DOI: 10.48612/cgma/dzaa-4m7g-x8ft

СЫВОРОТОЧНЫЕ МАРКЕРЫ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ TGF-β, PDGF, CTGF И VEGF ПРИ БОЛЕЗНИ ВИЛЬСОНА – КОНОВАЛОВА У ДЕТЕЙ

А.Д. Комарова[1*], О.В. Курбатова[1], Г.Б. Мовсисян[1], А.А. Жужула[1], М.А. Сновская[1], Г.Н. Хохлов[1], А.С. Потапов[1, 2], Е.Л. Семикина[1, 2], М.Г. Вершинина[1, 3], А.П. Фисенко[1]

[1] ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Москва

[2] ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), Москва

[3] ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ, Москва

SERUM MARKERS OF LIVER FIBROSIS TGF-β, PDGF, CTGF AND VEGF IN CHILDREN WITH THE WILSON-KONOVALOV DISEASE

A.D. Komarova[1*], O.V. Kurbatova[1], G.B. Movsisyan[1], A.A. Zhuzhula[1], M.A. Snovskaya[1], G.N. Khokhlov[1], A.S. Potapov[1, 2], E.L. Semikina[1, 2], M.G. Vershinina[1, 3], A.P. Fisenko[1]

[1] National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia

[2] I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia

[3] Central State Medical Academy of Department of Presidential Affairs, Moscow, Russia

[*] **E-mail:** komarova.alina.d@yandex.ru

Аннотация

Изучение неинвазивных маркеров фиброгенеза является актуальным направлением современной гепатологии. Профибротические цитокины активно исследуются при вирусных и метаболических заболеваниях печени, однако при болезни Вильсона – Коновалова (БВК) их роль в процессе фиброзирования остается неизученной. **Цель исследования –** оценить значение сывороточных маркеров фиброза TGF-β, PDGF, CTGF и VEGF в процессе склерозирования печени и для определения стадии фиброза у детей с БВК. **Материалы и методы.** Проведено обследование 80 детей 3–17 лет с БВК, установленной на основании Лейпцигской шкалы диагностики. Всем детям были проведены клинические лабораторные исследования, включающие общий и биохимический анализы крови, суточную экскрецию меди с мочой, а также определение концентрации лабораторных маркеров методом иммуноферментного анализа: трансформирующего фактора роста бета (TGF-β), тромбоцитарного фактора роста BB (PDGF-BB), фактора роста соединительной ткани (CTGF) и фактора роста эндотелия сосудов. Стадию фиброза печени определяли методом транзиентной эластометрии (FibroScan®). Статистическую обработку полученных данных проводили с применением U-критерия Манна – Уитни, критерия Краскела – Уоллиса, коэффициента ранговой корреляции Спирмена. **Результаты.** Концентрация биомаркеров TGF-β, PDGF-BB и CTGF значимо снижалась по мере прогрессирования фиброза ($p<0.001$), достигая минимума при циррозе (стадия F4). Наибольшие различия наблюдались между ранними (F0–F1) и поздними стадиями (F4). Выявлены корреляционные зависимости TGF-β с количеством тромбоцитов (PLT) в общем анализе крови ($r_{xy}=0.598$, $p<0.001$), с концентрациями показателей биохимического анализа крови: общего холестерина (ОХ) ($r=0.516$, $p<0.001$), триглицеридов (ТГ) ($r=0.352$, $p<0.001$), прямого билирубина ($r_{xy}=0.452$, $p<0.001$) и PDGF-BB с аланинаминотрансферазой (АЛТ) ($r=0.359$, $p<0.001$), гамма-глутамилтрансферазой (ГГТ) ($r=0.311$, $p=0.002$), ОХ ($r=0.431$, $p<0.001$), PLT ($r=0.478$, $p<0.001$), аспартатаминотрансферазой (АСТ) ($r=0.277$, $p=0.005$), ТГ ($r=0.268$, $p=0.007$), альбумином ($r=0.535$, $p<0.001$), прямым билирубином ($r=-0.205$, $p=0.045$).Установлены слабые корреляционные связи TGF-β и PDGF-BB с экскрецией меди ($r=0.278$, $p=0.006$ и $r=0.223$, $p=0.028$ соответственно). **Заключение.** Установлена динамика профибротических цитокинов (TGF-β, PDGF-BB, CTGF) при БВК, характеризующаяся повышением их концентраций на ранних стадиях фиброза и снижением при циррозе печени. Выявленные закономерности расширяют понимание патогенеза фиброзирования печени и указывают на перспективность использования данных лабораторных маркеров для неинвазивной диагностики фиброза при БВК у детей.

Ключевые слова: болезнь Вильсона – Коновалова, фиброз печени, TGF-β, PDGF-BB, CTGF, VEGF.

Abstract

Noninvasive markers of fibrogenesis is a relevant issue of modern hepatology. Profibrotic cytokines are actively studied in viral and metabolic liver diseases, but in the Wilson-Konovalov disease (WKD) their role in the fibrosis process remains unexplored. **Purpose.** To assess the significance of serum fibrosis markers TGF-β, PDGF, CTGF and VEGF of liver sclerosis for its diagnosing and for determining the stage of fibrosis in children with WKD. **Materials and methods.** 80 children, aged 3–17 years, having liver fibrosis diagnosed with the Leipzig diagnostic scale were enrolled in the study. All children had clinical laboratory testings, including general and biochemical blood tests, daily excretion of copper in the urine. Levels of laboratory markers were found with the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): transforming growth factor beta (TGF-β), platelet-derived growth factor BB (PDGF-BB), connective tissue growth factor (CTGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF). The fibrosis stage in the liver was determined using transient elastometry (FibroScan®). Statistical processing was done with Mann-Whitney U test, Kruskal-Wallis test, and Spearman rank correlation coefficient. **Results.** Concentration of TGF-β, PDGF-BB and CTGF biomarkers significantly decreased with fibrosis progression ($p<0.001$), reaching its minimum in cirrhosis (F4). The greatest difference was observed between early (F0–F1) and late stages (F4). Correlation dependence was revealed between

TGF-β and platelet count (PLT) in general blood test (rxy = 0.598, p < 0.001), with concentrations of biochemical blood test parameters: total cholesterol (TC) (r = 0.516, p < 0.001), triglycerides (TG) (r = 0.352, p < 0.001), direct bilirubin (rxy = 0.452, p < 0.001) and PDGF-BB with alanine aminotransferase (ALT) (r = 0.359, p < 0.001), gamma-glutamyl transferase (GGT) (r = 0.311, p = 0.002), TC (r = 0.431, p < 0.001), PLT (r = 0.478, p < 0.001), aspartate aminotransferase (AST) (r = 0.277, p = 0.005), TG (r = 0.268, p = 0.007), albumin (r = 0.535, p < 0.001), direct bilirubin (r = -0.205, p = 0.045). Weak correlation was noted between TGF-β and PDGF-BB and copper excretion (r = 0.278, p = 0.006 and r = 0.223, p = 0.028, respectively). **Conclusion.** Dynamics of profibrotic cytokines (TGF-β, PDGF-BB, CTGF) in the fibrotic liver disease has been established. It is characterized by the increase in their concentrations at early fibrosis stages and their decrease in liver cirrhosis. The identified patterns expand the understanding of liver fibrosis pathogenesis and indicate the potential of using these laboratory markers for non-invasive diagnostics of fibrosis in children with WKD.

Keywords: Wilson-Konovalov disease, liver fibrosis, TGF-β, PDGF-BB, CTGF, VEGF.

Ссылка для цитирования: Комарова А.Д., Курбатова О.В., Мовсисян Г.Б., Жужула А.А., Сновская М.А., Хохлов Г.Н., Потапов А.С., Семикина Е.Л., Вершинина М.Г., Фисенко А.П. Сывороточные маркеры фиброза печени TGF-β, PDGF, CTGF и VEGF при болезни Вильсона – Коновалова у детей. Кремлевская медицина. Клинический вестник. 2025; 3: 5–11.

Введение

Болезнь Вильсона – Коновалова (БВК) – наследственное аутосомно-рецессивное заболевание, обусловленное мутациями в гене *ATP7B*, кодирующем медь-транспортирующую АТФазу, обеспечивающую включение меди в церулоплазмин и ее экскрецию с желчью [1]. Нарушение функции белка приводит к дисрегуляции внутриклеточного гомеостаза меди, ее патологическому накоплению в гепатоцитах и последующему повреждению печени. На начальных этапах БВК изменения характеризуются стеатозом печени, обусловлены окислительным стрессом, митохондриальной дисфункцией и нарушением липидного метаболизма, приводящими к интрацеллюлярной аккумуляции липидов. При дальнейшем прогрессировании перегрузки медью развивается фиброз печени и, в конечном итоге, цирроз [2].

Определение стадии фиброза имеет ключевое значение для прогнозирования течения БВК, выбора терапевтической тактики, а также разработки антифибротической терапии. В настоящее время пункционная биопсия печени остается золотым стандартом диагностики БВК при недоступности генетического тестирования, позволяя оценить стадию фиброза, активность воспаления и сопутствующие изменения (стеатоз, накопление меди/железа), однако ее диагностическая ценность ограничена гетерогенным распределением поражений и малым объемом исследуемой паренхимы [1]. Несмотря на высокую информативность, метод не всегда отражает истинную картину поражения печени, что требует комплексной оценки с учетом клинических, лабораторных и инструментальных данных [3]. Поэтому в современной гепатологии большое внимание уделяется неинвазивной диагностике фиброза печени и маркерам его прогрессирования, включая серологические показатели и инструментальные методы. Эти подходы не только могут заменить биопсию, но и помочь в определении новых терапевтических мишеней [4, 5]. Наиболее изученным и внедренным в клиническую практику неинвазивным методом диагностики является транзиентная эластография (FibroScan®), обладающая высокой воспроизводимостью и точностью в диагностике выраженного фиброза и цирроза у пациентов с хроническими вирусными гепатитами, метаболически ассоциированной жировой болезнью печени (МАЖБП), холестатическими заболеваниями печени, аутоиммунным гепатитом и БВК [5–8]. Помимо инструментальных методов, перспективным направлением является изучение биомаркеров фиброза, которые можно разделить на прямые (отражающие процессы ремоделирования внутриклеточного матрикса: коллагены I, III, IV, VI типов, гиалуроновая кислота, цитокины) и непрямые (косвенно свидетельствующие о повреждении печени: аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспартатаминотрансфераза (АСТ), глутамилтрансфераза (ГГТ), билирубин, тромбоциты и др.) [4, 9, 10].

Ключевое значение в развитии фиброгенеза принадлежит звездчатым клеткам печени (ЗКП), которые, трансформируясь в миофибробласты, становятся основными эффекторами патологического процесса [11]. Регуляция активности этих клеток представляет собой потенциальную стратегию для лечения фиброза печени. В связи с этим особый научный интерес представляют факторы, индуцирующие активацию и пролиферацию ЗКП, среди которых ведущая роль отводится трансформирующему фактору роста бета (TGF-β) – основному провоспалительному и профибротическому цитокину; тромбоцитарному фактору роста BB (PDGF-BB) – стимулятору пролиферации миофибробластов; фактору роста соединительной ткани (CTGF) – медиатору продукции компонентов межклеточного матрикса; фактору роста эндотелия сосудов (VEGF) – фактору ангиогенеза, участвующему в ремоделировании печеночной ткани. Роль этих маркеров в прогрессировании фиброза изучена недостаточно, а имеющиеся данные весьма противоречивы. Например, при вирусных гепатитах и МАЖБП TGF-β1 рассматривается как потенциальный предиктор фиброза [12, 13], однако в других исследованиях его прогностическая ценность не подтверждена [14]. У пациентов с МАЖБП повышение уровня TGF-β1 может отражать степень стеатоза и воспаления [15], тогда как установить причины его снижения при выраженном фиброзе не удалось [16]. Уровень PDGF-BB в сыворотке крови также снижается по мере прогрессирования фиброза у больных хроническими гепатитами B и C (ХГВ, ХГС), достигая минимальных значений при циррозе, что может быть связано с тромбоцитопенией, развивающейся в рамках синдрома гиперспленизма [17]. CTGF и VEGF изучены в меньшей степени, однако с учетом их роли в процессе фиброзирования они также могут быть рассмотрены в качестве перспективных маркеров прогрессирования фиброза печени. Ограниченность и противоречивость научных данных, особенно при различных нозологических формах хронических заболеваний печени, свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения вовлеченности этих цитокинов в механизмы развития фиброза.

Цель исследования – оценить значение сывороточных маркеров фиброза TGF-β, PDGF, CTGF и VEGF в процессе склерозирования печени и для определения стадии фиброза у детей с болезнью Вильсона – Коновалова.

Критерии включения в исследование:

1) дети с установленным диагнозом БВК в возрасте от 3 до 17 лет и 11 месяцев;
2) подтвержденный диагноз БВК (4 и более баллов) согласно балльной системе диагностики БВК Leipzig (2001) и по результатам молекулярно-генетического исследования;

3) наличие полного клинико-лабораторного и инструментального обследования;
4) наличие добровольного информированного согласия родителей и пациентов в возрасте старше 14 лет.

Критерии невключения:
1) пациенты с сомнительным или маловероятным диагнозом (3 и менее баллов) согласно балльной системе диагностики БВК Leipzig (2001) или при отсутствии биаллельных вариантов по результатам молекулярно-генетического исследования;
2) неполное клинико-лабораторное и инструментальное обследование;
3) отсутствие добровольного информированного согласия родителей и пациентов в возрасте старше 14 лет.

Материалы и методы

В исследование было включено 80 детей (из них 59 (74%) мальчиков) в возрасте от 3 до 17 лет и 11 месяцев, медиана (Me) – 12.5 [10.4; 14.9] года, которые наблюдались на базе гастроэнтерологического отделения ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России с диагнозом БВК. Распределение пациентов по формам заболевания было следующим: абдоминальная форма – 73 (91.3%) пациента, смешанная форма – 7 (8.8%). Среди всех детей 9 (11.3%) пациентов обследовались до начала терапии, 71 (88.7%) пациент получал урсодезоксихолевую кислоту, Д-пеницилламин и цинка сульфат в различных комбинациях.

Всем детям были проведены лабораторные исследования, включающие биохимический анализ крови с определением концентраций АЛТ, АСТ, ГГТ, щелочной фосфатазы, билирубина и его фракций (прямой билирубин, непрямой билирубин), общего холестерина, триглицеридов, альбумина (ALB), церулоплазмина, общий анализ крови с определением количества тромбоцитов. Исследования проводили на анализаторах Mindray BS-800M и Mindray BC-6800Plus (Китай). Концентрацию меди в суточной моче определяли атомно-абсорбционным методом с помощью спектрометра AAnalyst 800 на базе ФГБНУ «НИИ медицины труда им. академика И.М. Измерова».

Для оценки стадии фиброза печени применяли транзиентную эластометрию (FibroScan®, Echosens, Франция), интерпретацию результатов проводили согласно шкале METAVIR. Распределение пациентов по стадиям фиброза представлено на рис. 1.

У всех детей в образцах венозной крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) были исследованы лабораторные маркеры фиброзирования с использованием: наборов RayBio® Human ELISA Kit (США) для определения трансформирующего фактора роста бета (TGF-β), тромбоцитарного фактора роста BB (PDGF-BB), фактора роста соединительной ткани (CTGF) и набора «VEGF-ИФА-БЕСТ» («Вектор-Бест», Россия) для определения фактора роста эндотелия сосудов (VEGF).

Промывку лунок микропланшета осуществляли с помощью микропланшетного промывочного устройства HydroFlexTM (Австрия). Считывание результатов иммуноферментного анализа производили с помощью микропланшетного фотометра TECAN SunriseTM (Австрия). Полученные данные обрабатывали с помощью программного обеспечения TECAN MagellanTM V6.5 (Австрия).

Статистический анализ проводили с использованием программы IBM SPSS Statistics, версия 26.0 (IBM Software, США). Нормальность распределения количественных показателей оценивали с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Количественные переменные представлены медианой (Me) и межквартильным интервалом. Категориальные данные представлены в виде абсолютных и процентных долей. Для сравнения количественных показателей в двух группах применялся U-критерий Манна – Уитни, для трех и более групп – критерий Краскела – Уоллиса. Анализ корреляционных связей между переменными проводили при помощи коэффициента ранговой корреляции Спирмена с определением тесноты связи по шкале Чеддока. Принятый уровень статистической значимости составил $p < 0.05$.

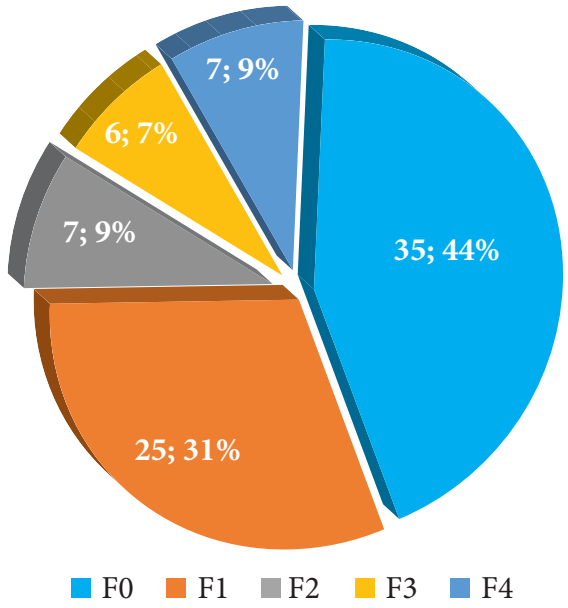

Рис. 1. Распределение пациентов с БВК по стадиям фиброза печени

Проведение исследования было одобрено независимым локальным этическим комитетом ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России (протокол № 3 от 30.03.2023).

Результаты

Анализ концентраций непрямых лабораторных маркеров фиброзирования при различных стадиях фиброза выявил более высокие значения АСТ ($p = 0.017$), фракций билирубина ($p < 0.001$), ГГТ ($p = 0.002$) и низкие – ALB, тромбоцитов и холестерина ($p < 0.001$) при циррозе печени, в то время как различий для АЛТ, щелочной фосфатазы и триглицеридов выявлено не было (табл. 1).

Уровень TGF-β был значимо ниже при F4 в сравнении с F0 – 16608 [10608; 22972] пг/мл и 50620 [43230; 59252] пг/мл соответственно ($p < 0.001$). Наибольшие различия наблюдались между группами F0–F4 ($p < 0.001$) и F1–F4 ($p < 0.001$). Аналогичные различия выявлены для PDGF-BB: 14736 пг/мл [12800.8; 15712] при F0 до 10839 пг/мл [4497.8; 17368.8] при F4 ($p = 0.033$), с значимыми различиями между F1 и F4 ($p = 0.047$). Концентрация CTGF также была более низкой при циррозе печени в сравнении с отсутствием фибротических изменений – 11 [3.8; 47.7] нг/мл и 73 [41.9; 153] нг/мл соответственно ($p = 0.001$), с наибольшими различиями между F0–F4 ($p = 0.008$) и F0–F3 ($p = 0.033$). Однако CTGF находился в пределах референсных значений при всех стадиях фиброза, в отличие от TGF-β и PDGF-BB, концентрации которых были выше референсных значений на ранних стадиях фиброза. Достоверных различий между концентрациями VEGF при различных стадиях фиброза не было выявлено ($p = 0.212$) (см. табл. 1).

Проведенный корреляционный анализ выявил комплекс взаимосвязей между уровнем TGF-β и другими исследуемыми параметрами. Наибольшая сила корреляционной связи наблю-

Таблица 1

Уровень сывороточных маркеров фиброзирования, церулоплазмина и суточной экскреции меди в моче у пациентов с БВК при разных стадиях фиброза печени

Параметр	Референсные значения	Степени фиброза печени					p
		F0 Me [IQR]	F1 Me [IQR]	F2 Me [IQR]	F3 Me [IQR]	F4 Me [IQR]	
АЛТ (Ед/л)	(0–40)	38 [17; 84]	34.5 [21.7; 71.2]	68 [32.5; 229]	43.6 [17; 203]	105 [51; 162]	p = 0.117
АСТ (Ед/л)	(0–40)	31.9 [23.3; 57.7]	27.3 [22; 54.8]	56 [31.4; 101]	31.8 [20.4; 90]	93.2 [63.4; 104]	p = 0.017* p1–4 = 0.002
ГГТ (Ед/л)	(5–35)	23 [17.7; 37]	27 [17.6; 39.9]	26 [17; 59]	33.5 [19.2; 65.0]	89.9 [61; 12.6]	p = 0.002* p0–4 = 0.001 p1–4 = 0.003
ЩФ (Ед/л)	(60–400)	317 [240; 414]	282 [135; 411]	192 [94; 345]	188 [136; 243]	314 [168; 428]	p=0.08
Альбумин (г\л)	(38–54)	45 [42; 47]	45 [43; 48]	41 [41; 48]	43 [40; 44]	33 [29; 45]	p < 0.001* p0–4 = 0.001 p1–4 < 0.001
НБ (мкмоль/л)	(0–13)	2.3 [1.5; 3.2]	2.8 [2.2; 4.4]	3.7 [2.7; 5.2]	3.0 [2.5; 3.8]	23.4 [8.4; 37.7]	p < 0.001* p0–4 < 0.001 p2–4 = 0.016
ПБ (мкмоль/л)	(0–5.1)	8.3 [6.3; 11.4]	10.1 [7.4; 15.3]	9.3 [6.8; 9.9]	11.4 [7.3; 13]	26 [14.4; 33.7]	p = 0.001* p0–2 = 0.023 p0–4 < 0.001 p1–4 < 0.001 p3–4 = 0.002
Холестерин (мкмоль/л)	(3.3–6.5)	4.8 [4.3; 5.4]	4.6 [4.1; 5.0]	4.5 [4.0; 4.9]	4.0 [3.6; 4.6]	3.2 [2.3; 3.5]	p < 0.001* p1–4 = 0.007 p2–4 = 0.015 p0–4 < 0.001
Триглицериды (мкмоль/л)	(0.34–1.6)	1.1 [0.7; 1.5]	1.1 [0.8; 1.5]	1.5 [1; 1.8]	1.5 [0.9; 1.6]	0.5 [0.4; 0.8]	p = 0.061
Церулоплазмин (мг/дл)	(20–54)	9 [1.5; 15]	6 [2; 9.7]	8 [6; 12]	9.6 [2.1; 11]	8.2 [6.2; 12]	p = 0.726
Тромбоциты (10^9/л)	(150–450)	358 [294; 412]	316 [246; 377]	280 [215; 298]	252 [119; 395]	64 [48; 157]	p < 0.001* p1–4 = 0.012 p0–4 < 0.001
Медь в моче (мкг/24часа)	(0–50)	252 [80.6; 737]	481 [201; 764]	594 [91; 1807]	477[179; 1065]	734 [215; 875]	p = 0.165
TGF-β (пг/мл)	(18–4000)	50620 [43230; 59252]	53470 [42371; 53470]	46908 [40586; 58646]	39160 [28760; 57162]	16608 [10608; 22972]	p < 0.001* p0–4 < 0.001 p1–4 < 0.001 p2–4 = 0.026
PDGF-BB (пг/мл)	(1–400)	14736 [12800.8; 15712]	15017 [13045.6; 17705.2]	13220 [12314.4; 15729.6]	12992 [10354.4; 15344.8]	10839 [4497.8; 17368.8]	p = 0.033* p1–4 = 0.047
CTGF (нг/мл)	(1.52–200)	73 [41.9; 153]	59.9 [24.6; 94.9]	29.3 [23.9; 60.9]	25.9 [11; 43.3]	11 [3.8; 47.7]	p = 0.001* p0–4 = 0.008 p0–3 = 0.033
VEGF (пг/мл)	(31.25–2000)	141.7 [79.3; 262.7]	133.9 [56.7; 311.6]	189.7 [45.6; 261.3]	193.9 [36.3; 276.5]	73.6 [6.5; 147.7]	p = 0.212

*Примечание. Me – медиана; IQR – межквартильный интервал; p – различия параметров в зависимости от стадии фиброза; * статистически значимые различия; в таблице представлены только достоверные различия между группами.*

далась между TGF-β и PDGF-BB (r = 0.530, p < 0.001) (рис. 2А). Слабая, но статистически значимая прямая корреляция установлена между TGF-β и VEGF (r = 0.299, p = 0.02) (рис. 2Б), в то время как с CTGF значимой взаимосвязи не выявлено.

Выявлены сильные прямые корреляционные зависимости TGF-β с количеством тромбоцитов (r_{xy} = 0.598, p < 0.001) (рис. 3 А), с концентрацией общего холестерина (r = 0.516, p < 0.001) (рис. 3 Б), умеренной силы прямая корреляция – с концентрацией триглицеридов (r = 0.352, p < 0.001) (рис. 3 В), отрицательная корреляция умеренной силы – с концентрацией прямого билирубина (r_{xy} = 0.452, p < 0.001) (рис. 3 Г), а также слабой силы прямая корреляционная зависимость – с концентрацией ALB (r_{xy} = 0.245, p = 0.014).

Для PDGF-BB установлены умеренные прямые корреляции с VEGF (r = 0.393, p < 0.001), АЛТ (r = 0.359, p < 0.001), ГГТ (r = 0.311, p = 0.002), холестерином (r = 0.431, p < 0.001) и тромбоцитами (r = 0.478, p < 0.001), а также слабые прямые корреляции с АСТ (r = 0.277, p = 0.005) и триглицеридами (r = 0.268, p = 0.007). Наиболее сильная прямая корреляция выявлена между PDGF-BB и ALB (r = 0.535, p < 0.001), тогда как с прямым билирубином выявлена слабая обратная связь (r = -0.205, p = 0.045).

Концентрация CTGF слабо коррелировала с ALB (r = 0.203, p = 0.043) и щелочной фосфатазой (r = 0.216, p = 0.031). Обратные слабой силы корреляции выявлены между CTGF и прямым билирубином (r = -0.218, p = 0.029) и умеренной силы (r = -0.353, p < 0.001) с непрямым билирубином.

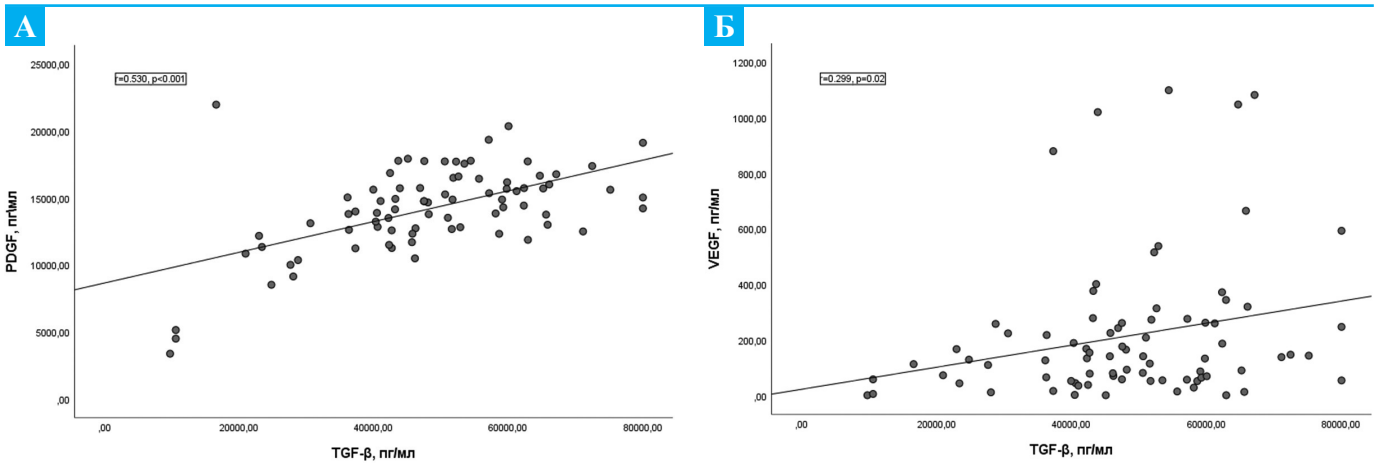

Рис. 2. График корреляционного анализа взаимосвязи TGF-β с PDGF-BB (А) и с VEGF (Б)

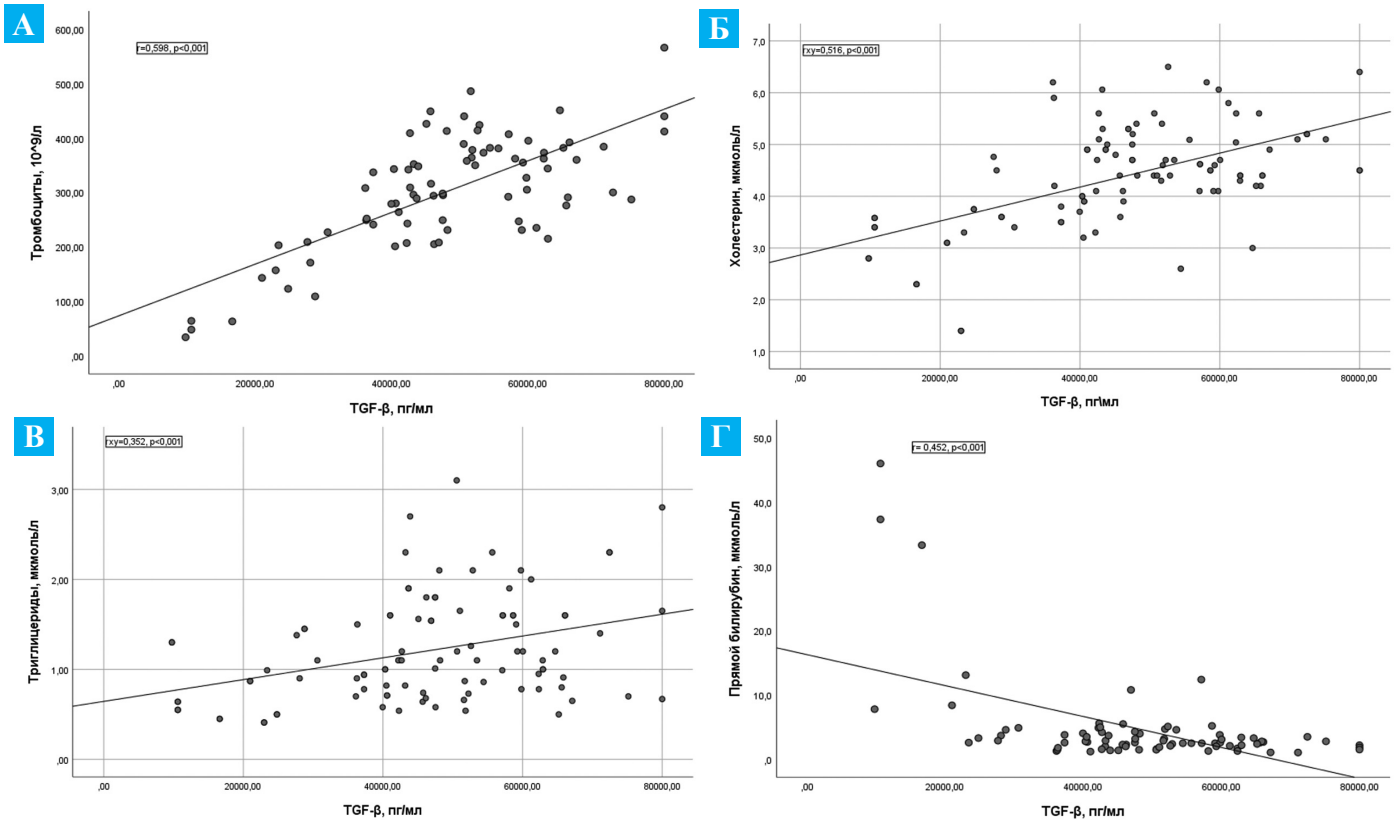

Рис. 3. График корреляционного анализа взаимосвязи TGF-β с тромбоцитами (А), с холестерином (Б), с триглицеридами (В), с прямым билирубином (Г)

Выявлена слабая прямая корреляционная связь VEGF с церулоплазмином (r = 0.255, p = 0.010), однако с непрямыми маркерами фиброза достоверных взаимосвязей не определено. Связи между TGF-β, PDGF-BB, CTGF и концентрацией церулоплазмина не было обнаружено, установлены слабые прямые корреляции TGF-β (r = 0.278, p = 0.006), PDGF-BB (r = 0.223, p = 0.028) и VEGF (r = 0.265, p = 0.009) с концентрацией меди в суточной моче.

Обсуждение

Болезнь Вильсона – Коновалова – это генетически детерминированное заболевание, которое в педиатрической практике протекает преимущественно с хроническим гепатитом, варьирующим от бессимптомного повышения трансаминаз до печеночной недостаточности [2]. Степень выраженности фиброза печени является ключевым фактором, определяющим тяжесть функциональных нарушений и прогноза заболевания. Терминальный фиброз (цирроз) характеризуется необратимыми структурными изменениями и легко диагностируется по отклонениям стандартных биохимических маркеров (АЛТ, АСТ, ГГТ, тромбоциты, ALB, билирубин, протромбиновый индекс). Однако дифференциация ранних и промежуточных стадий фиброза (F1–F3) с помощью этих показателей остается сложной задачей, что подтверждается данными нашего исследования. Примечательно, что уровни TGF-β, PDGF-BB и CTGF оказались ниже при циррозе (F4), тогда как на ранних стадиях фиброза (F1–F2) концентрации TGF-β и PDGF-BB превышали референсные

значения, что позволяет рассматривать эти факторы роста в качестве потенциальных маркеров прогрессирования фиброза [10]. Подобная динамика закономерна с точки зрения патогенеза: TGF-β является ключевым медиатором активации ЗКП и запускает процессы синтеза внеклеточного матрикса. PDGF-BB усиливает пролиферацию активированных ЗКП и стимулирует их миграцию в зоны повреждения [11]. CTGF, в свою очередь, потенцирует эффекты TGF-β и способствует накоплению коллагена [11, 17]. На терминальной стадии заболевания наблюдаются значительное истощение клеточных источников цитокинов (ЗКП, макрофаги, гепатоциты) и выраженные морфологические изменения печени, что может объяснить резкое снижение уровней этих маркеров при F4. Полученные нами данные согласуются с исследованиями при хронических вирусных гепатитах (ХГВ, ХГС), где уровни TGF-β1 коррелировали со стадией фиброза [16, 17, 19], и при гликогенозах, где максимальные концентрации данного маркера регистрировались на стадии F2 с последующим снижением при F3–F4 [20]. Аналогичная тенденция отмечалась в работе N.A. Palekar и соавт. при метаболически ассоциированной жировой болезни печени (МАЖБП), где TGF-β1 был выше на начальных стадиях фиброза, чем при циррозе [12]. Это может свидетельствовать об универсальности роли TGF-β в инициации фиброгенеза независимо от этиологии поражения печени.

По некоторым научным данным, уровень PDGF-BB (фактор роста, стимулирующийся TGF-β [17] и способствующий активации звездчатых клеток печени и отложению коллагена) также отличается при фиброзе печени различной этиологии [21, 22]. В нашем исследовании показатель PDGF-BB, аналогично данным исследований J. Zhou и соавт. и B.-B. Zhang и соавт. при ХГВ и ХГС, коррелировал со стадией фиброза: низкие значения определялись на стадии цирроза [23, 24]. Это может быть обусловлено не только истощением продуцирующих клеток, но и тромбоцитопенией, характерной для поздних стадий хронических заболеваний печени. Важным наблюдением стало наличие тесных корреляционных связей между TGF-β, PDGF-BB и показателями функциональной активности печени (ALB, количеством тромбоцитов и концентрацией прямого билирубина), что подчеркивает тесную взаимосвязь цитокинового профиля и выраженности функциональной недостаточности печени и портальной гипертензии. Полученные в ходе исследования достоверные положительные корреляции между уровнями TGF-β и PDGF-BB и показателями липидного обмена (общим холестерином и триглицеридами), по-видимому, отражают снижение белково-синтетической функции печени. Данное предположение согласуется с результатами исследования S.Q. Arain и соавт., где было выявлено значимое уменьшение концентраций холестерина и триглицеридов у пациентов с циррозом печени вирусной этиологии по сравнению с показателями контрольной группы [25]. Примечательно, что в отличие от других хронических заболеваний печени, мы не обнаружили значимой корреляции TGF-β с активностью аминотрансфераз или маркерами холестаза, что согласуется с результатами Nelson D. и соавт. и может свидетельствовать об особенностях патогенеза фиброза при БВК, где ключевую роль играют не воспалительные или холестатические механизмы, а прямое цитотоксическое действие меди [18]. Избыточное накопление тканевой меди индуцирует образование свободных радикалов с истощением антиоксидантных систем, способствует окислению липидов, ферментов и структурных белков. Снижение активности митохондриальных ферментов и повреждение клеточных органелл приводит к перекисному окислению липидов, накоплению триглицеридов, некрозу и апоптозу гепатоцитов, а также активации клеток Купфера – основных источников профибротических факторов (TGF-β, PDGF-BB, VEGF), запускающих процесс фиброзирования [26]. Установленные нами слабые, но статистически значимые корреляции между концентрациями TGF-β, PDGF-BB и VEGF с уровнем экскреции меди с мочой могут отражать адаптационно-компенсаторный ответ на токсическое действие меди и предшествовать развитию выраженных структурных изменений печени [27], что подчеркивает перспективность их изучения в качестве потенциальных маркеров доклинического фиброгенеза при БВК. Нами не было обнаружено достоверных корреляционных связей концентраций цитокинов с уровнем церулоплазмина. С нашей точки зрения, это может быть обусловлено как постоянно низким уровнем церулоплазмина у большинства пациентов с БВК, так и тем, что тканевое накопление меди играет более значимую роль в патогенезе фиброза, чем циркулирующий транспорт.

CTGF и VEGF, как маркеры фиброза печени, изучены в значительно меньшей степени по сравнению с TGF-β и PDGF-BB. В нашем исследовании CTGF, являющийся важным медиатором фиброгенеза и активируемый под действием TGF-β, также имел более низкие концентрации на поздних стадиях фиброза. Эти данные частично совпадают с результатами исследования N. El-Bassiouni и соавт., обнаружившими значительное увеличение экспрессии как CTGF, так и TGF-β1 в печеночной ткани, коррелирующее со стадией фиброза [28]. Подобные расхождения могут быть обусловлены несколькими факторами: различиями в исследуемых биологических материалах, особенностями патогенеза БВК по сравнению с другими хроническими заболеваниями печени, а также возможным влиянием антифибротической терапии на цитокиновый профиль.

Заключение

Проведенное исследование выявило динамику профибротических цитокинов (TGF-β, PDGF-BB, CTGF) при БВК с повышением их концентраций на ранних стадиях фиброза и последующим снижением при циррозе, что отражает истощение синтетической функции печени. Установленные закономерности согласуются с данными при других хронических заболеваниях печени, подтверждая универсальность механизмов фиброгенеза. Выявленная корреляция уровней факторов роста с суточной экскрецией меди с мочой свидетельствует об их участии в патогенетическом каскаде, индуцированном токсическим действием меди. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения профибротических цитокинов в качестве потенциальных неинвазивных биомаркеров для диагностики и мониторинга прогрессирования фиброза печени, а также при разработке антисклеротической терапии.

Литература

1. Волынец Г.В. и др. Болезнь Вильсона у детей: проблемы и перспективы // Доказательная гастроэнтерология. – 2024. – Т. 13. – № 3. – С. 80–96. [Volynets G.V. et al. Wilson's Disease in children: challenges and prospects // Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology. – 2024. – V. 13. – No 3. – P. 80–96. In Russian]. DOI: 10.17116/dokgastro20241303180.
2. Boga S. et al. Hepatic features of Wilson disease // Handb Clin Neurol. – 2017. – V. 142. – P. 91–99. DOI: 10.1016/b978-0-444-63625-6.00009-4.

3. Nehring P. et al. Elastography of the Liver in Wilson's Disease // Diagnostics (Basel). – 2023. – V. 13. – No 11. – P. 1898. DOI: 10.3390/diagnostics13111898.
4. Винницкая Е.В. и др. Диагностическая значимость сывороточных маркеров фиброза при хронических заболеваниях печени // Терапевтический архив. – 2013. – Т. 85. – № 2. – С. 27–31. [Vinnitskaia E.V. et al. Diagnostic value of serum markers of fibrosis in chronic liver diseases // Therapeutic Archive. – 2013. – V. 85. – No. 2 – P. 27–31. In Russian].
5. Stefanescu A.C. et al. Transient Elastography of the Liver in Children with Wilson's Disease Preliminary Results // J. Clin. Ultrasound. – 2016. – V. 44. – No 2. – P. 65–71. DOI: 10.1002/jcu.22281.
6. Castera L. et al. Prospective comparison of transient elastography, Fibrotest, APRI, and liver biopsy for the assessment of fibrosis in chronic hepatitis C // Gastroenterology. – 2005. – V. 128. – No 2. – P. 343–350. DOI: 10.1053/j.gastro.2004.11.018.
7. Corpechot C. et al. Assessment of biliary fibrosis by transient elastography in patients with PBC and PSC // Hepatology. – 2006. – V. 43. – No 5. – P. 1118–1124. DOI: 10.1002/hep.21151.
8. Gomez-Dominguez E. et al. Transient elastography: a valid alternative to biopsy in patients with chronic liver disease // Aliment. Pharmacol. Ther. – 2006. – V. 24. – No 3. – P. 518–518. DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.02999.x.
9. Sini M. et al. Non-invasive assessment of hepatic fibrosis in a series of patients with Wilson's Disease // Dig. Liver. Dis. – 2012. – V. 44. – No 6. – P. 487–491. DOI: 10.1016/j.dld.2011.12.010.
10. Мехтиев С.Н. и др. Современные представления о фиброзе печени и методах его коррекции // Фарматека. – 2014. –№ 6. – С. 80–87. [Mekhtiev S.N. et al. Modern concepts of liver fibrosis and methods of its correction // Pharmateka. – 2014. – No 6. – P. 80–87. In Russian].
11. Лебедева Е.И. и др. Клеточно-молекулярные механизмы фиброгенеза печени // Гепатология и гастроэнтерология. – 2019. – Т. 3. – № 2. – С. 119–126. [Lebedeva E.I. et al. Cellular and molecular mechanisms of liver fibrogenesis // Hepatology and gastroenterology. – 2019. – V. 3. – No 2. – P. 119–126. In Russian]. DOI: 10.25298/2616-5546-2019-3-2-119-126.
12. Palekar N.A. et al. Clinical model for distinguishing nonalcoholic steatohepatitis from simple steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease // Liver Int. – 2006. – V. 26. – No 2. – P. 151–156. DOI: 10.1111/j.1478-3231.2005.01209.x.
13. Zoheiry M.M. et al. Serum markers of epithelial mesenchymal transition as predictors of HCV-induced liver fibrosis, cirrhosis and hepatocellular carcinoma // Electron Physician. – 2015. – V. 7. – No 8. – P. 1626–1637. DOI: 10.19082/1626.
14. Ucar F. et al. APRI, the FIB-4 score, and Forn's index have noninvasive diagnostic value for liver fibrosis in patients with chronic hepatitis B // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. – 2013. – V. 25. – No 9. – P. 1076–1081. DOI: 10.1097/MEG.0b013e32835fd699.
15. Tarantino G. et al. Enhanced serum concentrations of transforming growth factor-beta1 in simple fatty liver: is it really benign? // J. Transl. Med. – 2008. – V. 6. – P. 1–8. DOI: 10.1186/1479-5876-6-72.
16. Neuman M. et al. Kinetics of serum cytokines reflect changes in the severity of chronic hepatitis C presenting minimal fibrosis // J. Viral. Hepat. – 2002. – V. 9. – P. 134–140. DOI:10.1046/j.1365-2893.2002.00343.x.
17. Haghgoo S.M. et al. Serum cytokines, adipokines and ferritin for non-invasive assessment of liver fibrosis in chronic liver disease: a systematic review // Clin. Chem. Lab. Med. – 2019. – V. 57. – No 5. – P. 577–610. DOI: 10.1515/cclm-2018-0357.
18. Nelson D. et al. Transforming growth factor-ß1 in chronic hepatitis C // J. Viral. Hepat. – 1997. – V. 4. – No 1. – P. 29–35. DOI: 10.1046/j.1365-2893.1997.00124.x.
19. Kirmaz C. et al. Serum tumor growth factor-β1 levels in patients with cirrhosis, chronic hepatitis B and chronic hepatitis C // Eur. Cytokine Netw. – 2004. – V. 15 – P. 112–116.
20. Курбатова О.В и др. Цитокиновый профиль у детей с печеночными формами гликогеновой болезни // Российский иммунологический журнал. – 2016. – Т. 10. – № 2. – С. 131–133. [Kurbatova O.V. et al. Cytokine profile in children with hepatic forms of glycogen storage disease // Russian Journal of Immunology. – 2016. – V. 10 – No 2. – P.131–133. In Russian].
21. Ikura Y. et al. Expression of platelet-derived growth factor and its receptor in livers of patients with chronic liver disease // J. Gastroenterol. – 1997. – V. 32. – No 4. – P. 496–501. DOI: 10.1007/BF02934089.
22. Yoshida S. et al. Extrahepatic platelet-derived growth factor-β, delivered by platelets, promotes activation of hepatic stellate cells and biliary fibrosis in mice // Gastroenterology. – 2014. – V. 147. – No 6. – P. 1378–1392. DOI: 10.1053/j.gastro.2014.08.038.
23. Zhang B.-B. et al. Diagnostic value of platelet derived growth factor-BB, transforming growth factor-β1, matrix metalloproteinase-1, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in serum and peripheral blood mononuclear cells for hepatic fibrosis // World J. Gastroenterol. – 2003. – V. 9. – No 11.– P. 2490–2496. DOI: 10.3748/wjg.v9.i11.2490.
24. Zhou J. et al. Serum platelet-derived growth factor BB levels: a potential biomarker for the assessment of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis // B. Int. J. Infect. Dis. – 2016. – V. 49. – P. 94–99. DOI: 10.1016/j.ijid.2016.06.004.
25. Arain S.Q. et al. Serum lipid profile as a marker of liver impairment in hepatitis B Cirrhosis patients // Lipids Health Dis. – 2017. – V. 16. – No 1. – P. 51–61. DOI:10.1186/s12944-017-0437-2.
26. Курбатова О.В. и др. Возрастные особенности субпопуляционного состава и метаболизма лимфоцитов у детей с болезнью Вильсона-Коновалова // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2023. – Т. 2. – С. 5–11. [Kurbatova O. V. et al. S. Age features of subpopulation composition and metabolism of lymphocytes in children with Wilson-Konovalov disease // Kremlin Medicine. Clinical Bulletin. – 2023. – V. 2. – P. 5–11. In Russian]. DOI: 10.48612/cgma/a5rx-evxd-xkk9.
27. Gerosa C. et al. Liver pathology in Wilson's disease: from copper overload to cirrhosis // J. Inorg. Biochem. – 2019. – V. 193. – P. 106–111. DOI: 10.1016/j.jinorgbio.2019.01.008.
28. El-Bassiouni N. et al. Role of fibrogenic markers in chronic hepatitis C and associated hepatocellular carcinoma // Mol. Biol. Rep. – 2012. – V. 39. – No 6. – P. 6843–6850. DOI: 10.1007/s11033-012-1509-z.