

## БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Батырова А.С., Васильева Е.М., Баканов М.И., Сурков А.Н.

### БИОМАРКЕРЫ АНГИОГЕНЕЗА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ С ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ

ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ. 119991, Москва, Россия

*В ряде работ показано, что при хронических вирусных гепатитах (ХВГ) и циррозе печени вирусной этиологии имеются признаки повреждения и дисфункции эндотелия, выраженность которых зависит от тяжести патологического процесса. Цель исследования: оценка роли факторов ангиогенеза и эндотелиальной дисфункции при персистирующих ХВГ у детей и подростков. Обследовано 35 пациентов с ХВГ, из них с ХГВ – 11 детей, с ХГС – 24 ребенка. Референсную группу составили 120 условно здоровых детей. У всех детей в сыворотке крови определяли концентрации VEGF-A, ангиотензина (ANG), растворимых рецепторов sVEGF-R1 и sVEGF-R2, тромбомодулина (ТМ) в сыворотке крови иммуноферментным методом с помощью специальных наборов реагентов. Содержание фактора Виллебранда (vWf) определяли в плазме крови методом имунотурбидиметрии, плазминогена (PLG) – при проведении расширенной коагулограммы. У детей с ХВГ независимо от этиологии концентрация VEGF-A была значимо ниже, а содержание sVEGF-R2, sVEGF-R1 и ТМ – выше, по сравнению с детьми без патологии печени ( $p < 0,001$ ,  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ ,  $p < 0,001$  соответственно). Концентрация ТМ и уровень активности PLG у больных с ХГС были несколько выше, чем при ХГВ. Пониженный уровень VEGF-A и повышенная экспрессия его растворимых рецепторов свидетельствуют об усилении процессов торможения ангиогенеза при ХВГ, что может указывать на патогенетическую роль этого феномена в развитии повреждений печени при ХГС.*

**Ключевые слова:** хронический вирусный гепатит; ангиогенез печени; эндотелиальная дисфункция; фактор роста эндотелия сосудов VEGF-A; растворимые рецепторы VEGF-A – sVEGF-R1, sVEGF-R2; тромбомодулин.

**Для цитирования:** Батырова А.С., Васильева Е.М., Баканов М.И., Сурков А.Н. Биомаркеры ангиогенеза и эндотелиальной дисфункции у детей и подростков с хроническими вирусными гепатитами. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (10): 588-593. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-10-588-593>

Batyrova A. S., Vasilyeva E.M., Bakanov M. I., Surkov A. N.

#### BIOMARKERS OF ANGIOGENESIS AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN CHILDREN AND ADOLESCENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS

FSAI «National Medical Research Center for Childrens Health» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 119991, Moscow, Russia

*At some works, it has been shown there are signs of damage and endothelium dysfunction in patients with chronic viral hepatitis (CVH) and liver cirrhosis of viral etiology the severity of these conditions depends on the severity of the pathological process. Evaluation of the role of angiogenic factors and endothelial dysfunction in persistent of CVH in children and adolescents. 35 patients were examined: of which 11 with chronic hepatitis B (CHB) and 24 with chronic hepatitis C (CHC). The reference group consisted of 120 practically healthy persons of the corresponding age and sex. VEGF-A, angiotensin (ANG), soluble receptors of VEGF-A (sVEGF-R1 and sVEGF-R2) and trombosmodulin (TM) have been investigated in serum by enzyme immunoassay using special kits (BCM Diagnostics, USA). Other endothelial dysfunction markers as von Willebrand factor (vWf) was determined in blood plasma by immunoturbidimetry (Siemens, Germany), plasminogen (PLG) was investigated due to extended coagulation. In children with CVH, regardless of etiology, the concentration of VEGF-A was significantly lower, and sVEGF-R2, sVEGF-R1 and TM was higher than in children without liver disease ( $p < 0.001$ ,  $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ,  $p < 0.001$ , respectively). The concentration of TM and the level of PLG activity in patients with CHC were slightly higher than in CHB. Decreased level of VEGF-A and increased expression of its soluble receptors indicate enhanced inhibition of angiogenesis in CVH, which may indicate the pathogenetic role of this phenomenon in the development of liver damage in CHC.*

**Keywords:** chronic viral hepatitis; hepatic angiogenesis; endothelial dysfunction; vascular endothelial growth factor (VEGF-A); soluble vascular endothelial growth factor receptor 1, 2; trombosmodulin.

**For citation:** Batyrova A.S., Vasilyeva E.M., Bakanov M.I., Surkov A.N. Biomarkers of angiogenesis and endothelial dysfunction in children and adolescents with chronic viral hepatitis. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2019; 64 (10): 588-593. (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-10-588-593>

**For correspondence:** Batyrova A. S., doctor of clinical laboratory diagnostics centralized clinical diagnostic laboratory with express diagnostics group; e-mail: [annbatyrova@yandex.ru](mailto:annbatyrova@yandex.ru)

**Information about authors:**

Batyrova A. S., <https://orcid.org/0000-0002-9809-6922>

Vasilieva E.M., <http://orcid.org/0000-0002-4712-8664>

Bakanov M. I., <http://orcid.org/0000-0002-0053-8965>

Surkov A. N., <https://orcid.org/0000-0002-4679-0533>

**Conflict of interest.** *The authors declare no conflict of interest.*

**Acknowledgment.** *The study had no sponsorship.*

Received 30.09.2019

Accepted 01.10.2019

**Введение.** В настоящее время установлено, что основным индуктором ангиогенеза, как в физиологических условиях, так и при различных патологических состояниях является гипоксия [1]. При вирусных гепатитах происходят нарушения в системе эритронов, что влечет за собой гипоксию, которая, в свою очередь, инициирует ремоделирование сосудов, развивающееся под влиянием индуцированных гипоксией факторов (hypoxia-induced factors – HIFs) [2,3]. В последние годы ангиогенез печени стали рассматривать в контексте различных воспалительных, фиброзных и ишемических состояний, хотя ранее его связывали только с опухолевыми процессами [4]. Известно, что вирус гепатита С обладает тропностью к клеткам сосудистой стенки, что свойственно инфекционным агентам [5, 6]. Связанные с этим сосудистое воспаление и изменения в ангиогенезе способствуют также повышению риска развития атеросклероза и сердечно-сосудистых заболеваний [7].

Среди ангиогенных факторов следует, прежде всего, выделить васкулоэндотелиальный фактор роста типа А (VEGF-A) – гомодимерный высокогликозилированный сигнальный белок, индуцирующий пролиферацию эндотелия путем связывания со своими тирозинкиназными рецепторами VEGF-R1 (Flt1) и VEGF-R2 (KDR) [8]. VEGF является самой важной молекулой, участвующей в формировании размера и количества фенестр в синусоидальных эндотелиальных клетках печени. В эксперименте с клеточными культурами удаление данного фактора из питательной среды приводило к потере фенестр, а повторное внесение VEGF в среду – к их восстановлению [9, 10].

К числу важных регуляторов процесса ангиогенеза относят также белок ангиогенин (ANG) – полипептид из суперсемейства рибонуклеаз (RNase), активирующий клеточно-ассоциированные протеазы, стимулирующий синтез ДНК и пролиферацию в культурах тканей с низкой плотностью эндотелиальных клеток [11]. Взаимодействие между ANG, плазминогеном, активатором плазминогена, эластазой и ангиостатином, очевидно, представляет собой регуляторную систему, обеспечивающую равновесие между ангиогенезом и антиангиогенезом [12]. Усиление синтеза ANG в печени при ее повреждении связано с быстрой пролиферацией сосудистого эндотелия, неизбежной при регенерации пораженного органа [11].

Известно, что к стимуляторам неоангиогенеза, кроме отмеченных выше VEGF и ANG, относят фактор роста фибробластов (FGF), эпидермальный фактор роста (EGF), тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующие факторы роста  $\alpha$  и  $\beta$  (TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ ), инсулинподобный фактор роста-1 (IGF-1), оксид азо-

та (NO), интерлейкин-8 и неспецифические факторы, такие как матриксные металлопротеиназы (MMPs). К ингибиторам неоангиогенеза относятся эндостатин, растворимые рецепторы VEGF (sVEGF-R), тромбоспондин, ангиостатин (фрагмент плазминогена), вазостатин, рестин, ингибиторы MMP (TIMP-1, TIMP-2) [3].

Установлено, что при хронических вирусных гепатитах (ХВГ) и циррозах печени (ЦП) вирусной этиологии имеются признаки повреждения и дисфункции эндотелия, выраженность которых зависит от тяжести патологического процесса [13, 14]. Полагают, что тромбомодулин (ТМ) и фактор Виллебранда (vWf) могут быть предикторами нарушений функции эндотелиальных клеток при повреждении печени, вызываемом вирусами гепатита В и С [15]. Ключевую роль при данных заболеваниях играет патологический ангиогенез – формирование новых кровеносных сосудов из уже существующих, при этом общая ангиоархитектоника оказывается нарушенной [16]. Фиброз и воспаление способствуют образованию новых сосудистых структур в печени. В последнее десятилетие, несмотря на успехи в лечении хронических заболеваний печени (ХЗП), все еще остается проблемой объективно оценить эволюцию регенерационного процесса в печени на фоне терапии, так как обычный клинико-лабораторный анализ сывороточных показателей функции печени и маркеров фиброза является недостаточным. По этой причине весьма актуален поиск значимых биомаркеров, отражающих прогрессирование болезни печени. Полагают, что уровни VEGF и других факторов ангиогенеза и состояние эндотелиальной дисфункции могут служить прогностическими маркерами хронического гепатита С (ХВГ С) и отражать реакцию организма больного на проводимую терапию [17].

Цель исследования – оценка роли факторов ангиогенеза и эндотелиальной дисфункции при персистирующих хронических вирусных гепатитах у детей и подростков.

**Материал и методы.** Было обследовано 35 детей (23 мальчика, 12 девочек) с ХВГ, которые составили основную группу. Возраст пациентов колебался от 3 до 18 лет ( $11,8 \pm 0,7$  лет). В зависимости от этиологии гепатита пациентов распределили в две подгруппы: I – с ХВГ В ( $n=11$ ), II – с ХВГ С ( $n=24$ ). Референсную группу составили 120 условно здоровых детей, не имевших изменений со стороны желудочно-кишечного тракта и желчевыводящих путей, и без поражения иных органов и/или систем, патология которых влечет за собой изменение печеночной ткани и ремоделирование стенок сосудов, проходивших плановое обследование в консультативном отделении НИИ педиатрии ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России. Пациентам основной группы

Таблица 1

Изменение уровня ангиогенных факторов у детей и подростков с хроническими вирусными гепатитами

Показатели	Основная группа (1) (n = 35)	Подгруппа I (2) (n = 11)	Подгруппа II (3) (n = 24)	Референсная группа (4) (n = 122)
ANG нг/мл	277,1±28,5 (n=30)	264,9±61,4	281,2±32,2	289,3±4,5 (n=118)
VEGF-A пг/мл	195,1±35,9 (n=29)	238,0±79,0	178,7±37,7 $p_{3/4} < 0,001$	354,0±17,6 (n=122) $p_{1/4} < 0,001$
sVEGF-R1 пг/мл	222,9±33,0 $p_{1/4} < 0,05$	198,8±38,2	192,1±27,1	151,5±10,0 (n=70)
sVEGF-R2 пг/мл	18267±919 $p_{1/4} < 0,01$	17173±1238	18683±1184 $p_{3/4} < 0,01$	14829±262 (n=50)
Тромбомодулин нг/мл	38,4±3,9 (n=34) $p_{1/4} < 0,001$	32,3±6,8 $p_{2/4} < 0,05$	41,2±4,7 $p_{3/4} < 0,001$	14,4±0,8 (n=50)
PLG %	96,8±3,8	90,2±6,5	99,6±4,6	92,2±2,3 (n=20)
vWf %	125,1±13,0 (n=34)	127,3±17,6	108,7±7,4	95,8±12,2 (n=20)
VIII %	77,2±4,2 (n=32) $p_{1/4} < 0,01$	70,0±4,0	79,6±5,6 $p_{3/4} < 0,01$	65,4±6,0 (n=20)
VEGF-A+ANG/ sVEGF-R1+ sVEGF-R2	16,2±2,2 $p_{1/4} < 0,05$	15,4±3,8	16,5±2,4 $p_{3/4} < 0,05$	23,0±1,6
sVEGF-R1/ VEGF-A	1,19±0,24 $p_{1/4} < 0,05$	1,0±0,18 $p_{2/4} < 0,05$	1,29±0,33 $p_{3/4} < 0,05$	0,51±0,07
sVEGF-R2/ sVEGF-R1	106,6±11,1 $p_{1/4} < 0,01$	118,0±22,8 $p_{2/4} < 0,05$	94,4±7,5	62,6±3,0 $p_{3/4} < 0,01$

Примечание.  $p_{1/4}$  – достоверность различий между 1-й и 4-й группой;  $p_{2/4}$  – достоверность различий между 2-й и 4-й группой;  $p_{3/4}$  – достоверность различий между 3-й и 4-й группой.

с целью оценки стадии фиброза была выполнена транзитная эластография печени. Для проведения корреляционного анализа вводили баллы: фиброза нет – 0, слабый фиброз-1, умеренный фиброз – 2, выраженный фиброз – 3, цирроз – 4. Концентрации ключевых факторов ангиогенеза – VEGF-A, ангиогенина (ANG), растворимых рецепторов sVEGF-R1 и sVEGF-R2, а также маркера эндотелиальной дисфункции – тромбомодулина (TM) определяли в сыворотке крови иммуноферментным методом с помощью специальных наборов реагентов (BCM Diagnostics, США). Содержание фактора Виллебранда vWf определяли в плазме крови методом иммунотурбидиметрии (Siemens, Германия). Плазминоген (PLG) определяли при проведении расширенной коагулограммы. Проводили сравнение изменений соотношения содержания про- и антиангиогенных факторов. Для этого изучаемые параметры приводили к единой размерности в пкг/мл.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием персонального компьютера и программы Statistica. Различия между группами считали статистически значимыми при вероятности прогноза ( $p < 0,05$ ). Коэффициент корреляции определяли по Пирсону.

**Результаты.** Концентрации биомаркеров ангиогенеза и дисфункции эндотелия (ДЭ), определенные у пациентов с ХГВ и С, а также у условно здоровых детей представлены в табл. 1.

Как видно из представленных данных, в основной группе больных уровень ANG (277,1±28,5 нг/мл) статистически достоверно не отличался от такового в референсной группе (см.табл.1), однако отмечены значительные колебания этого показателя. Так, у 24 больных содержание ANG составило 384,1±20,2 нг/мл, а у 11 больных – 84,5±5,9 нг/мл ( $p < 0,001$ ). В зависимости от типа вируса различий в уровне ANG выявлено не было.

Содержание VEGF-A колебалось в значительных

пределах – от 0 до 843,4 пг/мл, среднее значение составило 195,1±35,9 пг/мл, что было значимо ниже ( $p < 0,01$ ) данного показателя в референсной группе (n=122), у которых колебания были менее выраженными: 14,5-742 пг/мл, а средняя его концентрация составила 354,0±17,6 пг/мл. Содержание VEGF-A во II подгруппе было ниже, чем в I, и достоверно ниже, чем в группе условно здоровых детей ( $p < 0,001$ ).

Уровень sVEGF-R1 ( $p < 0,05$ ) и sVEGF-R2 ( $p < 0,01$ ) у больных основной группы был выше, чем в референсной группе. Нам представилось интересным сравнить величину соотношения проангиогенных к антиангиогенным факторам (VEGF-A+ANG/ sVEGF-R1+ sVEGF-R2). Оказалось, что в основной группе количество антиангиогенных факторов преобладало над проангиогенными, при этом во II подгруппе эта разница была статистически значимой по сравнению с референсной группой ( $p < 0,05$ ). Далее мы сравнили величину соотношения sVEGF-R1/VEGF-A. В референсной группе это соотношение составило 0,51, в то время как в основной группе больных – 1,19 ( $p < 0,05$ ). Таким образом, в I подгруппе детей оно было несколько ниже ( $p < 0,05$ ), чем во II, но превышало данный показатель референсной группы.

Также если в группе условно здоровых детей соотношение sVEGF-R2/sVEGF-R1 составило 62,6, то в основной группе – 106,6 ( $p < 0,01$ ), в I подгруппе – 118,0 ( $p < 0,05$ ) и во II подгруппе – 94,4 ( $p < 0,01$ ).

**Изменения маркеров эндотелиальной дисфункции.** Как видно из представленных данных, у пациентов основной группы отмечается значимое увеличение в крови концентрации TM и активности фактора VIII по сравнению с группой условно здоровых детей ( $p < 0,001$  и  $p < 0,01$ , соответственно).

Уровень vWf в основной группе хотя и имел тенденцию к повышению, но статистически не отличался от такового у здоровых детей, что мы связываем с малой

Изменение уровня ангиогенных факторов в зависимости от содержания VEGF-A у больных с хроническими гепатитами В и С

Показатели	Повышенный уровень VEGF-A 275,8±28,7 пг/мл; (n = 16)	Значительно сниженный уровень VEGF-A 33,5±9,5 пг/мл; (n = 12)	Референсная группа (p) 354,0±17,6 пг/л
ANG нг/мл	265,0±36,7	293,3±44,2	289,3±4,5 (n=118)
sVEGF-R1 пг/мл	186,0±19,1	254,6±46,6 $p_p < 0,05$	151,5±10,0 (n=70)
sVEGF-R2 пг/мл	18316±5430	18197±1587 $p_p < 0,05$	14829±262 (n=50)
Тромбомодулин пг/мл	36,7±3,6 $P_p < 0,001$	41,5±7,8 $p_p < 0,001$	14,4±0,8 (n=50)
PLG, %	101,5±3,6 $P_p < 0,05$	88,3±6,4	92,2±2,3 (n=20)
vWf, %	112,7±8,3	115,7±11,7	95,8±12,2 (n=20)
VIII, %	73,4±3,9	90,4±9,6 $p_p < 0,05$	65,4±6,0 (n=20)
VEGF-A+ANG/ sVEGFR1+sVEGF-R2	15,3±3,1 $P_p < 0,05$	17,2±3,4	23,0±1,6
sVEGF-R1/ VEGF-A	0,81±0,11	5,91±0,92	0,51±0,07
sVEGF-R2/ sVEGF-R1	88,8±8,4	95,3±17,3	62,6±3,0

Примечание.  $p_p$  – достоверность различий с референсной группой.

выборкой пациентов. Аналогичные изменения выявлены и для PLG.

Особенности взаимосвязей ангиогенных и антиангиогенных факторов с биохимическими показателями сыворотки крови. В общей группе взаимосвязи ANG с другими показателями не выявлено. У детей подгруппы I выявлялась положительная корреляция уровня ANG с содержанием ГГТ ( $r=0,89$ ), количеством тромбоцитов ( $r=0,68$ ). Во II подгруппе выявлялись только корреляции между ANG и vWf ( $r=0,58$ ).

Уровень VEGF-A у больных I подгруппы коррелировал с содержанием vWf ( $r=0,88$ ), содержанием sVEGF-R2 ( $r=0,55$ ) и наличием фиброза печени по данным транзитной эластографии ( $r=-0,52$ ). В то же время у больных II подгруппы корреляций уровня VEGF-A с лабораторными и инструментальными показателями не выявлено. В общей группе уровень VEGF-A коррелировал с vWf ( $r=0,47$ ).

Не обнаружено различий в содержании sVEGF-R1 у больных I и II подгрупп. Во II подгруппе выявлялась корреляционная связь sVEGF-R1 с содержанием АЛТ ( $r=0,65$ ) и АСТ ( $r=0,51$ ). В I подгруппе выявлялась корреляционная связь sVEGF-R1 с содержанием ТМ ( $r=0,64$ ), PLG ( $r=0,66$ ), vWf ( $r=-0,53$ ).

Содержание sVEGF-R2 у больных основной группы было значительно выше, чем в группе условно здоровых детей ( $p < 0,01$ ), выявлены корреляции sVEGF-R2 с уровнем ТМ ( $r=0,49$ ); содержанием тромбоцитов ( $r=0,53$ ). Содержание sVEGF-R2 у больных II подгруппы было выше, чем у детей I подгруппы. У детей в подгруппе II данный показатель коррелировал с содержанием ТМ ( $r=0,51$ ).

В основной группе уровень PLG отрицательно коррелировал с фиброзом ( $r=-0,50$ ), выявляемым у больных. В I подгруппе выявлялись корреляционные связи ТМ с PLG ( $r=0,94$ ), АЛТ ( $r=0,73$ ) и АСТ ( $r=0,58$ ), vWf коррелировал с АЛТ ( $r=-0,62$ ) и АСТ ( $r=-0,83$ ). Также в подгруппе II выявлялись корреляционные связи PLG с АСТ ( $r=-0,48$ ) и фиброзом печени, выявляемым у больных ( $r=-0,59$ ).

Как указывалось, ранее, по содержанию VEGF-A основная группа обследованных больных была очень неоднородной. Почти у половины пациентов ( $n=12$ ) уровень VEGF-A был очень низким ( $33,5 \pm 9,5$  пг/мл), у остальных – относительно повышенным. Интересно отметить, что при низком содержании VEGF-A выявлялась взаимосвязь этого показателя с вирусоносительством больного: отрицательная – с ХГС ( $r=-0,48$ ) и положительная – с ХГВ ( $r=0,48$ ). В то же время значимых различий в содержании ANG в разных подгруппах выявлено не было. Выявлялись взаимосвязи ANG с sVEGF-R1 ( $r=-0,55$ ), vWf ( $r=0,54$ ), VIII ( $r=0,62$ ). На фоне сниженного уровня VEGF-A отмечалось значительное повышение содержания в сыворотке крови растворимого рецептора sVEGF-R1 (табл.2). Уровень sVEGF-R2 в сыворотке не зависел от содержания VEGF-A. При низком уровне VEGF-A выявлены корреляционные связи sVEGF-R2 с ТМ ( $r=0,46$ ), тромбоцитами ( $r=0,49$ ); у больных с более высоким содержанием VEGF-A корреляционные связи были более сильными: с ТМ ( $r=0,57$ ), с тромбоцитами ( $r=0,59$ ).

Отношение sVEGF-R2/sVEGF-R1 в группе с низким содержанием VEGF-A положительно коррелировало с vWf ( $r=0,64$ ); отношение sVEGF-R1/VEGF-A в этой же группе пациентов положительно коррелировало с PLG ( $r=0,63$ ).

Содержание ТМ у пациентов с низким VEGF-A было выше, чем у больных с более высоким содержанием VEGF-A, у последних уровень ТМ коррелировал с PLG ( $r=0,69$ ). При низких значениях VEGF-A выявлялись положительные корреляционные связи ТМ с фиброзом ( $r=0,52$ ), vWf ( $r=0,44$ ). Процентное содержание PLG у больных с низким уровнем VEGF-A было сниженным по сравнению с референсной группой, и еще значительно ниже, чем у больных с относительно повышенным содержанием VEGF-A, у последних эта разница была статистически значимой. Выявлены взаимосвязи PLG с содержанием тромбоцитов ( $r=-0,58$ ) и наличием фиброза печени ( $r=-0,48$ ).



Отношение VEGF-A+ANG/ sVEGFR1+sVEGF-R2 у больных с уровнем VEGF-A, близким к референсным данным, было самым низким, достоверно ниже, чем в группе условно здоровых детей. У больных с низким содержанием VEGF-A это коррелировало с содержанием тромбоцитов ( $r=-0,63$ ).

**Обсуждение.** В патогенезе хронических вирусных заболеваний печени большое значение имеет нарушение внутривенной гемодинамики, что может быть непосредственно связано с повреждением эндотелиальной выстилки синусоидальных клеток печени вирусом. Процессы прогрессирования поражения печени, в частности, неоангиогенез и фиброз в печени, в свою очередь, связаны с функциональной состоятельностью эндотелия [18].

Имеются данные о том, что для поражений печени вирусного генеза характерно повышение показателей ангиогенеза в сыворотке крови [19]. В ходе нашего исследования было установлено, что у детей основной группы уровень VEGF-A был значимо ниже, а содержание sVEGF-R2, sVEGF-R1 – выше, чем в референсной группе.

Также оказалось, что в основной группе количество ангиогенных факторов преобладало над проангиогенными. Таким образом можно предположить, что растворимые рецепторы VEGF-R1, – R2 связали большую часть VEGFA, что в свою очередь может свидетельствовать о торможении неоангиогенеза в печени на фоне повреждения эндотелия вирусом.

В литературе имеются сведения, что сывороточные уровни VEGF положительно коррелируют с количеством тромбоцитов у пациентов с гепатоцеллюлярной карциномой, что объясняется тем, что в присутствии опухоли тромбоциты могут переносить большое количество VEGF в своих гранулах, но при этом не сказываться на его уровне в сыворотке крови. Высказано мнение о том, что количественная оценка VEGF по отношению к количеству тромбоцитов может использоваться в качестве прогностического маркера при гепатоцеллюлярной карциноме, так как при этом заболевании наблюдались более высокие показатели VEGF и тромбоцитов по сравнению со здоровыми людьми и пациентами с ЦП [9].

В нашем исследовании выявлено изменение соотношения sVEGF-R1/VEGF-A у пациентов с ХГВ – оно было несколько ниже, чем у детей с ХГС, но превышало данный показатель референсной группы, что подтверждало недостаточность сигнальной системы VEGF-A при ХГ, а соответственно подтверждало нашу гипотезу о нарушении нормальной васкуляризации печени у пациентов с ХЗП за счет дисбаланса про- и антиангиогенных факторов.

Известно, что VEGF-R1 существует в двух формах: полноразмерного мембрансвязанного рецептора, способного передавать сигнал, и усечённого растворимого рецептора sVEGF-R1, способного связывать лиганд VEGF-A или образовывать димеры с полноразмерным рецептором и блокировать передачу сигнала. Растворимая форма sVEGF-R1 может образовывать неактивные гетеродимеры с sVEGF-R2 [20].

Полученные нами высокие уровни ТМ и vWf свидетельствуют о повреждении эндотелия сосудов, при этом у детей с ХГС концентрация ТМ выше, чем у детей с ХГВ что согласуется с данными исследователей М. Osada и соавт.[21], которые обнаружили у пациентов с ХГС высокий уровень ТМ. По мнению авторов, это по-

вышение положительно коррелировало с интенсивностью прогрессирования фиброза печени.

При ХГС и ЦП, помимо механического повышения vWf (происходящего в результате выхода данного фактора при нарушении целостности сосудистой стенки), также возможно увеличение содержания этого фактора за счет усиленного потребления тромбоцитов, возникающих за счет воспалительных изменений, индуцированных действием вирусов и фиброзом печеночной ткани [22].

При ХЗП, особенно на терминальных стадиях, концентрации VIII фактора и фактора vWf в плазме крови повышаются, хотя большинство прокоагулянтных факторов оказывается сниженным [23, 24]. Такое повышение содержания VIII фактора, на примере ЦП, объясняется снижением клиренса данного фактора из плазмы крови посредством механического повышения содержания vWf (высвобождение крупных мультимеров vWf при повреждении сосудов), способствующего стабилизации его прокоагулянтной активности [25]; либо за счет недостаточной экспрессии рецепторов липопротеинов низкой плотности (мультифункционального лиганда), в норме обеспечивающих клеточный захват и разрушение VIII фактора [26].

Как установлено, основной синтез VIII фактора происходит, главным образом, в синусоидальных эндотелиальных клетках печени [27]. В плазме данный фактор практически весь связан с vWf, который защищает его от протеолитической инактивации в плазме, за счет блокирования сайтов связывания VIII фактора с фосфолипидной матрицей и протеином С [23].

**Заключение.** Повышенная экспрессия растворимых рецепторов VEGF-A – sVEGF-R1 и sVEGF-R2 и пониженный уровень VEGF-A свидетельствуют об усилении процессов торможения ангиогенеза при ХГ, что может указывать на патогенетическую роль этого феномена в развитии повреждений печени при данной патологии у детей, особенно при ХГС. Обнаруженные изменения показателей эндотелиальной дисфункции у обследуемых больных могут быть использованы в качестве дополнительных маркеров повреждения эндотелия сосудов печени при ХГ у детей.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 3, 5-7, 9-12, 15-17, 19, 21,22, 24-27 см. REFERENCES)

2. Вольнец Г.В., Потапов А.С., Скворцова Т.А. Хронический вирусный гепатит у детей: Проблемы и перспективы. *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2014; 69 (11-12): 46-53.
4. Сурков А.Н., Смирнов И.Е., Кучеренко А.Г., Потапов А.С., Герасимова Н.П., Зиновьева А.Е. Взаимосвязи сывороточных маркеров фиброзирования с изменениями структурно-функционального состояния печени у детей. *Российский педиатрический журнал.* 2010; 2: 28-31.
8. Гарбузенко Д.В. Морфофункциональная перестройка печеночного сосудистого русла в патогенезе портальной гипертензии при циррозе печени. *Терапевтический архив.* 2014; 2: 90-5.
13. Щекотова А.П. Клинико-лабораторные показатели и эндотелиальная дисфункция при заболеваниях печени, их диагностическая, прогностическая значимость и возможности использования для оценки эффективности терапии: Дис. ... канд. мед. наук. Пермь; 2012.

14. Булатова И.А., Щекотова А.П., Третьякова Ю.И. Дисфункции эндотелия при хронических диффузных заболеваниях печени. *Казанский медицинский журнал*. 2009; 90(1): 46-8.
18. Булатова И.А. Динамика гепатофиброза и ангиогенеза у больных хроническим гепатитом С на фоне противовирусной терапии. *Современные проблемы науки и образования*. 2014; 4: 249-54.
20. Тырси́на Е.Г., Никулицкий С.И. Роль регуляторной VEGF/VEGF-R1-системы в опухолевом ангиогенезе (обзор литературы). *Онкогинекология*. 2015; 4: 4-12.
23. Долгов В.В., Сви́рин П.В. Лабораторная диагностика нарушенного гемостаза. М.: Триада; 2005.
13. Shchekotova A.P. Clinical and laboratory parameters, endothelial dysfunction in liver diseases, their diagnostic, prognostic significance, and the possibility of using in evaluation the effectiveness of therapy. Diss. Perm'; 2012. (in Russian)
14. Bulatova I.A., Shchekotova A.P., Tret'yakova Ju.I. Endothelial dysfunction in chronic diffuse liver disease. *Kazanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2009; 90(1): 46-8. (in Russian)
15. Sieber C. C., Sumanovski L.T., Stumm M., van der Kooij M., Battegay E. In vivo angiogenesis in normal and portal hypertensive rats: role of basic fibroblast growth factor and nitric oxide. *J. Hepatol*. 2001; 34: 644-50.
16. Lozano R., Naghavi M., Foreman K., Lim S., Shibuya K. et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet*. 2012; 380 (9859): 2095-2128.

## REFERENCES

1. Thabut D., Shah V. Intrahepatic angiogenesis and sinusoidal remodeling in chronic liver disease: New targets for the treatment of portal hypertension? *J. Hepatol*. 2010; 53(5): 976-80.
2. Volynets G.V., Potapov A.S., Skvortsova T.A. Chronic hepatitis C in children: problems and prospects. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2014; 69 (11-12):46-5. (in Russian)
3. Kukla M. Angiogenesis a phenomenon which aggravates chronic liver disease progression. *Hepatol. Int*. 2013; 7 (1):4-12.
4. Surkov A.N., Smirnov I. Ye., Kucherenko A.G., Potapov A.S., Gerasimova N.P., Zinov'yeva A. Ye. Relationships of serum fibrosis markers to hepatic structural and functional changes in children. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal*. 2010; 2: 28-31. (in Russian)
5. Shah P.K. Link between infection and atherosclerosis: who are the culprits: viruses, bacteria, both, or neither? *Circulation*. 2001; 103: 5-6.
6. Ishizaka N., Ishizaka Y., Takahashi E. et al. Association between hepatitis C virus seropositivity, carotid-artery plaque, and intimamedia thickening. *Lancet*. 2002; 359: 133-5.
7. Nielsen N.S, Jespersen S., Gaardbo J.C., Arnbjerg C.J., Clausen M.R. et. al. Impaired Platelet Aggregation and Rebalanced Hemostasis in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Int. J. Mol. Sci*. 2017; 18(5). doi: 10.3390/ijms18051016.
8. Garbuzenko D.V. Morphofunctional rearrangement of the hepatic vasculature in the pathogenesis of portal hypertension in liver cirrhosis. *Terapevticheskij arkhiv*. 2014; 86 (2): 90-5. (in Russian)
9. Kim S.J., Choi I K., Park K.H., Yoon S.Y., Oh S. C. Serum vascular endothelial growth factor per platelet Count in hepatocellular carcinoma: correlations with clinical parameters and survival. *Jpn J Clin Oncol*. 2004; 34(4): 184-190.
10. Carmeliet P., Jain R.K. Molecular mechanisms and clinical applications of angiogenesis. *Nature*. 2011; 473: 298-307.
11. Tello-Montoliu A., Patel J.V., Lip J.Y.H. Angiogenin: a review of the pathophysiology and potential clinical applications. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2006; 4(9): 1864-74.
12. Barcena C., Stefanovic M., Tutusaus A., Martinez-Nieto G.A. et al. Angiogenin secretion from hepatoma cells activates hepatic stellate cells to amplify a self-sustained cycle promoting liver cancer. *Sci. Rep*. 2015; 5:7916.
17. Srivastava A., Shukla V., Tiwari D., Gupta J., Kumar S. et. al. Targeted therapy of chronic liver diseases with the inhibitors of angiogenesis. *Biomed. Pharmacother*. 2018; 105: 256-66.
18. Bulatova I.A. The dynamics of hepatofibrosis and angiogenesis in patients with chronic hepatitis C on the background of antiviral therapy. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2014; 4: 249-54. (in Russian)
19. Wynn A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J. Pathol*. 2008. 21(4): 199-207.
20. Tyrsina E.G., Nikulitskiy S.I. The Role of regulatory VEGF/VRGF-R1-System in Tumor Angiogenesis (A literature review). *Onkologiya*. 2015; 4: 4-12. (in Russian)
21. Osada M., Kaneko M., Sakamoto M., Endoh M., Takigawa K., Suzuki-Inoue K. et al. Causes of thrombocytopenia in chronic hepatitis C viral infections. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2013; 18 (3): 272-80.
22. Nielsen N.S, Jespersen S., Gaardbo J.C., Arnbjerg C.J., Clausen M.R. et. al. Impaired Platelet Aggregation and Rebalanced Hemostasis in Patients with Chronic Hepatitis C Virus Infection. *Int. J. Mol. Sci*. 2017; 18(5). doi: 10.3390/ijms18051016.
23. Dolgov V.V., Svirin P.V. Laboratory diagnostics of hemostatic abnormalities [Laboratornaya diagnostika narusheniy gemostaza]. Moscow: Triada; 2005. (in Russian)
24. Tripodi A., Mannuccio Mannucci P. The coagulopathy of chronic liver disease. *The New England Journal of Medicine*. 2011; 365: 147-56.
25. Hollestelle M. J., Geertzen H.G., Straatsburg I.H., van Gulik T.M., van Mourik J.A. Factor VIII expression in liver disease. *Thromb Haemost*. 2004; 91: 267-75.
26. Younossi Z. M., Stepanova M., Afendy M. et al. Changes in the prevalence of the most common causes of chronic liver disease in the United States from 1988 to 2008. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. 2011; 9 (6): 524-30.
27. Pluta A., Gutkowski K., Hartleb M. Coagulopathy in liver diseases. *Advances in Medical Sciences*. 2010; 55 (1): 16-21.

Поступила 30.09.19

Принята к печати 01.10.19