIR, σημαντική επίδραση στις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας είχε και ο βαθμός ενεργότητας της φλεγμονής (πίνακας 6). Εφτά παιδιά, (21%), με αυτοάνοση ηπατίτιδα στα οποία ιστολογικά αναδείχθηκε ικανή (A3) ενεργότητα φλεγμονής, είχαν υψηλές τιμές ηπατικής ελαστικότητας (με εύρος τιμών: 8.3 έως 12.3 kPa). Παρότι αυτές οι τιμές ήταν ανάλογες με αυτές που αντιστοιχούσαν σε ικανή ίνωση στην ομάδα των διάφορων χρόνιων ηπατοπαθειών, σε αυτά τα παιδιά με αυτοάνοση ηπατίτιδα και ικανή (A3) ενεργότητα φλεγμονής ιστολογικά αναδείχθηκε στάδιο ίνωσης μικρό (n=1) ή μέτριο (n=6).

Στα περισσότερα παιδιά, (79%), με αυτοάνοση ηπατίτιδα ιστολογικά διαγνώσθηκε ήπια (n=14) ή μέτρια (n=12) ενεργότητα φλεγμονής. Σε αυτά τα παιδιά με την ήπια ή μέτρια ενεργότητα φλεγμονής διαπιστώθηκε ότι μόνο το στάδιο ίνωσης κατά METAVIR είχε ισχυρή επίδραση στις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας, όπως και στην ομάδα των διάφορων χρόνιων ηπατοπαθειών. Όλα αυτά τα ευρήματα δείχνουν, ότι η αυξημένη ενεργότητα φλεγμονής είναι ανεξάρτητος καθοριστικός παράγοντας της ηπατικής ελαστικότητας στην αυτοάνοση ηπατίτιδα (**Εικ.18,19**). Επιπλέον, η πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης δεν ανέδειξε καμία επίδραση της πυροσταφυλικής αμινοτρανσφεράσης στις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας στην αυτοάνοση ηπατίτιδα.

Πίνακας 6. Αποτελέσματα πολλαπλής γραμμικής ανάλυσης παλινδρόμησης μεταξύ της ηπατικής ελαστικότητας και μεταβλητών για την κάθε ομάδα ασθενειών

Διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες					
Πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (n= 32), R = 0.774, R ² =0.600, Adjusted R ² = 0.586					
Μεταβλητές (Variables)	Coefficients (B)	SE	t	P	95% CI
Ηλικία ^a				NS	
METAVIR στάδιο ίνωσης	2.608	0.389	6.704	<0.0001	1.813-3.402
Βαθμός ενεργότητας ^a				NS	
γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση ^a				NS	
Πυροσταφυλική αμινοτρανσφεράση ^a				NS	
Άμεση χολερυθρίνη ^a				NS	
Αυτοάνοση ηπατίτιδα					
Πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (n= 33), R = 0.765, R ² =0.586, Adjusted R ² = 0.558					
Μεταβλητές (Variables)	Coefficients (B)	SE	t	P	95% CI
Ηλικία ^a				NS	
METAVIR στάδιο ίνωσης	1.961	0.584	3.358	0.002	0.768-3.154
Βαθμός ενεργότητας	1.770	0.439	4.032	<0.0001	0.873 -2.666
γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση ^a				NS	
Πυροσταφυλική αμινοτρανσφεράση ^a				NS	
Άμεση χολερυθρίνη ^a				NS	
Ατρησία χοληφόρων					
Πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (n= 19), R=0.914, R ² =0.835, Adjusted R ² =0.815					
Μεταβλητές (Variables)	Coefficients (B)	SE	t	P	95% CI
Ηλικία	122.867	15.639	7.857	<0.0001	89.715-156.020
METAVIR στάδιο ίνωσης ^a				NS	
γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση ^a				NS	
Πυροσταφυλική αμινοτρανσφεράση ^a				NS	
Άμεση χολερυθρίνη	1.828	0.619	2.951	0.009	0.515-3.141

^a Μεταβλητές που αφαιρέθηκαν από το μοντέλο παλινδρόμησης ως μη σημαντικές, non-significant (NS), Coefficients: Συντελεστές, SE: standard error of B (Τυπικό σφάλμα για B), CI: Confidence Interval for B (Διάστημα εμπιστοσύνης για B)



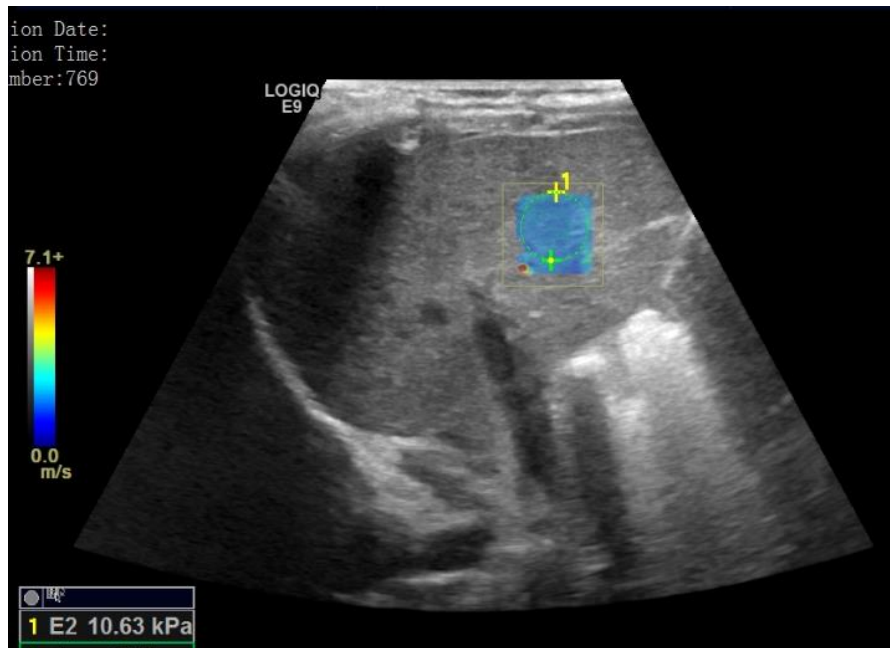
Εικόνα 18: 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία ήπατος σε κορίτσι 4 ετών με πρωτοδιαγνωσμένη αυτοάνοση ηπατίτιδα: Η τιμή της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος υπολογίζεται στα 6.66 kPa (η μέση τιμή όλων των μετρήσεων ήταν 6.35 kPa). Ιστολογικά αναδείχθηκε μέτρια ίνωση F2 METAVIR και ήπια (A1) ενεργότητα φλεγμονής.



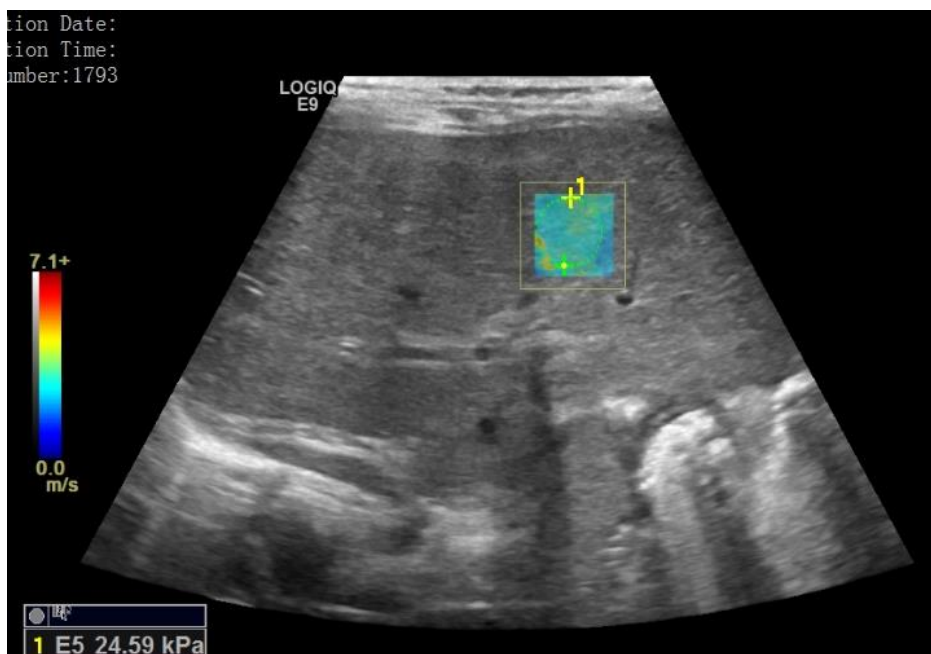
Εικόνα 19: 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία ήπατος σε αγόρι 14 ετών με πρωτοδιαγνωσμένη αυτοάνοση ηπατίτιδα: Η τιμή της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος υπολογίζεται στα 13.96 kPa (η μέση τιμή όλων των μετρήσεων ήταν 13.45 kPa, τιμή που αντιστοιχεί σε ικανή ίνωση στην ομάδα των διάφορων χρόνιων ηπατοπαθειών). Ιστολογικά αναδείχθηκε μέτρια ίνωση F2 METAVIR, αλλά ικανή (A3) ενεργότητα φλεγμονής.

Στην ομάδα της ατρησίας χοληφόρων, οι μεταβλητές που είχαν σημαντική επίδραση στις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας ήταν: η ηλικία των νεογνών και βρεφών (πίνακας 6), ο βαθμός χολόστασης, που εκφράστηκε με τις τιμές της άμεσης χολερυθρίνης (πίνακας 6,7) και το στάδιο ίνωσης κατά METAVIR (πίνακας 7). Την πιο ισχυρή επίδραση στις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας την είχε η ηλικία, όπως φαίνεται από τις υψηλές τιμές B και t στον πίνακα 6. Συγκεκριμένα, τα βρέφη ηλικίας > 65 ημερών είχαν τις πιο υψηλές τιμές ηπατικής ελαστικότητας (εύρος μέσων τιμών: από 16 έως 54.2 kPa) και ιστολογικά αποδεδειγμένη ικανή ίνωση ή κίρρωση (F3-F4), ενώ τα βρέφη ηλικίας < 65 ημερών είχαν πιο χαμηλές τιμές ηπατικής ελαστικότητας (εύρος μέσων τιμών: από 6.2 έως 14.4 kPa) και ήπια (F1) ή μέτρια ίνωση (F2). Η διαφορά στις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας μεταξύ των δύο κατηγοριών ηλικίας ήταν στατιστικά σημαντική (t-test, $P=0.001$), (**Εικ.20,21**). Οι υψηλότερες τιμές της ηπατικής ελαστικότητας βρέθηκαν στα βρέφη ≥ 90 ημερών, (εύρος μέσων τιμών: από 23.4 έως 54.2 kPa), τα οποία είχαν ιστολογικά αποδεδειγμένη κίρρωση.

Το στάδιο ίνωσης κατά METAVIR στην ομάδα της ατρησίας χοληφόρων αφαιρέθηκε από το αρχικό μοντέλο παλινδρόμησης λόγω οριακής επίδρασης του στις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας, ($P=0.058$), όταν εκτιμήθηκε μαζί με τη ηλικία (πίνακας 6). Μάλιστα, ο συντελεστής διόγκωσης της διασποράς (Variance Inflation Factor, VIF) υπολογίστηκε στο 3.5 για το στάδιο ίνωσης κατά METAVIR, υποδηλώνοντας πιθανή συγραμμικότητα (collinearity). Όταν, όμως, το στάδιο ίνωσης κατά METAVIR αξιολογήθηκε χωριστά ως μεταβλητή στην πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης, χωρίς να περιλαμβάνεται η ηλικία, αποδείχθηκε πολύ σημαντικός καθοριστικός παράγοντας των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας και στην ατρησία των χοληφόρων, όπως και στις άλλες δύο ομάδες (πίνακας 7). Μάλιστα, η συσχέτιση του με την ηπατική ελαστικότητα αποδείχθηκε ισχυρότερη από αυτήν της χολόστασης, όπως συμπεραίνεται από τις αντίστοιχες τιμές B και t στον πίνακα 7.



Εικόνα 20. 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία ήπατος σε βρέφος 60 ημερών με ατρησία χοληφόρων. Η εξέταση πραγματοποιήθηκε με υψίσυχο ηχοβολέα 9L. Εντός του έγχρωμου ελαστογράμματος απεικονίζεται μια κυκλική περιοχή ενδιαφέροντος (ROI) εντός της οποίας η τιμή της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος υπολογίζεται στα 10.63 kPa (η μέση τιμή όλων των μετρήσεων ήταν 11.2 kPa). Η βιοψία ήπατος ανέδειξε μέτρια ίνωση F2 METAVIR.



Εικόνα 21. 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία ήπατος σε βρέφος ηλικίας 100 ημερών με ατρησία χοληφόρων. Η εξέταση πραγματοποιήθηκε με υψίσυχο ηχοβολέα 9L. Η τιμή της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος υπολογίζεται στα 24.59 kPa (η μέση τιμή όλων των μετρήσεων ήταν 25.2 kPa). Η βιοψία ήπατος ανέδειξε ικανή ίνωση- μετάπτωση προς κίρρωση (F3-4 METAVIR)

Πίνακας 7. Αποτελέσματα πολλαπλής γραμμικής ανάλυσης παλινδρόμησης μεταξύ της ηπατικής ελαστικότητας και μεταβλητών εκτός της ηλικίας για την ατρησία χοληφόρων.

Πολλαπλή γραμμική ανάλυση παλινδρόμησης (n= 19), R=0.894, R ² =0.799, Adjusted R ² =0.774					
Μεταβλητές	Coefficients (B)	SE	t	P	95% CI
ΜΕΤΑVIR στάδιο ίνωσης	9.793	1.418	6.905	<0.0001	6.827-12.800
γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση ^a				NS	
Πυροσταφυλική αμινοτρανσφεράση ^a				NS	
Άμεση χολερυθρίνη	2.010	0.681	2.954	0.009	0.567-3.453

^aΜεταβλητές που αφαιρέθηκαν από το μοντέλο παλινδρόμησης ως μη σημαντικές, non-significant (NS), Coefficients: Συντελεστές, SE: standard error of B (Τυπικό σφάλμα για B), CI: Confidence Interval for B (Διάστημα εμπιστοσύνης για B)

Δεδομένου ότι στις δύο ομάδες, της αυτοάνοσης ηπατίτιδας και των διάφορων χρόνιων ηπατοπαθειών, διαπιστώθηκαν παρόμοιες τιμές ηπατικής ελαστικότητας σε όλα τα στάδια της ίνωσης (πίνακας 5), η περιοχή κάτωθεν της καμπύλης (area under the curve-AUC) και τα βέλτιστα κατώφλια διάγνωσης (cut-offs) των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας για το διαχωρισμό των σταδίων της ίνωσης υπολογίστηκαν με τις ROC καμπύλες, που προέκυψαν από τους συνολικούς ασθενείς και των δύο ανωτέρω ομάδων. Οι ασθενείς της ομάδας της ατρησίας των χοληφόρων δεν περιλήφθηκαν στους ασθενείς των προαναφερθέντων δύο ομάδων για το διαχωρισμό των σταδίων της ίνωσης, διότι οι τιμές τους, όσον αφορά την ηπατική ελαστικότητα, ήταν σημαντικά υψηλότερες από αυτές των δύο ανωτέρω ομάδων για το στάδιο ίνωσης \geq F2 (πίνακας 5). Για το σύνολο των ασθενών με χρόνιες ηπατοπάθειες πλην της ατρησίας των χοληφόρων, η υπολογίσιμη περιοχή κάτωθεν της καμπύλης (AUC) της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας για τη διάκριση της ελάχιστης ιστολογικής ίνωσης (\geq F1) ήταν 0.94, της μέτριας ίνωσης (\geq F2) 0.96, της σοβαρής ίνωσης (\geq F3) 0.98 και της κίρρωσης (F4) 0.97. Τα αντίστοιχα βέλτιστα κατώφλια διάγνωσης (cut-offs) των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας για το διαχωρισμό των σταδίων της ίνωσης, καθώς, επίσης και η αντίστοιχη ευαισθησία και η ειδικότητα της μεθόδου αναφέρονται στον πίνακα 8.

Πίνακας 8. Διαγνωστική ακρίβεια της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας στην αξιολόγηση του βαθμού ίνωσης σε όλους τους ασθενείς με χρόνιες ηπατοπάθειες εκτός της ατρησίας χοληφόρων

METAVIR στάδιο ίνωσης (n)	Cut-off (kPa)	AUC	95% CI	P value	Se (%)	95% CI	Sp (%)	95% CI
\geq F1	4.8	0.94	0.90-0.98	<0.0001	88.5	77.8-95.3	82.1	72.3-89.6
\geq F2	5.8	0.96	0.94-0.99	<0.0001	84.6	69.5-94.1	91.5	84.5-96
\geq F3	8.7	0.98	0.96-1.0	<0.0001	93.8	69.8-99.8	96.1	91.2-98.7
F4	10.3	0.97	0.95-1.0	<0.0001	88.9	51.7-99.7	95.6	90.6-98.4

Cut-offs: βέλτιστα κατώφλια διάγνωσης των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας για το διαχωρισμό των σταδίων της ίνωσης, AUC (area under the curve): περιοχή κάτωθεν της καμπύλης, CI (Confidence Interval): Διάστημα εμπιστοσύνης, kPa: kilopascals, Se: Ευαισθησία, Sp:Ειδικότητα
Για το στάδιο ίνωσης 0, (F0), χρησιμοποιήθηκαν οι αντίστοιχοι μάρτυρες.

Στην ατρησία των χοληφόρων λόγω του μικρού αριθμού ασθενών ανά στάδιο ίνωσης υπολογίσαμε την περιοχή κάτωθεν της καμπύλης (AUC) και το αντίστοιχο βέλτιστο κατώφλι διάγνωσης (cut-off) των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, μόνο για τη διάκριση της ικανής ίνωσης-κίρρωσης από τη μέτρια, (F0–2 vs. F3–4) (Πίνακας 9). Το βέλτιστο κατώφλι διάγνωσης (cut-off) για τη διάκριση της ικανής ίνωσης από τη μέτρια στην ατρησία των χοληφόρων ήταν πολύ υψηλότερο συγκριτικά με το αντίστοιχο στις υπόλοιπες χρόνιες ηπατοπάθειες, υπολογίστηκε στα 16 kPa, με περιοχή κάτωθεν της καμπύλης (AUC) 0.98.

Πίνακας 9. Διαγνωστική ακρίβεια της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας στην πρόβλεψη σοβαρής ίνωσης και κίρρωσης σε νεογνά και βρέφη με ατρησία χοληφόρων

METAVIR στάδιο ίνωσης \geq F3	
AUC	0.98
Cut-off (kPa)	16
<i>P</i> value	<0.0001
95% CI	0.95-1.0
Sensitivity(%)	87.5
Specificity(%)	96.7

AUC (area under the curve):περιοχή κάτωθεν της καμπύλης, Cut-off: βέλτιστο κατώφλι διάγνωσης των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας για το διαχωρισμό των σταδίων της ίνωσης, CI (Confidence Interval): Διάστημα εμπιστοσύνης, kPa: kilopascals
Για το στάδιο ίνωσης 0, (F0), χρησιμοποιήθηκαν οι αντίστοιχοι μάρτυρες.

5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μη επεμβατική αξιολόγηση του βαθμού της ηπατικής ίνωσης οδήγησε στην εισαγωγή νέων τεχνολογιών, όπως η 2 Dimensional-Shear Wave Ελαστογραφία, η οποία αποτέλεσε το αντικείμενο της μελέτης μας. Η 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία απ' όλες τις τεχνικές ελαστογραφίας είναι η πιο καινούργια [42,43], με συγκεκριμένα πλεονεκτήματα έναντι της παλαιότερης και πιο εφαρμοσμένης, σε ενήλικες και παιδιά, παροδικής (Transient) ελαστογραφίας, γνωστή και ως Fibroscan. Η 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία σε αντίθεση με τη Transient ελαστογραφία πραγματοποιείται σε συμβατικό μηχάνημα υπερήχων με ταυτόχρονη απεικόνιση του ήπατος. Αυτό επιτρέπει την τοποθέτηση της έγχρωμης εικόνας, που παράγεται με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, το έγχρωμο ελαστογράμμα, σε σωστή ανατομική θέση στο ηπατικό παρέγχυμα, μακριά από τα μεγάλα αγγεία του ήπατος, που επηρεάζουν τις μετρήσεις της ελαστικότητας. Παράλληλα, πραγματοποιείται υπερηχογραφική αξιολόγηση της ηπατοπάθειας και με το B mode υπερηχογράφημα. Η δυνατότητα παραγωγής εικόνας, το έγχρωμο ελαστογράμμα, αποτελεί το βασικό πλεονέκτημα της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία έναντι των άλλων τεχνικών ελαστογραφίας (point Shear Wave ελαστογραφία, Transient), εντός του οποίου γίνονται ποιοτικές και ποσοτικές μετρήσεις της ελαστικότητας του ιστού. Ειδικά στα μικρά παιδιά, που η συνεργασία με τις αναπνοές είναι εξαιρετικά δύσκολη και καθορίζουν τις μετρήσεις της ελαστικότητας, με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία λόγω παραγωγής πολλαπλών πλαισίων εικόνων (frames) (από 5000 έως 20000 εικόνες / δευτερόλεπτο) και δυνατότητας αξιολόγησης του χρώματος στο ελαστογράμμα, μπορούμε να αποκτήσουμε έγκαιρες μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας ακόμη και σε παιδιά που δύσκολα συνεργάζονται [44,47].

Η μελέτη μας πραγματοποιήθηκε με το υπερηχογραφικό σύστημα LOGIQ E9 US system (General Electric Healthcare, Wauwatosa, WI, USA) για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, το οποίο στους ενήλικες έχει αποδεχθεί ένα αξιόπιστο σύστημα για την αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης [57,61]. Οι Bende και συν διαπίστωσαν υψηλή διαγνωστική ικανότητα του συγκεκριμένου υπερηχογραφικού συστήματος στην αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης σε 275 ενήλικες με χρόνιες ηπατοπάθειες συγκρίνοντάς το με τη Transient ελαστογραφία [61]. Επίσης, οι Matos και συν συνέκριναν τη διαγνωστική ικανότητα του συγκεκριμένου υπερηχογραφικού συστήματος (LOGIQ E9 US system) στην αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης με αυτήν της Transient και της μαγνητικής ελαστογραφίας σε 77 ενήλικες ασθενείς με χρόνια

ηπατίτιδα C, όπου διαπίστωσαν ισχυρή συσχέτιση μεταξύ των τιμών ελαστικότητας και στα τρία είδη τεχνικών ελαστογραφίας στην αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης [105]. Αντίστοιχες μελέτες δεν υπάρχουν σε παιδιά.

Γενικώς, στα παιδιά οι μελέτες για την αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, με οποιοδήποτε υπερηχογραφικό σύστημα, είναι λιγότερες συγκριτικά με τους ενήλικες [62,77,84,96,106,107]. Ακόμη, λιγότερες είναι οι μελέτες για τις τιμές της ελαστικότητας του φυσιολογικού ήπατος σε παιδιά [62,77,108,109], οι περισσότερες μεταγενέστερες της δική μας.

Η παρούσα μελέτη οργανώθηκε σε δύο επίπεδα. Το πρώτο επίπεδο αφορούσε τη μελέτη της φυσιολογικής ηπατικής ελαστικότητας στα παιδιά, το δεύτερο τη μελέτη της ηπατικής ελαστικότητας σε χρόνιες ηπατοπάθειες του παιδικού πληθυσμού.

5.1. Παιδιά με φυσιολογικό ήπαρ

Η μελέτη μας ήταν η πρώτη που πραγματοποιήθηκε με το υπερηχογραφικό σύστημα LOGIQ E9 US system για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία σε όλο το ηλικιακό φάσμα του παιδικού πληθυσμού, από τα νεογνά μέχρι και τους έφηβους με φυσιολογικό ήπαρ. Στα 202 παιδιά της μελέτης μας με φυσιολογικό ήπαρ η μέση τιμή (mean value) της ηπατικής ελαστικότητας ήταν 4.29 kPa και τυπική απόκλιση 0.59. Στη μελέτη μας διαπιστώθηκε ότι οι τιμές της ηπατικής ελαστικότητας ήταν εξαρτώμενες από την ηλικία, με τα νεογνά και τα βρέφη ηλικίας κάτω των 2 ετών να έχουν τις υψηλότερες τιμές, ακολουθούμενες από τις τιμές των εφήβων άνω των 12 ετών συγκριτικά με την παιδική ηλικία (≥ 2 έως ≤ 12 ετών) (πίνακας 2).

Τα νεογνά και τα βρέφη αποτέλεσαν μια ιδιαίτερη ηλικιακή κατηγορία στη μελέτη μας, αρχικά λόγω του σωματότυπου με τα στενότερα μεσοπλευρία διαστήματα. Όμως, οι υψηλότερες τιμές της ηπατικής ελαστικότητας συγκριτικά με τα μεγαλύτερα παιδιά, κυρίως ήταν αποτέλεσμα της ανησυχίας και της έλλειψης συνεργασίας των βρεφών κατά τη διάρκεια της ελαστογραφίας. Το εύρος των τιμών της ελαστικότητας του φυσιολογικού ήπατος στα νεογνά και στα βρέφη, ηλικίας κάτω των 2 ετών, ήταν 3.08 έως 5.67 kPa (μέσος όρος: 4.63 ± 0.6 kPa), ενώ το 37,83% αυτών των παιδιών είχε τιμές ελαστικότητας κυμαινόμενες από 5.02 έως 5.67 kPa. Αυτές τις τιμές ελαστικότητας πρέπει να τις έχει κατά νου ένας ακτινολόγος, όταν διερευνά παιδιά αυτής της ηλικίας για χρόνια ηπατοπάθεια με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, ώστε να αποφευχθεί η ψευδώς παθολογική ηπατική ελαστικότητα.

Στη μελέτη μας διαπιστώσαμε ότι η εμπειρία του εξεταστή, όσον αφορά την εκτέλεση της ελαστογραφίας στα μικρά παιδιά, είναι καθοριστική για την ακρίβεια των μετρήσεων της ηπατικής ελαστικότητας. Στα μικρά παιδιά που δεν μπορούν να συνεργαστούν εύκολα λόγω ανησυχίας, είναι πολύ σημαντική για τις μετρήσεις η επιλογή του κατάλληλου ελαστογράμματος από τη σειρά των επαναλαμβανόμενων έγχρωμων εικόνων, που παράγονται στο μεσοδιάστημα των αναπνοών και του κλάματος των μικρών παιδιών, και αυτό απαιτεί εμπειρία της μεθόδου από τον εξεταστή.

Οι υψηλότερες τιμές ελαστικότητας για το φυσιολογικό ήπαρ νεογνών και βρεφών στη μελέτη μας, συγκριτικά με τις υπόλοιπες ηλικιακές ομάδες, δεν θα πρέπει να αποδοθούν στη χρησιμοποίηση υψίσυχνου ηχοβολέα 9L. Η σύγκριση των μετρήσεων μεταξύ των δύο ηχοβολέων, υψίσυχνου και χαμηλών συχνοτήτων, σε 20 νεογνά και βρέφη, ανέδειξε μη σημαντική στατιστική διαφορά, υποδεικνύοντας ότι οι υψηλότερες τιμές ελαστικότητας του ήπατος σε αυτήν την ηλικιακή ομάδα δεν σχετίζονται με τη χρήση του υψίσυχνου ηχοβολέα. Οι Lu-yao Zhou και συν εξέτασαν 40 φυσιολογικά νεογνά και βρέφη (παρόμοιο αριθμό παιδιών με τον δικό μας), με υψίσυχνο ηχοβολέα και με διαφορετικό υπερηχογραφικό σύστημα για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, (Aixplorer, SuperSonic Imagine, Aix-en-Provence, France) [96]. Σε αυτή τη μελέτη το εύρος τιμών της φυσιολογικής ηπατικής ελαστικότητας για τα νεογνά και βρέφη ήταν 3.7-7.7 kPa, με μέση τιμή 5.5 kPa και τυπική απόκλιση 1.1, τιμές συγκρίσιμες με τις δικές μας για την αντίστοιχη ηλικιακή ομάδα. Ο υψίσυχνος ηχοβολέας έχει καλύτερη επαφή μεταξύ των στενών μεσοπλευρίων διαστημάτων συγκριτικά με τον ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων στα νεογνά και βρέφη. Όπως παρατηρήσαμε από τις πρώτες κιάλας εξετάσεις μας στα νεογνά και βρέφη, η χρήση του ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων παρήγαγε ελαστογράμματα με πιο ανομοιογενές χρώμα συγκριτικά με αυτά του υψίσυχνου ηχοβολέα. Η ανομοιογένεια στο χρώμα εντός του ελαστογράμματος καθιστά την τοποθέτηση της κυκλικής περιοχής μέτρησης επισφαλής, για αυτό χρησιμοποιήσαμε σε όλα τα νεογνά και βρέφη υψίσυχνο ηχοβολέα.

Υπήρξαν δύο επακόλουθες μελέτες με το ίδιο υπερηχογραφικό σύστημα LOGIQ E9 US system για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία για την ηπατική ελαστικότητα σε φυσιολογικά παιδιά. Στην πρώτη μελέτη, η οποία στηρίχτηκε στην δική μας ηλικιακή κατηγοριοποίηση των παιδιών, αλλά με πολύ λιγότερα βρέφη, μόλις 9 τον αριθμό, η μέση τιμή ηπατικής ελαστικότητας υπολογίστηκε σε m/s και ήταν 1.13 ± 0.14 m/s, (4.04 kPa μέση τιμή κατά αντιστοιχία με το μοντέλο ελαστικότητας του Young σε kPa) [77]. Στη δεύτερη μελέτη, η οποία δεν περιλάμβανε νεογνά και βρέφη <3 ετών στον παιδικό πληθυσμό της, η μέση τιμή ηπατικής

ελαστικότητας υπολογίστηκε στα 3.72 ± 0.48 kPa [108]. Οι μέσες τιμές ηπατικής ελαστικότητας στις δύο ανωτέρω μελέτες είναι συγκριτικά με τη μέση τιμή της δικής μας μελέτης ελαφρώς μικρότερες, αλλά ο πολύ μικρός αριθμός βρεφών στην πρώτη και η πλήρης έλλειψη του αντίστοιχου πληθυσμού στη δεύτερη μπορεί να εξηγήσει τη μικρή διαφορά μεταξύ των μέσων τιμών της ηπατικής ελαστικότητας. Όσον αφορά τους εφήβους άνω των 12 ετών, όπου ήταν η δεύτερη ηλικιακή ομάδα στη μελέτη μας με τις υψηλότερες τιμές ηπατικής ελαστικότητας μετά τα νεογνά και τα βρέφη, και στις δύο προαναφερθείσες μελέτες παρατηρήθηκε άνοδος των τιμών της ελαστικότητας στους εφήβους συγκριτικά με τις μικρότερες ηλικιακές ομάδες τους. Μάλιστα, η μέση τιμή ηπατικής ελαστικότητας στους έφηβους της μελέτης μας, 4.39 kPa, ήταν συγκρίσιμη με αυτή της αντίστοιχης ηλικιακής ομάδας και στις δύο προαναφερθείσες μελέτες (4.22 kPa για την πρώτη μελέτη και 4.65 kPa για τη δεύτερη) [77,108].

Κατά την εφηβεία, σημαντικές αλλαγές συμβαίνουν στο σώμα ενός παιδιού λόγω ορμονικών επιδράσεων, κυρίως στα κορίτσια, στα οποία παρατηρείται 'φυσιολογική' αντίσταση στην ινσουλίνη και εναπόθεση λιπώδους ιστού [74]. Από τα αποτελέσματά μας υποθέτουμε ότι σε ορισμένους εφήβους μπορεί η ελαστικότητα του ήπατος να είναι παρόμοια με αυτή των ενηλίκων. Σε μία μελέτη με υγιείς ενήλικες, που εξετάστηκαν με διαφορετικό υπερηχογραφικό σύστημα για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, (Aixplorer, SuperSonic Imagine, Aix-en-Provence, France) η μέση τιμή της ηπατικής ελαστικότητας ήταν 4.4 kPa, παρόμοια με τη δική μας μέση τιμή στην ομάδα των εφήβων: 4.39 kPa [64]. Για αυτήν τη μελέτη των ενηλίκων αξίζει να αναφερθεί ότι στους 196 ενήλικες, που εξετάστηκαν με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, υπήρχε ιστολογική επιβεβαίωση του φυσιολογικού ήπατος, διότι ήταν όλοι πιθανοί δότες μοσχεύματος αριστερού ηπατικού λοβού. Η μέση τιμή της ηπατικής ελαστικότητας των υγιών ενηλίκων της συγκεκριμένης μελέτης, 4.4 ± 1.0 kPa, είναι παρόμοια με τη δική μας στο σύνολο του πληθυσμού της μελέτης μας, 4.29 ± 0.59 kPa.

Σε συμφωνία με τα δικά μας αποτελέσματα, όσον αφορά την συσχέτιση των τιμών της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας με την ηλικία, είναι και η μελέτη των Tokuhara και συν, που πραγματοποιήθηκε με άλλο τύπο ελαστογραφίας, με την Transient ελαστογραφία [110]. Οι Tokuhara και συν χρησιμοποίησαν την ίδιο ηχοβολέα M για όλες τις ηλικιακές ομάδες. Τα παιδιά ηλικίας < 1 έτους δεν περιλήφθηκαν στην μελέτη τους. Οι έφηβοι σε αυτή την μελέτη είχαν την πιο υψηλή διάμεση τιμή (median), 4.1 kPa, συγκριτικά με τα παιδιά της προσχολικής ηλικίας και πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης, 3.4 και 3.8 kPa αντίστοιχα. Παρομοίως, στη δική μας μελέτη οι έφηβοι είχαν υψηλότερη διάμεση τιμή, 4.49 kPa, συγκριτικά με τα μικρότερα

παιδιά της προσχολικής ηλικίας (>2 ετών έως ≤ 6 ετών) και της πρωτοβάθμιας εκπαίδευσης (>6 ετών έως ≤ 12 ετών), 4.16 και 4.2 kPa αντίστοιχα.

Όσον αφορά το φύλο, στη μελέτη μας διαπιστώθηκε ότι τα αγόρια είχαν ελαφρώς υψηλότερες μέσες τιμές ηπατικής ελαστικότητας συγκριτικά με τα κορίτσια, (4.39 ± 0.56 kPa έναντι 4.17 ± 0.59 kPa). Αυτή η διαφορά παρατηρήθηκε στα αγόρια κυρίως ηλικίας >9 ετών, όπου το εύρος τιμών της ηπατικής ελαστικότητας σε αυτές τις ηλικίες των αγοριών ήταν από 3.32 έως 5.76 kPa, ενώ στα κορίτσια της αντίστοιχης ηλικίας >9 ετών, το εύρος τιμών ήταν από 3.37 έως 5.11 kPa. Αυτές τις μικρές διαφορές, πρέπει να τις έχουμε υπόψη, όταν εξετάζονται αγόρια στην εφηβεία με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία. Το ίδιο παρατηρήθηκε και σε άλλες μελέτες με το ίδιο υπερηχογραφικό σύστημα LOGIQ E9 US system για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία σε φυσιολογικά παιδιά στην εφηβεία [108, 109], αλλά και σε μελέτες υγιών ενηλίκων [111,112], όπου οι άντρες είχαν υψηλότερες μέσες τιμές ηπατικής ελαστικότητας συγκριτικά με τις γυναίκες. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην διαφορετική πυκνότητα της εξωκυττάριας ουσίας του ήπατος μεταξύ των δύο φύλων στην ενήλικη ζωή [110]. Σε μια πειραματική μελέτη αναφέρεται ότι οι ορμόνες των ωοθηκών αναστέλλουν την παραγωγή εξωκυττάριας ουσίας από τα ηπατικά αστεροειδή κύτταρα [113].

Παρότι ο δείκτης μάζας σώματος ήταν διαφορετικός στο σύνολο του πληθυσμού μας λόγω μεγάλου εύρους ηλικίας (πίνακας 2), δεν διαπιστώθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ αυτού και των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας. Το ίδιο αναφέρεται και σε άλλες μελέτες με διάφορους τύπους ελαστογραφίας [109,110,114,115]. Στη μελέτη μας δεν συμπεριλάβαμε παιδιά υπέρβαρα ή παχύσαρκα, γιατί όπως φαίνεται από άλλες μελέτες η παχυσαρκία φαίνεται να επηρεάζει τις τιμές της ελαστογραφίας χωρίς να υπάρχει υποκείμενη χρόνια ηπατοπάθεια [109,115]. Επιπλέον, ο υψηλός δείκτης μάζας σώματος μπορεί να αποτελεί την αιτία μη αξιόπιστων μετρήσεων με την ελαστογραφία, λόγω απόκτησης ελαστογραμμάτων με μη ικανοποιητική κατανομή του χρώματος και με παρουσία εικονοστοιχείων (pixels) [61,70].

Παρότι αναφέρεται στη βιβλιογραφία ότι η ελαστικότητα του ηπατικού παρεγχύματος πιθανόν να επηρεάζεται από την ροή του αίματος, που εισέρχεται με την πυλαία φλέβα και την ηπατική αρτηρία [83], στη μελέτη μας δεν διαπιστώθηκε συσχέτιση των μετρήσεων της φυσιολογικής ελαστικότητας του ήπατος με τις βασικές αγγειακές παραμέτρους, (πίνακας 2), όπως μελετήθηκαν με το Doppler υπερηχογράφημα στις διαφορετικές ηλικιακές ομάδες.

Όσον αφορά τις μετρήσεις στα παιδιά, που εξετάστηκαν με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6 σε διαφορετικά βάθη (≥ 3 , ≥ 4 και ≥ 5 μέχρι 6 εκ.) από το κοιλιακό τοίχωμα, δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στις μέσες τιμές ελαστικότητας του ήπατος

στα τρία ανωτέρω βάθη. Ως εκ τούτου, προτείνεται ότι το πιο κατάλληλο βάθος για τις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας είναι αυτό στο οποίο αποκτάται το πιο αποδεκτό έγχρωμο ελαστογράμμα, δηλαδή αυτό με το ομοιόμορφα κατανεμημένο ομοιογενές χρώμα. Στη συντριπτική πλειοψηφία των παιδιών στη μελέτη μας, που εξετάστηκαν με ηχοβολέα χαμηλών συχνοτήτων C1–6, το βάθος στο οποίο αποκτήθηκαν τα καταλληλότερα ελαστογράμματα, κυμαινόταν μεταξύ 4 και 5 εκατοστών από το κοιλιακό τοίχωμα. Στα νεογνά και στα βρέφη λόγω σωματότυπου το αντίστοιχο βάθος κυμαινόταν μεταξύ 2,5 και 3 εκατοστών από το κοιλιακό τοίχωμα. Στα παιδιά δεν υπάρχουν άλλες μελέτες που να αναφέρονται στην επίδραση του βάθους στις μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία. Ακόμη και στους ενήλικες οι μελέτες είναι πολύ λίγες με τον συγκεκριμένο τύπο ελαστογραφίας. Σε μία μελέτη με υγιείς ενήλικες, που εξετάστηκαν με διαφορετικό υπερηχογραφικό σύστημα για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία (Aixplorer, SuperSonic Imagine, Aix-en-Provence, France), διαπιστώθηκε ότι το ποσοστό επιτυχίας των μετρήσεων τους ήταν υψηλότερο σε βάθη 3-5 εκατοστά από την επιφάνεια του ηχοβολέα, όπως και στη δική μας μελέτη, από ότι σε μικρότερα (<3 εκ) ή σε μεγαλύτερα (> 5 εκ.) βάθη [116]. Σε μια μελέτη με υγιή παιδιά, αλλά με άλλο τύπο ελαστογραφίας, ARFI, (Acuson S2000; Siemens Medical Solutions, Germany) παρατηρήθηκε, όπως και στη δική μας, ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά στις μέσες τιμές ελαστικότητας του ήπατος σε διαφορετικά βάθη, από 3 έως 5 εκατοστά από το κοιλιακό τοίχωμα [117]. Οι Potthoff και συν με ARFI ελαστογραφία σε υγιείς ενήλικες, επίσης, διαπίστωσαν ότι οι μέσες τιμές ελαστικότητας του ήπατος σε βάθη 3,4,5, και 6 εκ. από το κοιλιακό τοίχωμα δεν διέφεραν σημαντικά [118].

Παρότι ο κατασκευαστής του υπερηχογραφικού συστήματος για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, με το οποίο πραγματοποιήθηκε η μελέτη μας [45], προτείνει 10 μετρήσεις ηπατικής ελαστικότητας για κάθε εξέταση ελαστογραφίας, αυτός ο αριθμός των μετρήσεων δεν είναι πάντα εφικτός στα μικρά παιδιά. Στη μελέτη μας προσαρμόσαμε τον αριθμό των μετρήσεων με βάση την συνεργασία και το σωματότυπο του παιδιού. Ο μικρότερος αριθμός μετρήσεων στη μελέτη μας ήταν οι πέντε, οι οποίες συγκριτικά με τις δέκα μετρήσεις δεν είχαν σημαντική στατιστική διαφορά (εικόνα 10). Αυτό είναι σε συμφωνία με τη μελέτη των Shin και συν [51], οι οποίοι με διαφορετικό υπερηχογραφικό σύστημα για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία (Aixplorer, SuperSonic Imagine, Aix-en-Provence, France), σε 76 υγιή παιδιά διαφορετικών ηλικιών, που ανέπνεαν ελεύθερα, όπως και στη δική μας μελέτη, διαπίστωσαν συμφωνία στις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας, που προέκυψαν από 3, 5, 7 και 15 μετρήσεις.

Στον παιδικό πληθυσμό πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψιν ο αριθμός των μετρήσεων, όταν εξετάζονται με ελαστογραφία, και αυτό γιατί επηρεάζει άμεσα την διάρκεια της εξέτασης, που είναι ένας σημαντικός παράγοντας κυρίως για τα μικρά παιδιά, που δεν συνεργάζονται εύκολα συγκριτικά με τα μεγαλύτερα. Σε μελέτες ενηλίκων η διάρκεια της εξέτασης έχει υπολογιστεί στα 5 λεπτά για 10 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις και στα 8 έως 14 λεπτά για 20 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις [63,119]. Στα παιδιά απαιτείται μεγαλύτερος χρόνος για τον ίδιο αριθμό επαναλαμβανόμενων μετρήσεων συγκριτικά με τους ενήλικες [51]. Για αυτό, σε συνδυασμό με τα αποτελέσματά μας, που προέκυψαν από τη μελέτη μας όσον αφορά τον αριθμό των μετρήσεων στα παιδιά, προτείνουμε λιγότερες από 10 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις σε ένα παιδί που εξετάζεται με ελαστογραφία, ώστε ο χρόνος της εξέτασης να είναι μικρός και ανεκτός, κυρίως στα μικρά παιδιά. Όταν επιτυγχάνονται κατάλληλα ελαστογράμματα με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία σε διαφορετικά σημεία του ηπατικού παρεγχύματος 5 επαναλαμβανόμενες μετρήσεις είναι αρκετές για την αξιόπιστη αξιολόγηση της ηπατικής ελαστικότητας. Όλες οι μετρήσεις στον παιδικό πληθυσμό της μελέτης μας πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της ελεύθερης αναπνοής. Τα παιδιά δεν είναι εύκολο να συνεργαστούν στη διακοπή της αναπνοής όπως οι ενήλικες, ειδικά όσον αφορά τα νεογνά και τα βρέφη αυτό είναι μη εφικτό. Σε διάφορες παιδιατρικές μελέτες με ARFI ελαστογραφία έχουν επιτευχθεί αξιόπιστες μετρήσεις κατά τη διάρκεια της ελεύθερης αναπνοής των παιδιών [120-122]. Επίσης, σε μελέτες παιδιών με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία (Aixplorer, SuperSonic Imagine, Aix-en-Provence, France) [51,62] παρατηρήθηκε ότι δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας, που επιτευχθήκαν από μετρήσεις κατά τη διάρκεια ελεύθερης αναπνοής και κατά τη διάρκεια άπνοιας.

5.2. Παιδιά με χρόνιες ηπατοπάθειες

Η μελέτη μας διερεύνησε το ρόλο της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας, με το υπερηχογραφικό σύστημα LOGIQ E9 General Electric Healthcare, στην αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης σε διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες των παιδιών από τη νεογνική μέχρι και την εφηβική ηλικία.

Η μη επεμβατική αξιολόγηση της ηπατικής ίνωσης είναι πολύ σημαντική στον παιδιατρικό πληθυσμό, καθώς η βιοψία ήπατος, που είναι η «gold standard» μέθοδος για την αξιολόγηση του βαθμού της ίνωσης [30,31], έχει αρκετούς περιορισμούς, όπως το ότι είναι επεμβατική μέθοδος με πιθανότητα επιπλοκών και γίνεται μόνο με γενική αναισθησία στα παιδιά [32-34].

Στα παιδιά με πιθανή χρόνια ηπατοπάθεια οι παθολογικοί βιοχημικοί δείκτες είναι αναξιόπιστοι για την αξιολόγηση της σοβαρότητας της ηπατικής νόσου και της ίνωσης [123]. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι παιδιά με ηπατική ίνωση, και μάλιστα ικανού βαθμού, μπορεί να έχουν φυσιολογικό βιοχημικό ηπατικό έλεγχο [123,124].

Το απλό υπερηχογράφημα αξιολογεί τις ηχομορφολογικές αλλοιώσεις του ηπατικού παρεγχύματος στις χρόνιες ηπατοπάθειες, την παρουσία εστιακών αλλοιώσεων, όπως τους κίρρωτικούς όζους, καθώς και τις επιπλοκές της ικανής ίνωσης, όπως το βαθμό σπληνομεγαλίας, την παράπλευρη κυκλοφορία και τον ασκίτη [125]. Ωστόσο, η αξιολόγηση των σταδίων της ηπατικής ίνωσης και μάλιστα η ανίχνευση της ίνωσης στα πρώιμα στάδια αποτελεί την κύρια έννοια του παιδογαστρεντερολόγου, όταν αντιμετωπίζει ένα παιδί με γνωστή ή ύποπτη χρόνια ηπατοπάθεια και αυτή την πολύτιμη πληροφορία δεν μπορεί να τη δώσει το απλό υπερηχογράφημα. Η ακριβής αξιολόγηση και ποσοτικοποίηση της ηπατικής ίνωσης καθώς και η αξιόπιστη διάγνωση της κίρρωσης είναι ζωτικής σημασίας στην θεραπευτική αντιμετώπιση των χρόνιων ηπατοπαθειών [17,18]. Επιπλέον, οι μέχρι τώρα μελέτες σε ενήλικες με διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες (όπως αιμοχρωμάτωση, ηπατίτιδα C και B, μη αλκοολική λιπώδης νόσος του ήπατος, αυτοάνοση ηπατίτιδα) έχουν δείξει ότι η ηπατική ίνωση και σε μερικές περιπτώσεις ακόμη και η κίρρωση μπορεί να είναι αναστρέψιμες με την κατάλληλη θεραπευτική αντιμετώπιση [19,24]. Λίγες μελέτες όσον αφορά την αυτοάνοση ηπατίτιδα στα παιδιά αναφέρουν ότι η ηπατική ίνωση και η πρώιμη κίρρωση μπορεί να είναι αναστρέψιμες μετά από κατάλληλη και έγκαιρη θεραπευτική αντιμετώπιση [25,26]. Βελτίωση της κίρρωσης έχει αναφερθεί σε ασθενείς με νόσο του Wilson μετά από θεραπεία με πενικιλλαμίνη [27] και σε μερικούς ασθενείς με χρόνια ηπατίτιδα B και C μετά τη χορήγηση αντιικών παραγόντων [28, 29].

Στη μελέτη μας διαπιστώθηκε ότι η 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία μπορεί να ανιχνεύσει την ηπατική ίνωση ακόμη και σε αρχικά στάδια. Η υπολογίσιμη περιοχή κάτωθεν της καμπύλης (AUC) ήταν ≥ 0.94 ανεξαρτήτως του σταδίου της ηπατικής ίνωσης, (συμπεριλαμβανομένου του σταδίου F1), για όλες τις ομάδες ασθενειών.

Στις λίγες προηγηθείσες μελέτες στα παιδιά για την διερεύνηση του ρόλου της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας στην διάγνωση της ηπατικής ίνωσης [62,77,84], υπήρχε σημαντική ετερογένεια των παθήσεων του ήπατος, χωρίς συνοδό αξιολόγηση της πιθανής επίδρασης διαφόρων παραγόντων, που σχετίζονται με την ασθένεια και που μπορεί να επηρεάσουν τις τιμές ελαστικότητας του ήπατος εκτός από την ίνωση. Μάλιστα, στις δύο από αυτές [62,84] ο μεγαλύτερος αριθμός των παιδιών ήταν με μεταμοσχευμένο ήπαρ, που αποτελεί μια ιδιαίτερη παθολογική οντότητα συγκριτικά με τις άλλες χρόνιες ηπατικές παθήσεις. Στο μεταμοσχευμένο ήπαρ ιστολογικά μελετάται κυρίως η απόρριψη του μοσχεύματος [30]. Επιπλέον, σε παιδιά με μεταμοσχευμένο ήπαρ, ακόμη και χωρίς ίνωση, οι τιμές της ελαστικότητας του ηπατικού παρεγχύματος είναι υψηλότερες από αυτές του ήπατος των υγιών παιδιών [80].

Σε αντίθεση με αυτές τις μελέτες [62,77,84] στη δική μας πρώτη ομάδα ασθενειών, που ήταν επίσης ετερογενής, η ηπατική ίνωση ήταν ο κύριος παράγοντας, που αναμενόταν να επηρεάσει τις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία. Για το λόγο αυτό αποκλείσαμε από αυτή την ομάδα παιδιά με συμφορητική καρδιακή νόσο, μεταμοσχευμένο ήπαρ, καθώς και παιδιά με ιστορικό μεταμόσχευσης αιμοποιητικών βλαστικών κυττάρων, παθήσεις που επηρεάζουν τις τιμές ηπατικής ελαστικότητας και μπορεί να οδηγήσουν σε λανθασμένη εκτίμηση της ηπατικής ίνωσης [80,84,85].

Σε αυτή την πρώτη ομάδα της μελέτης μας οι περισσότερες χρόνιες ηπατοπάθειες είχαν ιστολογικά κοινές αλλοιώσεις χρόνιας ηπατίτιδας με απουσία ή μικρό βαθμό ενεργότητας. Σε μελέτες με την Transient ελαστογραφία τόσο σε παιδιά [87,88] όσο και σε ενήλικες [126,127] είχε ήδη διαπιστωθεί ότι η ικανή ενεργότητα φλεγμονής μπορεί να επηρεάσει τις τιμές της ελαστογραφίας εκτός από την ηπατική ίνωση. Για αυτό αποκλείσαμε την αυτοάνοση ηπατίτιδα από την πρώτη μας ομάδα. Επίσης, για τον ίδιο λόγο αποκλείσαμε παιδιά με οξεία ηπατίτιδα ή οξεία ηπατική ανεπάρκεια, γιατί το οίδημα και η οξεία φλεγμονή αυξάνουν σημαντικά τις τιμές της ελαστογραφίας, επί εδάφους απουσίας ίνωσης [84,126].

Όσον, αφορά τα παιδιά με οικογενή ενδοηπατική χολόσταση συμπεριελήφθησαν στην πρώτη ομάδα ασθενειών, διότι η χολόσταση δεν επηρέασε τις τιμές της ελαστογραφίας, όπως η ατρησία χοληφόρων στη μελέτη μας. Συγκεκριμένα, οι τιμές της ηπατικής ελαστικότητας σε αυτά τα παιδιά με οικογενή ενδοηπατική χολόσταση δεν διέφεραν ανά στάδιο ίνωσης συγκριτικά με τις τιμές των άλλων ασθενειών, που συμπεριλαμβάνονταν στην πρώτη ομάδα. Σε αντίθεση, στην ατρησία χοληφόρων παρατηρήθηκαν οι υψηλότερες τιμές ηπατικής ελαστικότητας συγκριτικά με τις άλλες δύο ομάδες για τα στάδια ίνωσης \geq F2.

Όπως ήταν αναμενόμενο, στην πρώτη ομάδα με τις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες μόνο το στάδιο ίνωσης κατά METAVIR διαπιστώθηκε να επηρεάζει τις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία.

Στη μελέτη μας τα βέλτιστα κατώφλια διάγνωσης (optimal cut-offs) των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας για το διαχωρισμό των σταδίων της ίνωσης με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία υπολογίστηκαν από το σύνολο των δεδομένων των δύο ομάδων, με τις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες και της αυτοάνοσης ηπατίτιδας, καθώς οι δύο αυτές ομάδες είχαν παρόμοιες τιμές ηπατικής ελαστικότητας για τα ίδια στάδια ίνωσης. Τα βέλτιστα κατώφλια διάγνωσης για την ατρησία χοληφόρων υπολογίστηκαν χωριστά.

Σε συμφωνία με τη δική μας μελέτη, όσον αφορά τη διαγνωστική ικανότητα της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας στη διάκριση των σταδίων της ηπατικής ίνωσης, ήταν η μελέτη των Franchi-Abella και συν [62], οι οποίοι με διαφορετικό υπερηχογραφικό σύστημα για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία (Aixplorer, SuperSonic Imagine, Aix-en-Provence, France) ανέδειξαν AUC τιμές πάνω από 0.93 ανεξαρτήτως των σταδίων ίνωσης, παρόμοιες με τις δικές μας (\geq 0.94). Όμως, στην ίδια μελέτη τα βέλτιστα κατώφλια διάγνωσης (optimal cut-offs) των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας για το διαχωρισμό των σταδίων της ίνωσης ήταν διαφορετικά από τα δικά μας, για παράδειγμα το βέλτιστο κατώφλι διάγνωσης (cut-off) για το METAVIR στάδιο \geq F3 ήταν 17.6 kPa στη μελέτη των Franchi-Abella και συν έναντι 8.7 kPa στη δική μας μελέτη. Αυτή η διαφορά των τιμών το πιθανότερο αποδίδεται στην επίδραση διάφορων ασθενειών, όπως η ατρησία χοληφόρων, το μεταμοσχευμένο ήπαρ, που μελετήθηκαν συνολικά με τις υπόλοιπες ασθένειες στη μελέτη των Franchi-Abella και συν, με αποτέλεσμα την υπερεκτίμηση της ηπατικής ίνωσης για τα διάφορα στάδια κατά METAVIR. Αντιθέτως, τα βέλτιστα κατώφλια διάγνωσης (optimal cut-offs) των τιμών της ηπατικής ελαστικότητας της μελέτης μας είναι παρόμοια με αυτά άλλων μελετών, που μελέτησαν ασθένειες με παρόμοια χρόνια φλεγμονώδη ιστολογικά χαρακτηριστικά με τις δικές μας, όπως οι χρόνιες ιογενείς ηπατίτιδες. Οι Shash και συν [101] με διαφορετικό υπερηχογραφικό σύστημα

για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία (Aixplorer, SuperSonic Imagine, Aix-en-Provence, France) σε ενήλικες με χρόνια ηπατίτιδα ανέφεραν βέλτιστα κατώφλια διάγνωσης 5.5, 6.0, 7.0 και 9.7 kPa για τη διάκριση σταδίων ίνωσης $\geq F1$, $\geq F2$, $\geq F3$, και F4 αντίστοιχα, τιμές παρόμοιες με της δικής μας μελέτης. Επίσης, σε μία πρόσφατη μελέτη ενηλίκων με χρόνια ιογενή ηπατίτιδα C και με το ίδιο υπερηχογραφικό σύστημα της δικής μας, LOGIQ E9 (General Electric Healthcare), αναφέρεται ότι η τιμή >9.4 kPa διαχωρίζει την ικανή ίνωση ή κίρρωση (F3-F4) από τη μέτρια (F2) [105], τιμή πολύ κοντά στη δική μας για το διαχωρισμό των αντίστοιχων σταδίων ίνωσης. Επιπλέον, οι Lee και συν [128] με τη Transient ελαστογραφία σε παιδιά κατέγραψαν ως βέλτιστο κατώφλι διάγνωσης για την ικανή ίνωση την τιμή 8.6 kPa, επίσης παρόμοια τιμή με τη δική μας για το αντίστοιχο στάδιο ίνωσης.

Η αυτοάνοση ηπατίτιδα είναι μια χρόνια φλεγμονώδη νόσος, που απαιτεί έγκαιρη διάγνωση, γιατί ραγδαία μπορεί να εξελιχθεί σε κίρρωση αν παραμείνει χωρίς θεραπεία. Στη παρούσα μελέτη η αυτοάνοση ηπατίτιδα ήταν η πιο συχνή χρόνια ηπατοπάθεια στον παιδικό μας πληθυσμό. Σε αντίθεση με άλλες μελέτες στα παιδιά με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία [77,84], μελετήσαμε την αυτοάνοση ηπατίτιδα ξεχωριστά από τις άλλες χρόνιες ηπατοπάθειες. Σε προηγούμενες μελέτες με Transient ελαστογραφία τόσο σε παιδιά [87] όσο και σε ενήλικες [126,127] αναφέρεται ότι ο βαθμός ενεργότητας φλεγμονής σε όλες τις χρόνιες ή οξείες φλεγμονώδεις νόσους μπορεί να επηρεάσει τις τιμές της ελαστογραφίας εκτός από την ηπατική ίνωση. Επιπλέον, οι Behairy και συν [88], οι οποίοι και αυτοί μελέτησαν ξεχωριστά την αυτοάνοση ηπατίτιδα στα παιδιά με Transient ελαστογραφία, παρατήρησαν ότι η ικανή ιστολογική νεκροφλεγμονώδης ενεργότητα αυξάνει τις τιμές της ηπατικής ελαστογραφίας. Σε συμφωνία με αυτά τα ευρήματα, στη μελέτη μας η νεκροφλεγμονώδης ενεργότητα (necroinflammation activity) σχετίστηκε ισχυρά με τις τιμές ελαστικότητας στην αυτοάνοση ηπατίτιδα. Στην πραγματικότητα, τόσο το στάδιο της ίνωσης κατά METAVIR όσο και η φλεγμονώδης ενεργότητα αποδείχθηκαν σημαντικοί καθοριστικοί παράγοντες στη μελέτη μας, που δείχνει τη συνδυασμένη επίδραση και των δύο παραγόντων στις τιμές της ελαστογραφίας.

Όταν πρωτοεκδηλώνεται η αυτοάνοση ηπατίτιδα ή όταν υποτροπιάζει, τα χαρακτηριστικά ιστολογικά για τη νόσο φλεγμονώδη διηθήματα από λεμφοκύτταρα και πλασματοκύτταρα των πυλαίων διαστημάτων με τη συνοδό νέκρωση [129], που καθορίζουν το βαθμό ενεργότητας της φλεγμονής, έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση των τιμών της ηπατικής ελαστογραφίας ακόμη και σε έδαφος ήπιας ίνωσης. Η επίδραση της φλεγμονώδους ενεργότητας πρέπει να λαμβάνεται υπόψη, όταν εξετάζεται με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία ένα παιδί, που παραπέμπεται με την κλινική υποψία αυτοάνοσης ηπατίτιδας και έχει υψηλές τιμές

στην ελαστογραφία του ήπατος, ώστε να αποφευχθεί η λανθασμένη υπερκτίμηση της υποκείμενης ηπατικής ίνωσης, που πάντα υπάρχει σε αυτήν την νόσο. Στη μελέτη μας παρατηρήθηκε ότι τα παιδιά με πρωτοδιαγνωσμένη αυτοάνοση ηπατίτιδα και ιστολογικά αποδεδειγμένη ικανή νεκροφλεγμονώδη ενεργότητα (A3) είχαν υψηλές τιμές στην ελαστογραφία του ήπατος, με εύρος τιμών που στην πρώτη μας ομάδα με τις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες αντιστοιχούσαν σε σοβαρή-ικανή ίνωση ή κίρρωση. Σε αυτά τα παιδιά, όμως, αποδείχθηκε ιστολογικά ότι η ίνωση τους ήταν είτε ήπια (F1) ή μέτρια(F2). Αντιθέτως, στα παιδιά που ιστολογικά είχαν ήπια ή μέτρια νεκροφλεγμονώδη ενεργότητα, όπως ήταν και τα περισσότερα στη μελέτη μας, ο βαθμός ίνωσης ήταν ο καθοριστικός παράγοντας των τιμών της ηπατικής ελαστογραφίας, όπως και στην πρώτη ομάδα με τις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες. Συμπεραίνουμε δηλαδή, ότι μόνο, όταν είναι ικανή η νεκροφλεγμονώδη ενεργότητα στην αυτοάνοση ηπατίτιδα επιδρά ως καθοριστικός παράγοντας στις τιμές της ηπατικής ελαστογραφίας.

Σε μελέτες στα παιδιά με διάφορους τύπους ελαστογραφίας [74,87] αναφέρεται ότι οι αυξημένες τιμές τρανσαμινασών, κυρίως της πυροσταφυλικής αμινοτρανσφεράσης (με τιμή > 5 φορές το ανώτερο όριο της φυσιολογικής τιμής), αυξάνουν τις τιμές της ηπατικής ελαστογραφίας. Στη δική μας μελέτη δεν διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτιση των τιμών της πυροσταφυλικής αμινοτρανσφεράσης με τις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας. Όλα τα παιδιά με αυτοάνοση ηπατίτιδα, που είχαν ιστολογικά ικανή ενεργότητα φλεγμονής (A3) και υψηλές τιμές στην ελαστογραφία του ήπατος, είχαν υψηλές τιμές πυροσταφυλικής αμινοτρανσφεράσης (> 5 φορές το ανώτερο όριο της φυσιολογικής τιμής). Όμως, ανάλογα υψηλά επίπεδα τιμών της πυροσταφυλικής αμινοτρανσφεράσης διαπιστώθηκαν και σε παιδιά που είχαν χαμηλότερες τιμές στην ελαστογραφία και που ιστολογικά αποδείχθηκε ήπια ή μέτρια ίνωση και ήπια ή μέτρια ενεργότητα φλεγμονής. Αποδεικνύεται έτσι, για άλλη μια φορά, ότι το στάδιο της ίνωσης κατά METAVIR μαζί με την ενεργότητα της φλεγμονής είναι οι σημαντικοί καθοριστικοί παράγοντες στη μελέτη μας, που επιδρούν στις τιμές της ηπατικής ελαστογραφίας.

Σε αντίθεση με άλλες μελέτες στα παιδιά με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία [62,77,84], μελετήσαμε την ατρησία χοληφόρων ξεχωριστά από τις άλλες χρόνιες ηπατοπάθειες. Επίσης, αυτή είναι η πρώτη μελέτη που συσχετίζει τις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας με τα στάδια ίνωσης, που επιβεβαιώθηκαν με βιοψία ήπατος, στην ατρησία χοληφόρων. Η πολυμεταβλητή ανάλυση ανέδειξε μια σημαντική συσχέτιση των μετρήσεων της ηπατικής ελαστογραφίας και του σταδίου ίνωσης κατά METAVIR, αλλά επίσης ανέδειξε την επίδραση και άλλων σημαντικών

παραγόντων στις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία στην ατρησία χοληφόρων.

Ένας σημαντικός παράγοντας, εκτός του σταδίου ίνωσης κατά METAVIR, που διαπιστώθηκε στη μελέτη μας να επηρεάζει τις τιμές της ελαστικότητας του ήπατος στην ατρησία χοληφόρων είναι η άμεση χολερυθρίνη. Ο βαθμός χολόστασης λόγω απόφραξης των μεγάλων χοληφόρων πόρων, η συνοδό παρουσία βυσμάτων χολής εντός μικρών χοληφόρων πόρων και νεοχολλαγγείων και η διάταση των κολποειδών φαίνεται να επηρεάζουν ισχυρά τις τιμές της ελαστικότητας του ήπατος στην ατρησία χοληφόρων. Στην πολυμεταβλητή ανάλυση συμπεριλάβαμε ως μεταβλητή και τη γ-γλουταμυλ-τρανσπεπτιδάση, ή γ-GT (Gamma-Glutamyl Transpeptidase - GGT) λόγω του ότι είναι ένας σημαντικός δείκτης ενδοηπατικής χολόστασης και έχει ισχυρό ρόλο στη διάγνωση της ατρησίας των χοληφόρων [97,130]. Παρ' όλα αυτά δεν αναδείχθηκε σημαντική συσχέτιση των τιμών της γ-GT με τις τιμές της ηπατικής ελαστικότητας.

Η ηπατική ίνωση στην ατρησία χοληφόρων εξελίσσεται ραγδαία κατά τους πρώτους μήνες της ζωής και οι βιοψίες του ήπατος έχουν αναδείξει θετική συσχέτιση μεταξύ ηλικίας και ίνωσης [90,131]. Τα αποτελέσματά μας ανέδειξαν την ηλικία ως τον πιο καθοριστικό παράγοντα της ηπατικής ελαστικότητας στην ατρησία χοληφόρων. Σε συμφωνία με τα δικά μας αποτελέσματα, όσον αφορά το ρόλο της ηλικίας στις τιμές της ηπατικής ελαστογραφίας ήταν η μελέτη των Zhou και συν [96], οι οποίοι με διαφορετικό υπερηχογραφικό σύστημα για τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία (Aixplorer, SuperSonic Imagine, Aix-en-Provence, France) παρατήρησαν, επίσης, ότι η ηλικία είχε τη σημαντικότερη επίδραση. Στη μελέτη τους αναφέρουν ότι τα βρέφη ηλικίας > των 60 ημερών είχαν υψηλότερες τιμές στην ελαστογραφία συγκριτικά με τα μικρότερα παιδιά με ατρησία χοληφόρων. Επομένως, εάν δεν ληφθούν υπόψη οι επιδράσεις της χολόστασης και της ηλικίας στην ηπατική ελαστικότητα στην ατρησία χοληφόρων, οι ελαστογραφικές μετρήσεις μπορεί να οδηγήσουν σε υπερεκτίμηση της υποκείμενης ηπατικής ίνωσης. Για παράδειγμα, στη μελέτη μας αρκετά βρέφη ηλικίας < 65 ημερών είχαν υψηλές τιμές στην ελαστογραφία του ήπατος, σε επίπεδα που στην ομάδα με τις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες αντιστοιχούσαν σε ικανή ίνωση ή κίρρωση. Ιστολογικά σε αυτά τα βρέφη η ίνωση τους ήταν μέτρια (F2). Συμπεραίνουμε δηλαδή, όπως ανέδειξε και η πολυμεταβλητή ανάλυση, ότι αυτές οι υψηλές τιμές ελαστογραφίας στα μικρά βρέφη < 65 ημερών είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης χολόστασης και ίνωσης και όχι μόνο της ίνωσης. Αντιθέτως, στα μεγαλύτερα βρέφη της μελέτης μας, ηλικίας > 65 ημερών, οι τιμές της ελαστογραφίας ήταν υψηλότερες συγκριτικά με αυτές των βρεφών <65 ημερών και ιστολογικά αντιστοιχούσαν πράγματι σε ικανή ίνωση ή κίρρωση.

Συμπεραίνουμε λοιπόν, ότι η ελαστογραφία μπορεί να παρέχει μια πιο ακριβή αξιολόγηση της σοβαρότητας της ίνωσης σε αυτήν την ηλικία των άνω των 65 ημερών ζωής στα βρέφη με ατρησία χοληφόρων. Υπερεκτίμηση του σταδίου ίνωσης στην ατρησία χοληφόρων έχει αναφερθεί και σε άλλες μελέτες [62, 96]. Τα ευρήματά μας επισημαίνουν ότι αυτό είναι κυρίως ένα ζήτημα που αφορά τα νεότερα βρέφη (≤ 65 ημερών).

Το βέλτιστο κατώφλι διάγνωσης στη διάκριση της ικανής ίνωσης ή κίρρωσης (F3-F4) από την μέτρια ίνωση (F2) στην ατρησία χοληφόρων ήταν τα 16 kPa με ευαισθησία 87.5% και ειδικότητα 96.7%. Από όσο γνωρίζουμε αυτή είναι η πρώτη μελέτη στην οποία υπολογίστηκε το κατώφλι διάγνωσης για την πρόβλεψη της ικανής ίνωσης ή κίρρωσης με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία στην ατρησία χοληφόρων. Προηγούμενοι συγγραφείς με την Transient ελαστογραφία με το σύστημα Fibroscan (Echosens, France) ανέφεραν παρόμοιο κατώφλι διάγνωσης, στα 15.1 kPa, για την πρόβλεψη της ικανής ίνωσης ή κίρρωσης στα παιδιά με ατρησία χοληφόρων [132]. Το ερώτημα που μπορεί να τεθεί είναι αν έχει νόημα η αξιολόγηση της ίνωσης στην ατρησία χοληφόρων, μιας και είναι μια νόσος στην οποία η ίνωση εξελίσσεται ραγδαία. Από την εμπειρία μας, αλλά και από άλλες μελέτες [90,96] η προεγχειρητική αξιολόγηση της σοβαρότητας της ηπατικής ίνωσης στην ατρησία χοληφόρων είναι υψηλής σημασίας, καθώς έχει προγνωστικό ρόλο στην επιτυχία της επέμβασης Kasai. Επιπλέον, η προεγχειρητική αξιολόγηση με τη 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία των ασθενών με ατρησία χοληφόρων μπορεί να βοηθήσει στη διάκριση αυτών με ικανή ηπατική ίνωση, οι οποίοι μπορεί να είναι καλύτεροι υποψήφιοι για άμεση μεταμόσχευση ήπατος παρά για επέμβαση Kasai [96]. Αναφέρουμε εδώ, ότι το 50% των βρεφών μας με ατρησία χοληφόρων, ηλικίας <65 ημερών, με μέτρια ίνωση και τιμές < 16 kPa, είχαν πετυχημένη επέμβαση Kasai, ενώ σε όλα τα βρέφη μας με τιμές >16 kPa ανεξαρτήτως ηλικίας έγινε μεταμόσχευση ήπατος είτε άμεσα είτε μερικούς μήνες μετά την πυλαιοεντεροστομία Kasai.

5.3. Περιορισμοί της μελέτης

Ένας κύριος περιορισμός της μελέτης είναι η έλλειψη βιοψιών στην ομάδα μελέτης των παιδιών με το φυσιολογικό ήπαρ. Η επιλογή των υγιών παιδιών στην ομάδα ελέγχου βασίστηκε στο ιατρικό τους ιστορικό, στο φυσιολογικό βιοχημικό έλεγχο και στα φυσιολογικά υπερηχογραφικά ευρήματα του ήπατος. Παρ' ότι η βιοψία θεωρείται η εξέταση εκλογής για τον αποκλεισμό ηπατικής νόσου [30], η χρήση της, ωστόσο, δεν δικαιολογείται σε μια ομάδα ελέγχου, όπως η δική μας, λόγω των επιπλοκών της μεθόδου [32].

Ένας άλλος περιορισμός, που αφορά τη μεθοδολογία, είναι ότι δεν εκτιμήθηκε η επαναληψιμότητα των μετρήσεων μεταξύ διαφορετικών εξεταστών στη συγκεκριμένη μελέτη, καθώς όλες οι μετρήσεις με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία έγιναν από τον ίδιο εξεταστή. Αυτό, όμως, δεν ήταν εφικτό στη μελέτη μας, μιας και το μεγαλύτερο ποσοστό των παιδιών, τόσο των υγιών όσο και αυτών με τις χρόνιες ηπατοπάθειες, αφορούσε μικρά παιδιά ηλικίας < 12 ετών, που δύσκολα συνεργάζονται στην επανάληψη της ελαστογραφικής εξέτασης.

Ο σχετικά μικρός αριθμός ασθενών σε ορισμένες ομάδες ασθενειών πρέπει να αναγνωριστεί ως ένας άλλος περιορισμός της μελέτης. Ωστόσο, ο μικρός αριθμός πληθυσμού δεν είναι σπάνιος και σε άλλες παιδιατρικές μελέτες με την ελαστογραφία [62,77,88]. Η χαμηλή συχνότητα επίπτωσης των χρόνιων ηπατικών νόσων στον παιδιατρικό πληθυσμό [1] σε συνδυασμό με το γεγονός ότι η βιοψία του ήπατος δεν εκτελείται συχνά λόγω των επιπλοκών της [32] περιορίζει τον αριθμό των παιδιών στις μελέτες, όπως και στη δική μας.

Στη μελέτη μας χρησιμοποιήθηκε το σύστημα METAVIR για την σταδιοποίηση της ηπατικής ίνωσης και για την αξιολόγηση της ενεργότητας της ηπατικής φλεγμονής, το οποίο είναι ένα σύστημα που έχει προκύψει από ιστολογικές εξετάσεις ενηλίκων, κυρίως σε χρόνιες ηπατίτιδες. Ωστόσο, μέχρι σήμερα δεν υπάρχει κανένα συγκεκριμένο ιστολογικό σύστημα βαθμολόγησης ίνωσης και φλεγμονής, που να έχει εγκριθεί επισήμως για τις παιδιατρικές χρόνιες ηπατικές παθήσεις, ενώ το σύστημα βαθμολογίας METAVIR έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως σε παρόμοιες παιδιατρικές μελέτες [62, 77, 87,132].

Τέλος, λόγω της ύπαρξης διαφορετικών υπερηχογραφικών συστημάτων για την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία, θα πρέπει να επισημανθεί ότι τα αποτελέσματά μας μπορούν με ασφάλεια να εφαρμοστούν σε παιδιά που εξετάζονται με το υπερηχογραφικό σύστημα GE LOGIQ US. Παρ' ότι μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν αρκετές μελέτες που να συγκρίνουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων των διαφορετικών υπερηχογραφικών συστημάτων για την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία σε ασθενείς με χρόνιες ηπατοπάθειες, στη δική μας μελέτη με ενδιαφέρον διαπιστώσαμε ότι οι τιμές μας για την ηπατική ελαστικότητα τόσο σε υγιείς όσο και σε ασθενείς ήταν παρόμοιες με αυτές άλλων μελετών, που χρησιμοποίησαν διαφορετικό υπερηχογραφικό σύστημα (Aixplorer, SuperSonic Imagine) [64,96,101]. Θα ήταν συνεπώς σκόπιμες πολυκεντρικές μελέτες για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων των διαφορετικών υπερηχογραφικών συστημάτων της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας στις χρόνιες ηπατοπάθειες της παιδικής ηλικίας.

6. Συμπεράσματα

Στη μελέτη μας καταγράφονται οι τιμές της ελαστικότητας του φυσιολογικού ηπατικού παρεγχύματος με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία στα παιδιά από τη νεογνική ηλικία έως την εφηβεία. Η 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία είναι εφικτή σε ευρύ ηλικιακό φάσμα στον παιδιατρικό πληθυσμό.

Οι μετρήσεις της ηπατικής ελαστικότητας μπορούν να ληφθούν κατά τη διάρκεια της ελεύθερης αναπνοής στα παιδιά με την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία.

Οι υψηλότερες τιμές όσον αφορά την ελαστικότητα του φυσιολογικού ηπατικού παρεγχύματος αναμένονται στα νεογνά και βρέφη ηλικίας μέχρι 2 ετών λόγω της μη ικανοποιητικής συνεργασίας κατά τη διάρκεια της ελαστογραφίας. Υψηλότερες τιμές αναμένονται και στην εφηβεία συγκριτικά με τα παιδιά της προσχολικής ηλικίας και της προεφηβείας.

Η ελαστικότητα του φυσιολογικού ήπατος στην παιδιατρική ηλικία δεν επηρεάζεται από τον δείκτη μάζας σώματος, το μέγεθος του ήπατος, ούτε από τη ροή και το μέγεθος των ηπατικών αγγείων.

Τα διαφορετικά βάθη από το κοιλιακό τοίχωμα καθώς και ο αριθμός των μετρήσεων της ηπατικής ελαστικότητας δεν επηρεάζουν τις ελαστογραφικές τιμές. Πέντε επαναλαμβανόμενες μετρήσεις είναι αρκετές για την αξιόπιστη αξιολόγηση της ηπατικής ελαστικότητας κυρίως σε μικρά παιδιά, που συνεργάζονται δύσκολα.

Η μελέτη μας αναδεικνύει την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία ως μια αξιόπιστη μέθοδος για την διάγνωση της ηπατικής ίνωσης σε παιδιά με διάφορες χρόνιες ηπατικές παθήσεις. Η 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία μπορεί να αξιολογήσει εκτός από την σοβαρή ίνωση και κίρρωση ακόμη και την ήπια ίνωση, στα αρχικά της στάδια, που αποτελεί το σημαντικό ερώτημα για τους παιδίατρους και τους παιδογαστροεντερολόγους, όταν αντιμετωπίζουν ένα παιδί με πιθανή χρόνια ηπατική νόσο.

Στις διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες, στις οποίες απουσιάζουν η ικανή ενεργότητα φλεγμονής, το οίδημα, η συμφόρηση και η χολόσταση, οι υψηλές τιμές στην ελαστογραφία ήπατος αντιστοιχούν σε υψηλά στάδια ίνωσης.

Στις χρόνιες φλεγμονώδεις νόσους, όπως η αυτοάνοση ηπατίτιδα, το στάδιο της ίνωσης και η ικανή ενεργότητα φλεγμονής είναι οι σημαντικοί καθοριστικοί παράγοντες που επιδρούν στις τιμές της ηπατικής ελαστογραφίας. Επομένως, η ελαστογραφία μπορεί να υπερεκτιμήσει το στάδιο της ίνωσης στην οξεία φάση εκδήλωσης της αυτοάνοσης ηπατίτιδας και τα αποτελέσματά της θα πρέπει να ερμηνεύονται προσεκτικά.

Στην ατρησία χοληφόρων οι τιμές της ηπατικής ελαστικότητας είναι υψηλότερες συγκριτικά με τις άλλες χρόνιες ηπατοπάθειες και επηρεάζονται σημαντικά από την ηλικία του νεογνού, την υποκείμενη ίνωση και το βαθμό χολόστασης.

Στα μικρά βρέφη < 65 ημερών με ατρησία χοληφόρων οι υψηλές τιμές ελαστογραφίας είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης χολόστασης και ίνωσης και όχι μόνο της ίνωσης.

Αντιθέτως, στα μεγαλύτερα βρέφη με ατρησία χοληφόρων, ηλικίας > 65 ημερών, οι υψηλές τιμές της ελαστογραφίας ιστολογικά αντιστοιχούν σε ικανή ίνωση ή κίρρωση και σε αυτές τις ηλικίες η ελαστογραφία μπορεί να παρέχει πιο ακριβή αξιολόγηση της ίνωσης.

Τέλος, επισημαίνεται από την κλινική μας εμπειρία ότι η εφαρμογή της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας τα τελευταία χρόνια έχει μειώσει τον αριθμό των ηπατικών βιοψιών στα παιδιά με διάφορες χρόνιες ηπατοπάθειες και αυτό διαπιστώνεται και σε άλλες σύγχρονες μελέτες.

Ο ρόλος της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας στη διάγνωση της ίνωσης φαίνεται να είναι σημαντικός σε νοσήματα όπως τα μεταβολικά και τα γενετικά, που διαγιγνώσκονται με γονιδιακό έλεγχο χωρίς να γίνεται συχνά ηπατική βιοψία, όπως για παράδειγμα η νόσος Wilson. Αυτό θα πρέπει να αποδειχθεί με περαιτέρω μελέτες για τα συγκεκριμένα νοσήματα. Αξίζει να σημειωθεί το ενδιαφέρον των παιδιάτρων για την 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφία στην αξιολόγηση του ήπατος πριν και κατά τη διάρκεια χορήγησης θεραπείας στα μεταβολικά και στα γενετικά νοσήματα, όπως διαπιστώνεται από την κλινική μας εμπειρία.

Η ακριβής αξιολόγηση και ποσοτικοποίηση της ηπατικής ίνωσης, καθώς και η αναστρεψιμότητα της με την κατάλληλη έγκαιρη θεραπευτική αντιμετώπιση, καθιστά το ρόλο της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας σημαντικό, όπως αναδείξαμε στη συγκεκριμένη μελέτη. Τα αποτελέσματά μας ενισχύουν το ρόλο της απεικόνισης στη διερεύνηση των παιδιατρικών χρόνιων ηπατοπαθειών με την εφαρμογή της καινούργιας αυτής τεχνικής, της 2-Dimensional-Shear Wave ελαστογραφίας.

Βιβλιογραφία

1. Dhole SD, Kher AS, Ghildiyal RG, Tambse MP. (2015), Chronic Liver Diseases in Children: Clinical Profile and Histology. *J Clin Diagn Res.* 9: SC04-7. doi: 10.7860/JCDR/2015/13383.6250.
2. Ashraf Abou-Taleb, Ahmed RH Ahmed, Ahmed El-Hennawy (2019) Pediatric Chronic Liver Diseases: A Clinicopathological Study from a Tertiary Care Center *Int J Pediatr* 7 : 9305-9315
3. Ruzman L, Mikolasevic I, Baraba Dekanic K et al (2018) Advances in diagnosis of chronic liver diseases in pediatric patients. *World J Pediatr* 14:541–7.
4. Anderson EL, Howe LD, Jones HE et al (2015) The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 10(10):e0140908. doi: 10.1371/journal.pone.0140908.
5. Pinto RB, Schneider ACR, da Silveira TR (2015) Cirrhosis in children and adolescents: An overview. *World J Hepatol* 7:392–405.
6. Pierre Bedossa, Delphine Dargere and Valerie Paradis. (2003), Sampling Variability of Liver Fibrosis in Chronic Hepatitis C *HEPATOLOGY*, 38: 1449-1457
7. Heidelbaugh JJ, Sherbondy M. (2006) Cirrhosis and chronic liver failure: part II. Complications and treatment. *Am Fam Physician.* 74:767-76.
8. Lee YA, Wallace MC, Friedman SL.(2015) Pathobiology of liver fibrosis: a translational success story. *Gut* 64: 830-841 [PMID: 25681399 DOI: 10.1136/gutjnl-2014-306842]
9. Iredale J. P., Thompson A, Henderson N.C. (2013) Extracellular matrix degradation in liver fibrosis: Biochemistry and regulation *Biochimica et Biophysica Acta* 1832: 876–883
10. S. Milani, H. Herbst, D. Schuppan, E.G. Hahn, H. Stein (1989) In situ hybridization for procollagen types I, III and IV mRNA in normal and fibrotic rat liver: evidence for predominant expression in nonparenchymal liver cells, *Hepatology* 10: 84–92.
11. Mehal WZ, Iredale J, Friedman SL (2011) Scraping fibrosis: expressway to the core of fibrosis. *Nat Med.* 17:552–3
12. Friedman SL (2013) Liver fibrosis in 2012: convergent pathways that cause hepatic fibrosis in NASH. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 10:71–2
13. Gao B, Radaeva S. (2013) Natural killer and natural killer T cells in liver fibrosis. *Biochim Biophys Acta.* 1832:1061–9. [PubMed: 23022478]
14. Tacke F, Zimmermann HW (2014) Macrophage heterogeneity in liver injury and fibrosis. *J Hepatol.* 60:1090–6. [PubMed: 24412603]

15. Friedman S.L. (1993) The cellular basis of hepatic fibrosis, *N. Engl. J. Med.* 328: 1828–1835.
16. F.R. Murphy, R. Issa, X. Zhou, S. Ratnarajah et al (2002) Inhibition of apoptosis of activated hepatic stellate cells by tissue inhibitor of metalloproteinase-1 is mediated via effects on matrix metalloproteinase inhibition: implications for reversibility of liver fibrosis, *J. Biol. Chem.* 277: 11069–11076.
17. Friedrich-Rust M, Poynard T, Castera L. (2016) Critical comparison of elastography methods to assess chronic liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 13: 402-411
18. Stasi C, Milani S. (2016) Non-invasive assessment of liver fibrosis: Between prediction/prevention of outcomes and cost-effectiveness. *World J Gastroenterol* 22: 1711-1720
19. Powell LW, Kerr JF. (1970) Reversal of “cirrhosis” in idiopathic haemochromatosis following long-term intensive venesection therapy. *Australas Ann Med* 19:54–7.
20. Kweon YO, Goodman ZD, Dienstag JL, et al. (2001) Decreasing fibrogenesis: an immunohistochemical study of paired liver biopsies following lamivudine therapy for chronic hepatitis B. *J Hepatol* 35:749–55.
21. D’Ambrosio R, Aghemo A, Rumi MG, et al.(2012) A morphometric and immunohistochemical study to assess the benefit of a sustained virological response in hepatitis C virus patients with cirrhosis. *Hepatology* 56:532–43.
22. Dixon JB, Bhathal PS, Hughes NR, et al. (2004) Nonalcoholic fatty liver disease: improvement in liver histological analysis with weight loss. *Hepatology* 39:1647–54.
23. Schvarcz R, Glaumann H, Weiland O. (1993) Survival and histological resolution of fibrosis in patients with autoimmune chronic active hepatitis. *J Hepatol* 18:15–23.
24. Czaja AJ, Carpenter HA. (2004) Decreased fibrosis during corticosteroid therapy of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 40:646–52.
25. Ferreira AR, Roquete MLV, Toppa NH et al (2008) Effect of treatment on hepatic histopathology in children and adolescents with autoimmune hepatitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 46:65-70.
26. Ahmed F Abdalla, Khaled R Zalata, Abeer F Ismail et al (2009) Regression of fibrosis in paediatric autoimmune hepatitis: morphometric assessment of fibrosis versus semiquantitative methods. *Fibrogenesis & Tissue Repair* 2:2 doi:10.1186/1755-1536-2-2
27. Falkmer S, Samuelson G, Sjolín S (1970) Penicillamine-induced normalization of clinical signs, and liver morphology and histochemistry in a case of Wilson's disease. *Pediatrics* 45:260-268.

28. Kweon YO, Goodman ZD, Dienstag JL et al (2001) Decreasing fibrogenesis: an immunohistochemical study of paired liver biopsies following lamivudine therapy for chronic hepatitis B. *J Hepatol* 35:749-755.
29. Poynard T, McHutchinson J, Manns M et al (2002) Impact of interferon alpha-2b and ribavirin on liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 122:1303-1313.
30. Goodman Z.D. (2007) Grading and staging systems for inflammation and fibrosis in chronic liver diseases *Journal of Hepatology* 47: 598–607
31. Bravo AA, Sheth SG, Chopra S. (2001) Liver biopsy. *N. Engl. J. Med.* 344:495–500.
32. Cohen MB, A-Kader HH, Lambers D, Heubi JE (1992) Complications of percutaneous liver biopsy in children. *Gastroenterology* 102: 629–632
33. Sharma S, Khalili K, Nguyen GC (2014) Non-invasive diagnosis of advanced fibrosis and cirrhosis. *World J Gastroenterol* 20: 16820-16830
34. Seeff LB, Everson GT, Morgan TR et al (2010) HALT-C Trial Group. Complication rate of percutaneous liver biopsies among persons with advanced chronic liver disease in the HALT-C trial. *Clin Gastroenterol Hepatol*; 8: 877–883
35. Schiavon Lde L, Narciso-Schiavon JL, de Carvalho-Filho RJ (2014) Non-invasive diagnosis of liver fibrosis in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol* 20: 2854-2866
36. Dietrich CF, Bamber J, Berzigotti A, et al (2017) EFSUMB Guidelines and Recommendations on the Clinical Use of Liver Ultrasound Elastography, Update 2017 (Long Version). *Ultraschall Med* 38: e16-e47
37. European Association for Study of Liver; Asociacion Latino americana para el Estudio del Hgado. EASL-ALEH (2015) Clinical Practice Guidelines: Non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis. *J Hepatol* 63: 237-264
38. Koenig K (2009) Elastography In Contemporary Interventional Ultrasonography in Urology. Chapter 15, London: Springer-Verlag London Limited, pages 137–141.
39. Bamber J, Cosgrove D, DietrichCF, Fromageau J, Bojunga J, Calliada F, et al.(2013) EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 1: Basic principles and technology. *Ultraschall in der Medizin.* 34:169-184
40. IOVANNA FERRAIOLI, VINCENT WAI-SUN WONG, LAURENT CASTERA,ANNALISA BERZIGOTTI,IOAN SPOREA,CHRISTOPH F DIETRICH, BYUNG IHN CHOI, STEPHANIE R. WILSON,MASATOSHI KUDO,and RICHARD G. BARRD 2018 LIVER ULTRASOUND ELASTOGRAPHY:AN UPDATE TO THE WORLD FEDERATION FOR ULTRASOUND IN MEDICINE AND BIOLOGY GUIDELINES AND RECOMMENDATIONS. *Ultrasound in Medicine & Biology* Volume 44, Number 12

41. Roxana Şirli, Alina Popescu and Ioan Sporea (2019) Liver Fibrosis Assessment by Point Shear-Wave Elastography Techniques *Ultrasound Elastography* DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.87212>
42. Changtian Li, Changsheng Zhang, Junlai Li Huiping Huo Danfei Song (2016) Diagnostic Accuracy of Real-Time Shear Wave Elastography for Staging of Liver Fibrosis: A Meta-Analysis. *Med Sci Monit*, 22: 1349-1359
43. Sigrist R M.S., Liao J, Kaffas A El et al (2017) Ultrasound Elastography: Review of Techniques and Clinical Applications *Theranostics*, 7: 1303-1329
44. Belei O, Sporea I, Gradinaru-Tascau O et al (2016) Comparison of three ultrasound based elastographic techniques in children and adolescents with chronic diffuse liver diseases. *Med Ultrason* 18:145–150
45. LOGIQ E9 Shear Wave Elastography <https://www.logiqclub.net/emea/white-papers>
46. Sarvazyan, A. P., Rudenko, O. V., Swanson, S. D. et al (1998) Shear Wave elasticity imaging: a new ultrasonic technology of medical diagnostics. *Ultrasound in medicine & biology* 24:1419-1435.
47. Pawluś A, Sokołowska-Dąbek D Szymańska K et al (2015) Ultrasound Elastography – Review of Techniques and Its Clinical Applications in Pediatrics – Part 1. *Adv Clin Exp Med* 24: 537–543
48. Mihra S. Taljanovic, Lana H. Gimber, Giles W. Becker et al (2017) Shear-Wave Elastography: Basic Physics and Musculoskeletal Applications *RadioGraphics* 37:855–870
49. Gradinaru-Tascau O, Sporea I, Bota S et al (2013) Does experience play a role in the ability to perform liver stiffness measurements by means of supersonic shear imaging (SSI)? *Med Ultrason* 15: 180–183
50. Ferraioli G, Filice C, Castera L et al (2015) WFUMB guidelines and recommendations for clinical use of ultrasound elastography: Part 3: Liver. *Ultrasound in Medicine & Biology* 41:1161-1179
51. Shin HJ, Kim MJ, Kim HY et al (2016) Optimal acquisition number for hepatic shear wave velocity measurements in children. *PLoS One* 11:e0168758
52. Fontanilla T, Canas T, Macia A, et al (2014) Normal values of liver shear wave velocity in healthy children assessed by acoustic radiation force impulse imaging using a convex probe and a linear probe. *Ultrasound Med Biol*. 40: 470–477
53. Jung C, Groth M, Petersen KU, et al (2017) Hepatic shear wave elastography in children under free-breathing and breath hold conditions. *Eur Radiol* 27:5337-5343.
54. Leung VY, Shen J, Wong VW, et al (2013) Quantitative elastography of liver fibrosis and spleen stiffness in chronic hepatitis B carriers: comparison of shear-wave elastography and transient elastography with liver biopsy correlation. *Radiology* 269: 910-918.

55. Ferraioli G, Tinelli C, Dal Bello B, et al (2012) Liver Fibrosis Study Group. Accuracy of real-time shear wave elastography for assessing liver fibrosis in chronic hepatitis C: a pilot study. *Hepatology* 56: 2125-2133.
56. Yoon JH, Lee JM, Woo HS, et al (2013) Staging of hepatic fibrosis: comparison of magnetic resonance elastography and shear wave elastography in the same individuals. *Korean J Radiol* 14: 202-212.
57. Sang Min Lee Jeong Min Lee, Hyo-Jin Kang et al (2017) Liver fibrosis staging with a new 2D-shear wave elastography using comb-push technique: Applicability, reproducibility, and diagnostic performance PLOS ONE May 16, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0177264>
58. Cassinotto C, Lapuyade B, Mouries A, et al (2014) Non-invasive assessment of liver fibrosis with impulse elastography: comparison of Supersonic Shear Imaging with ARFI and FibroScan(R). *J Hepatol.* 61:550–7.
59. Woo H, Lee JY, Yoon JH et al (2015) Comparison of the Reliability of Acoustic Radiation Force Impulse Imaging and Supersonic Shear Imaging in Measurement of Liver Stiffness. *Radiology* 277:881–6.
60. Jae Yoon Jeong, Young Seo Cho, Joo Hyun Sohn (2018) Role of two-dimensional shear wave elastography in chronic liver diseases: A narrative review. *World J Gastroenterol* 14: 3849-3860
61. Felix Bende, Ioan Sporea, Roxana Şirli et al (2017) Performance of 2D-SWE.GE for predicting different stages of liver fibrosis, using Transient Elastography as the reference method. *Med Ultrason* 19:143-149
62. Franchi-Abella S, Corno L, Gonzales E et al (2016) Feasibility and diagnostic accuracy of Supersonic shear-wave Elastography for the assessment of liver stiffness and liver fibrosis in children: a pilot study of 96 patients. *Radiology* 278:554–562
63. Ferraioli G, Tinelli C, Zicchetti M et al (2012) Reproducibility of real-time shear wave elastography in the evaluation of liver elasticity. *Eur J Radiol* 81:3102-3106
64. Suh CH, Kim SY, Kim KW et al (2014) Determination of normal hepatic elasticity by using real-time shear-wave elastography. *Radiology* 271: 895-900
65. Hudson JM, Milot L, Parry C et al (2013) Inter and intra-operator reliability and repeatability of shear wave elastography in the liver: a study in healthy volunteers. *Ultrasound Med Biol* 39: 950-955
66. Thiele M, Detlefsen S, Sevelsted Møller L et al. Transient and 2-Dimensional Shear-Wave Elastography Provide Comparable Assessment of Alcoholic Liver Fibrosis and Cirrhosis. *Gastroenterology* 2016; 150: 123-133
67. Cassinotto C, Boursier J, de Lédinghen V et al (2016) Liver stiffness in nonalcoholic fatty liver disease: A comparison of supersonic shear imaging, FibroScan, and ARFI with liver biopsy. *Hepatology* 63: 1817-1827
68. Woo H, Lee JY, Yoon JH et al (2015) Comparison of the Reliability of Acoustic Radiation Force Impulse Imaging and Supersonic Shear Imaging in Measurement of Liver Stiffness. *Radiology* 277: 881-886

69. Cassinotto C, Charrie A, Mouries A et al (2015) Liver and spleen elastography using supersonic shear imaging for the noninvasive diagnosis of cirrhosis severity and oesophageal varices. *Dig Liver Dis* 47: 695-701
70. Garcovich M, Veraldi S, Enrico Di ST et al (2017) Patients with Fatty Liver Disease: Diagnostic Accuracy and Reproducibility of Shear-Wave Elastography *Radiology* 283: 820-827
71. Mederacke I, Wursthorn K, Kirschner J, et al (2009) Food intake increases liver stiffness in patients with chronic or resolved hepatitis C virus infection. *Liver Int* 29:1500-1506.
72. Arena U, Lupsor Platon M, Stasi C, et al (2013) Liver stiffness is influenced by a standardized meal in patients with chronic hepatitis C virus at different stages of fibrotic evolution. *Hepatology* 58:65-72.
73. Berzigotti A, De Gottardi A, Vukotic R, et al (2013) Effect of meal ingestion on liver stiffness in patients with cirrhosis and portal hypertension. *PLoS One* 8:e58742.
74. Dietrich CF, Ferraioli G, Sirlin R et al (2019) General advice in ultrasound based elastography of pediatric patients. *Med Ultrason* 21: 316-326
75. Gersak MM, Sorantin E, Windhaber J et al (2016) The influence of acute physical effort on liver stiffness estimation using Virtual Touch Quantification (VTQ). Preliminary results. *Med Ultrason* 18:151-156.
76. Engelmann G, Gebhardt C, Wenning D, et al (2012) Feasibility study and control values of transient elastography in healthy children. *Eur J Pediatr* 171:353-360.
77. Farmakis SG, Buchanan PM, Guzman MA et al (2019) Shear wave elastography correlates with liver fibrosis scores in pediatric patients with liver disease. *Pediatr Radiol.* 49:1742–1753
78. Palmeri ML, Wang MH, Rouze NC et al (2011) Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using acoustic radiation force-based shear stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 55:666–672
79. Motosugi U, Ichikawa T, Niitsuma Y, Araki T (2011) Acoustic radiation force impulse elastography of the liver: can fat deposition in the liver affect the measurement of liver stiffness? *Jpn J Radiol* 29:639–643
80. Goldschmidt I, Streckenbach C, Dingemann C, et al (2013) Application and limitations of transient liver elastography in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 57:109-113
81. Konus OL, Ozdemir A, Akkaya A et al Normal liver, spleen, and kidney dimensions in neonates, infants, and children: evaluation with sonography. *AJR Am J Roentgenol* 1998; 171:1693–1698
82. De Bruyn R. *Pediatric ultrasound how, why and when*. Elsevier/Churchill Livingstone 2005
83. Mueller S, Sandrin L (2010) Liver stiffness: a novel parameter for the diagnosis of liver disease. *Hepat Med* 2:49–67
84. Dardanelli E P, Orozco M E, Lostra J et al (2020) Bidimensional shear-wave elastography for assessing liver fibrosis in children: a proposal of reference values that correlate with the histopathological Knodell–Ishak score. *Pediatr Radiol* <https://doi.org/10.1007/s00247-020-04632-1>

85. DiPaola FW, Schumacher KR, Goldberg CS et al (2017) Effect of Fontan operation on liver stiffness in children with single ventricle physiology. *Eur Radiol* 27:2434-2442
86. Dillman JR, Heider A, Bilhartz JL et al (2015) Ultrasound shear wave speed measurements correlate with liver fibrosis in children. *Pediatr Radiol* 45:1480–1488
87. Raizner A, Shillingford N, Mitchell PD et al (2017) Hepatic inflammation may influence liver stiffness measurements by transient elastography in children and young adults. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 64: 512–517
88. Behairy Bel-S, Sira MM, Zalata KR et al (2016) Transient elastography compared to liver biopsy and morphometry for predicting fibrosis in pediatric chronic liver disease: does etiology matter? *World J Gastroenterol* 22:4238–4249
89. Fitzpatrick E, Quaglia A, Vimalasvaran S et al (2013) Transient elastography is a useful noninvasive tool for the evaluation of fibrosis in paediatric chronic liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 56:72–76
90. Weerasooriya V S. MD, White F V, MD, and Shepherd R W., MD, FRACP (2004) Hepatic fibrosis and survival in biliary atresia. *J Pediatr* 144:123-5
91. Leschied J R, Dillman J R, Bilhartz J et al (2015) Shear wave elastography helps differentiate biliary atresia from other neonatal/infantile liver diseases. *Pediatr Radiol* 45:366–375
92. Hennes EM, Zeniya M, Czaja AJ et al. (2008) International Autoimmune Hepatitis Group. Simplified criteria for the diagnosis of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 48:169- 176
93. Elizabeth A. (2010) Stuart Matching methods for causal inference: A review and a look forward *Stat Sci.* 25 : 1–21. doi:10.1214/09-STS313.
94. Mark Lunt (2014) Selecting an Appropriate Caliper Can Be Essential for Achieving Good Balance With Propensity Score Matching. *American Journal of Epidemiology* 179: 226–235
95. Siegel, S., & Castellan, N. J. Jr. (1988, 2nd ed.). *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. New York: McGraw–Hill. p. 124
https://en.wikipedia.org/wiki/Median_test
96. Lu-yao Zhou, Hong Jiang, Quan-yuan Shan et al (2017) Liver stiffness measurements with supersonic shear wave elastography in the diagnosis of biliary atresia: a comparative study with grey-scale US. *Eur Radiol* 27:3474–3484
97. Xiaoli Chen, Rui Dong, Zhen Shen et al (2016) Value of Gamma-Glutamyl Transpeptidase for Diagnosis of Biliary Atresia by Correlation With Age. *JPGN* 63: 370–373
98. Austin P. C. and Steyerberg E. W. (2015) The number of subjects per variable required in linear regression analyses. *Journal of Clinical Epidemiology* 68: 627- 636

99. Barton B, Peat J (2014) *Medical Statistics. A Guide to SPSS, Data Analysis and Critical Appraisal*, 2nd ed. Oxford: Wiley Blackwell; p 217
100. Johnston R, Jones K, Manley D (2018) Confounding and collinearity in regression analysis: a cautionary tale and an alternative procedure, illustrated by studies of British voting behaviour. *Qual Quant* 52:1957–1976
101. Shashi B. P, Prasenjit D, Mousumi M et al (2017) Assessment of liver fibrosis in chronic hepatitis: comparison of shear wave elastography and transient elastography. *Abdom Radiol* 42:2864–2873
102. Perkins N J and Schisterman E F (2006) The inconsistency of “optimal” cut-points using two ROC based criteria. *American Journal of Epidemiology* 163: 670–675
103. Galina P, Alexopoulou E, Zellos A et al (2019) Performance of two-dimensional ultrasound shear wave elastography: reference values of normal liver stiffness in children. *Pediatr Radiol* 49:91-98.
104. Galina P, Alexopoulou E, Mentessidou A et al (2021) Diagnostic accuracy of two-dimensional shear wave elastography in detecting hepatic fibrosis in children with autoimmune hepatitis, biliary atresia, and other chronic liver diseases. *Pediatr Radiol* DOI: 10.1007/s00247-020-04959-9
105. Matos J, Paparo F, Bacigalupo L, et al (2019) Noninvasive liver fibrosis assessment in chronic viral hepatitis C: agreement among 1D transient elastography, 2D shear wave elastography, and magnetic resonance elastography. *Abdominal Radiology* 44:4011–4021
106. Tutar O, Beser OF, Adaletli I et al (2014) Shear wave elastography in the evaluation of liver fibrosis in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 58:750–755
107. Alhashmi G H, Gupta A, Trout A T, Dillman J R (2020) Two-dimensional ultrasound shear wave elastography for identifying and staging liver fibrosis in pediatric patients with known or suspected liver disease: a clinical effectiveness study *Pediatric Radiology* 50:1255–1262
108. Mărginean CO, Meliț L, Ghiga D& Săsăran M (2020) Reference values of normal liver stiffness in healthy children by two methods: 2D shear wave and transient elastography. *Scientific Reports* 10:7213
109. Mjelle A B., Mulabecirovic A, Havre RF et al (2019) Normal Liver Stiffness Values in Children: A Comparison of Three Different Elastography Methods. *JPGN*;68: 706–712
110. Tokuhara D, Cho Y, Shintaku H (2016) Transient Elastography based liver stiffness age-dependently increases in children. *PLoS One* 11:e0166683
111. Roulot D, Czernichow S, Le Clésiau Hervé et al (2008) Liver stiffness values in apparently healthy subjects: influence of gender and metabolic syndrome. *J Hepatol* 48:606-13
112. Corpechot C, El Naggar A, Poupon R. (2006) Gender and liver: is the liver stiffness weaker in weaker sex? *Hepatology* 44:513–514
113. Yasuda M, Shimizu I, Shiba M, Ito S. (1999) Suppressive effects of estradiol on dimethylnitrosamine-induced fibrosis of the liver in

rats. *Hepatology* 29:719–727

114. Fung J, Cheuk-kwong Lee, Monica Chan et al (2013) Defining Normal Liver Stiffness Range in a Normal Healthy Chinese Population without Liver Disease. *PLOS ONE*, December 26 www.plosone.org
115. Bailey SS, Youssfi M, Patel M, et al (2017) Shear-wave ultrasound elastography of the liver in normal-weight and obese children. *Acta Radiol* 58:1511–8.
116. CONG-ZHI WANG, JIAN ZHENG, ZE-PING HUANG ET AL (2014) INFLUENCE OF MEASUREMENT DEPTH ON THE STIFFNESS ASSESSMENT OF HEALTHY LIVER WITH REAL-TIME SHEAR WAVE ELASTOGRAPHY. *Ultrasound in Medicine and Biology* 40:461-469
117. Hanquinet S, Courvoisier D, Kanavaki A et al (2013) Acoustic radiation force impulse imaging—normal values of liver stiffness in healthy children. *Pediatr Radiol* 43:539–544
118. Potthoffa A, Attia D, Pischke S et al (2013) Influence of different frequencies and insertion depths on the diagnostic accuracy of liver elastography by acoustic radiation force impulse imaging (ARFI). *European Journal of Radiology* 82 :1207-1212
119. Rizzo L, Calvaruso V, Cacopardo B et al (2011) Comparison of transient elastography and acoustic radiation force impulse for non-invasive staging of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol.* 106: 2112-2120
120. Lee MJ, Kim MJ, Han KH, Yoon CS (2013) Age-related changes in liver, kidney, and spleen stiffness in healthy children measured with acoustic radiation force impulse imaging. *Eur J Radiol.* 82: e290-294
121. Fontanilla T, Canas T, Macia A et al (2014) Normal values of liver shear wave velocity in healthy children assessed by acoustic radiation force impulse imaging using a convex probe and a linear probe. *Ultrasound Med Biol.* 40: 470-477
122. Sohn B, Kim MJ, Han SW et al (2014) Shear wave velocity measurements using acoustic radiation force impulse in young children with normal kidneys versus hydronephrotic kidneys. *Ultrasonography* 33: 116-121
123. Pereira TN, Walsh MJ, Lewindon PJ, Ramm GA (2010) Paediatric cholestatic liver disease: Diagnosis, assessment of disease progression and mechanisms of fibrogenesis. *World J Gastrointest Pathophysiol.* 1:69–84
124. Walsh M, Lewindon P, Shepherd R et al (2009) Detection and follow-up of liver fibrosis in cystic fibrosis: A role for diagnostic liver biopsy and serum markers in the evaluation of and follow up of cystic fibrosis liver disease. *Hepatology* 50 Suppl 4: A759
125. Yang-Sheng Lin (2017) Ultrasound Evaluation of Liver Fibrosis. *Journal of Medical Ultrasound.* 25:127-129
126. Sagir A, Erhardt A, Schmitt M, et al (2008) Transient elastography is unreliable for detection of cirrhosis in patients with acute liver damage. *Hepatology (Baltimore, Md)* 47:592–5
127. Coco B, Oliveri F, Maina AM, et al (2007) Transient elastography: a new surrogate marker of liver fibrosis influenced by major changes of transaminases. *Journal of viral hepatitis* 14:360–9

128. Lee CK, Perez-Atayde AR, Mitchell PD, et al (2013) Serum biomarkers and transient elastography as predictors of advanced liver fibrosis in a United States cohort: the Boston children's hospital experience. *J Pediatr* 163:1058-64
129. Saumya Pathak, and Deepak Kamat, (2018) Autoimmune Hepatitis in Children *Pediatric Annals* 47:e81-e86
130. Newsome PN, Cramb R, Davison SM et al (2018) Guidelines on the management of abnormal liver blood tests. *Gut* 67:6–19. doi:10.1136/gutjnl-2017-314924
131. Russo P, Magee JC, Anders RA et al (2016) Key histopathological features of liver biopsies that distinguish biliary atresia from other causes of infantile cholestasis and their correlation with outcome: a multicenter study. *Am J Surg Pathol* 40: 1601–1615
132. Qiu-Long Shen, Ya-Jun Chen, Zeng-Meng Wang et al (2015) Assessment of liver fibrosis by Fibroscan as compared to liver biopsy in biliary atresia. *World J Gastroenterol* 21: 6931-6936