

## ДИСФУНКЦИЯ ЭНДОТЕЛИЯ И НАРУШЕНИЕ ТРОМБОЦИТАРНОГО ЗВЕНА ГЕМОСТАЗА ПРИ РАЗВИТИИ ФИБРОЗА ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ С АУТОИММУННЫМ ГЕПАТИТОМ

© Е.Ю. Коновалова, А.Е. Лаврова, М.В. Преснякова

ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России,  
Нижний Новгород, Россия

**Цель.** Оценить клиническое значение состояния эндотелия и агрегации тромбоцитов при развитии фиброза печени у детей с аутоиммунным гепатитом. **Материалы и методы.** Обследовано 35 пациентов (19 девочек, 16 мальчиков) от 3 до 17 лет. 1-ая группа (n=17) – дети со степенью фиброза F 0-2 по Metavir; 2-ая группа (n=18) – F 3-4 (по данным непрямой эластометрии). У детей 2-ой группы был диагностирован цирроз печени. Контрольная группа (n=15) – дети I или II групп здоровья. В качестве маркеров эндотелиальной дисфункции использовали эндотелин-1 и VWF. Концентрацию эндотелина-1 в сыворотке крови определяли методом иммуноферментного анализа (тест-система «Endothelin 1-21»), VWF – на анализаторе гемокоагуляции ACL-TOP 500 (Instrumentation Laboratory Company, USA) с использованием набора фактора Виллебранда. Количество тромбоцитов определяли с помощью гематологического анализатора Cell-Dyn 610 (Abbott Diagnostics, США), агрегационную активность тромбоцитов – на анализаторе агрегации тромбоцитов с использованием в качестве индуктора агрегации аденозинфосфат (1,25 мг/мл) и коллаген (2,0 мк/мл). **Результаты.** В анализируемой выборке детей с аутоиммунным гепатитом признаки формирования фиброза различной степени выявлены у ¾ обследованных. Пациенты 2-ой группы по сравнению с 1-ой имеют более агрессивное течение: в дебюте заболевания чаще выражены жалобы астеноневротического характера (p=0,021), проявления синдрома желтухи (p=0,014), чаще диагностируется печеночно-клеточная недостаточность (p=0,045) и осложнения заболевания: гиперспленизм (p=0,014), варикозное расширение вен пищевода (p=0,003). У всех детей с аутоиммунным гепатитом зарегистрированы признаки дисфункции эндотелия и повышения агрегационной активности тромбоцитов. Со степенью фиброза коррелируют концентрация эндотелина-1 (r=0,4; p=0,004), активность фактора Виллебранда (r=0,5; p<0,001), количество тромбоцитов (r=-0,5; p=0,003). **Выводы.** У детей с аутоиммунным гепатитом выявлены нарушения эндотелиального и тромбоцитарного звеньев системы гемостаза, коррелирующие с тяжестью патологического процесса. Определение концентрации эндотелина-1, активности фактора Виллебранда и количество тромбоцитов может быть использовано для оценки тяжести поражения печени при аутоиммунном гепатите у детей.

**Ключевые слова:** дети, фиброз, цирроз, эндотелий, тромбоциты, гемостаз.



## ENDOTHELIAL DYSFUNCTION AND PLATELET FUNCTION DISORDER IN HEMOSTASIS IN DEVELOPMENT OF HEPATIC FIBROSIS IN CHILDREN WITH AUTOIMMUNE HEPATITIS

*E.Y. Konovalova, A.E. Lavrova, M.V. Presnyakova*

Research Medical University of Volga Region, Nizhny Novgorod, Russia

**Aim.** To assess the clinical significance of the endothelial condition and platelet aggregation in the development of hepatic fibrosis in children with autoimmune hepatitis. **Materials and Methods.** 35 patients aged from 3 to 17 years were studied, including 19 girls (54%) and 16 boys (46%). The 1<sup>st</sup> group consisted of 17 children with F 0-2 degree of fibrosis acc. to the Metavir score; the 2<sup>nd</sup> group consisted of 18 children with F 3-4 degree of fibrosis acc. to the Metavir score (based on the indirect elastometry data). In children of the 2<sup>nd</sup> group hepatic cirrhosis was diagnosed. The control group consisted of 15 children of I or II health group. Concentration of endothelin-1 in blood serum was determined by ELISA method (Endothelin-1 test-systm), and of VWF – on hemocoagulation analyzer ACL-TOP 500 (Instrumentation Laboratory Company, USA) using Willebrand factor kit. Quantity of platelets was determined using hematological analyzer Cell-Dyn 610 (Abbott Diagnostics, USA), aggregation capacity of platelets was assessed on platelet aggregation analyzer with use of adenosine phosphate (1.25 mg/mL) and collagen (2.0 mg/mL) as platelet aggregation inducers. **Results.** In the analyzed sample of children with autoimmune hepatitis ¾ had signs of the various-degree fibrosis formation. Patients of the 2<sup>nd</sup> group had a more aggressive course as compared to the 1<sup>st</sup> group: more asthenoneurotic complaints at the onset of disease ( $p=0.021$ ), manifestations of the jaundice syndrome ( $p=0.014$ ), more cases of hepatocellular insufficiency ( $p=0.045$ ), complications of the disease: hypersplenism ( $p=0.014$ ), varicose veins of the esophagus ( $p=0.003$ ). All children with autoimmune hepatitis had signs of endothelial dysfunction and of enhanced platelet aggregation activity. The degree of fibrosis correlated with the concentration of endothelin-1 ( $r=0.4$ ,  $p=0.004$ ) and with activity of von Willebrand factor (VWF) ( $r=0.5$ ,  $p<0.001$ ) and with platelet count ( $r=-0.5$ ,  $p=0.003$ ). **Conclusions.** In children with autoimmune hepatitis the endothelial dysfunction and platelet disorders in the hemostasis system were revealed that correlated with the severity of the pathological process. Determination of endothelin-1 concentration, activity of von Willebrand factor and platelet count may be used to assess severity of liver pathology in children with autoimmune hepatitis.

**Keywords:** children, fibrosis, cirrhosis, endothelium, platelets, hemostasis.

Проблема аутоиммунного гепатита (АИГ) является актуальной и социально-значимой в педиатрии. Его частота в популяции европейских стран составляет 0,1-0,9 случаев на 100 000 населения в год, распространённость – 2,2-17 больных на 100 000 жителей. В структуре хронических заболеваний гепатобилиарной системы на долю АИГ приходится 10-20%. При этом, в течение последних двух десятилетий наблюдается заметное увеличение числа аутоиммунных заболеваний печени, в т.ч. у детей [1].

АИГ характеризуется агрессивным течением, особенно в детском возрасте. При отсутствии терапии патологический процесс достаточно быстро трансформируется в цирроз печени, который на момент постановки диагноза регистрируется у 36-78% детей [2]. При 5-10-кратном повышении активности трансаминаз и 2-кратном повышении уровня  $\gamma$ -глобулинов смертность у взрослых в течение 10 лет может составлять до 90% [3].

Поражение ткани печени влияет на процессы коагуляции, поскольку данный

орган играет центральную роль в системе гемостаза, являясь местом синтеза множества факторов свертывания и их ингибиторов, компонентов системы фибринолиза и стимуляторов тромбоцитопоэза. В связи с этим, нарушения данной системы при патологии печени носят комплексный и разнонаправленный характер, часто непредсказуемы и касаются всех звеньев гемостаза, в т.ч. тромбоцитарного [4]. Большая роль в поддержании баланса системы гемостаза принадлежит функциональному состоянию эндотелия. По данным И.А. Куркиной с соавт. (2014), при хронических заболеваниях печени локальная дисфункция эндотелия может вызвать развитие гиперкоагуляции топически, несмотря на лабораторные признаки системной гипокоагуляции [5]. Получены данные гистологических исследований, доказывающие, что нарушение кровообращения в органе приводит к вторичной печеночной деструкции, усилению фиброзированию и прогрессированию патологического процесса [6].

Эндотелий – активный эндокринный орган, представляющий собой однослойный пласт специализированных клеток, выстилающих изнутри все сердечнососудистое «дерево». Он выполняет барьерную, секреторную, гемостатическую, вазотоническую функции, играет важную роль в процессах воспаления и ремоделирования сосудистой стенки [7]. Прежде всего, нормальный эндотелий действует как мощная антикоагулянтная поверхность, которая не активирует белки свертывания крови и не привлекает к себе клеточные компоненты крови. Но после стимуляции или травмы эндотелий трансформируется в мощную прокоагулянтную поверхность. Это происходит за счет синтеза или выделения многих прокоагулянтных веществ, включая фактор Виллебранда (VWF) и эндотелин-1 [8].

Обнажение субэндотелиальных структур в результате повреждение эндотелиальных клеток приводит к изменению морфологии тромбоцитов и увеличению их адгезивной и агрегационной способно-

сти [9]. Тромбоциты выполняют различные функции: 1) запуск немедленного гемостаза за счет адгезии и агрегации, что приводит к формированию тромбоцитарной пробки, 2) местное выделение вазоконстрикторов для уменьшения кровотока в пораженном участке, 3) катализ реакций гуморальной системы свертывания с образованием, в конечном счете, фибринового сгустка, 4) иницирование репарации тканей, 5) регулирование местной воспалительной реакции и иммунитета [8,10]. Таким образом, активация агрегации тромбоцитов с одной стороны поддерживает воспаление, а с другой – влияет на процессы тромбообразования в сосудистом русле, нарушая тем самым трофику органа и его функцию [11].

Исследования по изучению дисфункции эндотелия и агрегации тромбоцитов при патологии печени в большинстве своем посвящены взрослым пациентам с хроническими вирусным гепатитом и циррозом в их исходе. Научный и клинический интерес обусловлен отсутствием научных публикаций по данной теме у детей при АИГ и циррозе печени в исходе, а также роли этих нарушение в прогрессировании фиброза печени.

*Целью работы* явилось исследование клинического значения состояния эндотелия и агрегации тромбоцитов при развитии фиброза печени у детей с АИГ.

#### **Материалы и методы**

Функциональное состояние эндотелия и тромбоцитарное звено гемостаза было изучено у 35 пациентов 3-17 лет, из них 16 мальчиков, находившихся на лечении в отделении гастроэнтерологии и нарушений обмена веществ Института педиатрии ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России и 15 условно здоровых детей. Работа выполнена в соответствии с Государственным заданием ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России на 2017-2019 гг., тема «Разработка методов профилактики, диагностики и лечения заболеваний органов пищеварения у детей в условиях острой и хронической гипоксии».

Все участники исследования были обследованы согласно медицинскому Стандарту специализированной медицинской помощи детям при АИГ. Диагноз АИГ был поставлен после исключения вирусного гепатита, холестатических, аутоиммунных заболеваний печени, болезни Вильсона-Коновалова, гемохроматоза, дефицита  $\alpha$ 1-антитрипсина, токсических форм гепатита.

Забор крови для выполнения лабораторных тестов выполнялся утром, натощак, путем венепункции локтевой вены. В предшествующие исследованию 30 дней больные не получали препараты, влияющие на гемостаз. В качестве маркеров эндотелиальной дисфункции использовали эндотелин-1 и VWF. Определение концентрации эндотелина-1 в сыворотке крови осуществлялось методом иммуноферментного анализа, с использованием тест системы «Endothelin 1-21», активности VWF – на анализаторе гемокоагуляции ACL-TOP 500 (Instrumentation Laboratory Company, USA) с использованием набора фактора фон Виллебранда.

Количество тромбоцитов определяли с помощью гематологического анализатора Cell-Dyn 610 (Abbott Diagnostics, США), агрегационную активность кровяных пластинок – на анализаторе агрегации тромбоцитов, с использованием в качестве индуктора агрегации аденозинфосфата (АТФ) в концентрации 1,25 мг/мл и коллагена – 2,0 мк/мл. В процессе исследования оценивали степень и скорость агрегации тромбоцитов.

Участники исследования были разделены на группы в зависимости от степени выраженности фиброза печени, оценка которого проводилась методом непрямой эластометрии на аппарате «Fibroscan» (Echosens, Франция) с разграничением стадии фиброза по шкале Metavir от F0 до F4 методом магнитно-резонансной томографии (Siemens, 1,5 тесла), методом ультразвукового исследования (Prosond F 75). Шести пациентам была выполнена гепатобиопсия.

В 1-ую группу (n=17) вошли дети со степенью фиброза F 0-2 по Metavir по данным непрямой эластометрии печени на фоне АИГ. Возраст пациентов – 14,0 (11,0; 16,0) лет.

Во 2-ую группу (n=18) вошли дети со степенью фиброза F 3-4 по Metavir по данным непрямой эластометрии печени, у детей этой группы был диагностирован цирроз печени на фоне АИГ. Возраст пациентов – 13,5 (9,0; 15,0) лет.

Контрольную группу (n=15) составили дети, относящиеся к I или II группам здоровья. Возраст детей контрольной группы – 13,0 (10,0; 15,5) лет. Изучаемые группы были сопоставимы по возрасту и полу.

Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБОУ ВО ПИМУ Минздрава России, протокол №16 от 05.12.2017 г. Все участники исследования подписали Информированное согласие.

Для проверки статистических гипотез использовали: U-критерий Манна-Уитни, коэффициент корреляции Спирмена, критерий Фишера. Критическая величина уровня статистической значимости принята равной 0,05. Количественные данные представлены в виде медианы и первого, третьего квартиля (Me (Q1; Q3)), частоты наблюдения (в %). В скобках указаны абсолютные значения (n). Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Statistica 10.0 (Stat Soft Inc., США).

### Результаты и их обсуждение

Среди наблюдаемых детей с АИГ признаки формирования фиброза различной степени (F1-F4 по Metavir) по данным непрямой эластометрии печени были выявлены у  $\frac{3}{4}$  обследованных: фиброз F1 – у 8 (23%) больных, F2 – у 1 (3%), F3 – у 7 (20%), F4 – у 11 (31%). Отсутствие фиброза (F0) было выявлено у 8 (23%) пациентов.

В 1-ую группу вошли пациенты без фиброза и с его начальными проявлениями (F0-F2 по Metavir). У 18 пациентов с фиброзом F3-F4 был диагностирован цирроз

печени, у 6 пациентов он был подтвержден гистологически. На этом основании они были объединены во 2-ую группу.

Средний показатель эластичности печени по данным эластометрии в 1-ой группе (F0-F2 по Metavir) составил 6,05 кПа (4,6;7,0), во 2-ой группе (F3-F4 по Metavir) – 14,4 кПа (13,1;21,8 кПа,  $p<0,001$ ). По данным анамнеза, длительность периода с момента первых клинических проявлений (астеноневротический синдром, синдром желтухи, субфебрилитет, боли в животе) и до постановки диагноза была сопоставимой между 1-ой и 2-ой группами: в 1-ой группе данный период составил 7 (3;15) месяцев, во 2-ой группе – 8 (4;15) месяцев. Важно отметить, что в дебюте заболевания у 16 из 18 (88,9%) детей 2-ой группы жалобы астеноневротического характера были наиболее выражены и характеризовались слабостью, повышенной утомляемостью, лабильностью настроения, беспокойным сном, в то время как в 1-ой группе большинство детей (14 из 17; 82,4%) беспокоила лишь слабость и повышенная утомляемость ( $p=0,021$ ). Фактически у каждого второго пациента (41,2%) 2-ой группы в дебюте заболевания был выраженный синдром желтухи (сочетание иктеричности кожи, склер, слизистой полости рта, потемнение мочи, светлый стул), в то время как в 1-ой группе данное сочетание симптомов не было отмечено ( $p=0,014$ ).

При клиническом осмотре «малые печеночные» знаки преобладали во 2-ой группе: пальмарная эритема зафиксирована у всех детей данной группы (100%), «сосудистые» звездочки и выраженная венозная сеть передней брюшной стенки – у 18 из 22 (81,8%) детей, в то время как в 1-ой группе эти изменения были зарегистрированы у 4 из 17 (23,5%) и у 3 из 17 (17,6%) пациентов соответственно ( $p=0,029$  и  $p=0,025$ ).

По данным лабораторно-инструментального обследования, в 1-ой группе у большинства (11 из 17; 64,7%) детей преобладала минимальная степень биохимической активности (значения трансаминаз не превышали более чем в 3 раза верхнюю

границу нормы), в то время как во 2-ой группе у 8 из 18 (44,4%) детей отмечалась умеренная степень активности (значения трансаминаз превышали верхнюю границу нормы в 4-5 раз), а у 4 из 18 (22,2%) пациентов регистрировалась высокая степень биохимической активности (трансаминазы были повышены более чем в 10 раз). Существенно реже в 1-ой группе по сравнению со 2-ой была диагностирована печеночно-клеточная недостаточность – у 4 из 17 (23,5%) и 17 из 18 (94,4%) обследованных соответственно ( $p=0,045$ ).

Осложнения: гиперспленизм (снижение количества тромбоцитов, лейкоцитов и эритроцитов) и также варикозное расширение вен пищевода, – в 1-ой группе не были диагностированы ни в одном случае. Во 2-ой группе проявления гиперспленизма выявлены у 8 из 18 (44,4%) детей ( $p=0,014$ ), а варикозное расширение вен пищевода от 1-2 до 3-4 степени – у 11 из 18 (61,1%,  $p=0,003$ ).

У обследованных 1-ой и 2-ой групп наблюдалось возрастание концентрации маркера эндотелиальной дисфункции – эндотелина-1 – по сравнению с контрольной группой ( $p=0,04$  и  $p<0,001$ , соответственно), при этом во 2-ой группе его содержание было достоверно выше, чем в 1-ой ( $p=0,03$ , табл. 1). Подобные изменения зафиксированы в отношении еще одного показателя функционального состояния эндотелиальных клеток – VWF: в обеих группах отмечалось возрастание его активности, превышающее значения физиологической нормы ( $p=0,01$  и  $p<0,001$ , соответственно), но при этом у пациентов 2-ой группы по сравнению с 1-ой его активность также была значительно выше ( $p=0,005$ , табл. 1).

Таким образом, у детей с АИГ дисфункция эндотелия максимально выражена при развитии цирроза печени. Полученные данные были подтверждены положительной корреляционной связью средней степени выраженности между степенью фиброза печени и маркерами дисфункции эндотелия – эндотелином-1 ( $R=0,356$ ,  $p=0,004$ ) и VWF ( $R=0,605$ ,  $p<0,001$ ).

Таблица 1

**Показатели функционального состояния эндотелия и агрегации тромбоцитов у обследованных детей с аутоиммунным гепатитом**

Показатель	Контроль, условно здоровые дети, n=15	Дети с АИГ	
		Группа 1, F 0-2 по Metavir, n=17	Группа 2, F 3-4 по Metavir, n=18
Эндотелин-1, фмоль/мл	0,55 (0,22; 0,63)	0,87 (0,49; 1,74)*	1,67 (0,81; 5,08)*:**
VWF, %	76,6 (58,85; 105,4)	134,0 (111,0; 154,5)*	167,5 (148,0; 240,0)*:**
Тромбоциты, тыс./мкл	311,0 (266,0; 349,5)	246,3 (230,7; 254,75)*	215,0 (199,8; 237,1)*:**
Индуктор агрегации АДФ, степень, %	22,3 (14,8; 24,2)	51,95 (24,55; 61,95)*	53,1 (26,2; 69,1)*
Индуктор агрегации АДФ, скорость, %/мин	29,95 (17,8; 36,5)	36,9 (35,2; 48,2)*	39,6 (29,6; 55,0)*
Индуктор агрегации коллаген, степень, %	61,85 (55,4; 70,3)	77,6 (75,15; 86,85)*	71,6 (66,9; 85,7)*
Индуктор агрегации коллаген, скорость, %/мин	33,05 (18,5; 58,4)	61,4 (50,0; 67,4)	59,6 (52,4; 75,0)

*Примечания:* n – количество наблюдений, \* – различия статистически значимы по сравнению с группой контроля; \*\* – различия статистически значимы между группами 1 и 2

У всех пациентов с АИГ выявлено снижение количества тромбоцитов по сравнению с контролем (группа 1 –  $p=0,002$ , группа 2 –  $p<0,001$ ). При этом, содержание мелких кровяных пластинок во 2-ой группе достоверно ниже, чем 1-ой ( $p=0,003$ , табл.1). Важно отметить, что снижение содержания тромбоцитов сопровождается увеличением плотности печени по данным непрямои фиброэластометрии ( $R=-0,5$ ,  $p=0,003$ ) и повышением маркеров эндотелиальной дисфункции – эндотелина-1 ( $R=-0,528$ ,  $p<0,001$ ) VWF ( $R=-0,501$ ,  $p<0,001$ ).

Определены положительные корреляционные взаимосвязи умеренной степени между маркерами эндотелиальной дисфункции, тромбоцитами и клиническими особенностями заболевания. Так, значения эндотелина-1 прямо взаимосвязаны с выраженностью в дебюте заболевания астено-невротического синдрома ( $R=0,362$ ,  $p=0,03$ ), желтушности кожи ( $R=0,437$ ,  $p=0,008$ ) и склер ( $R=0,385$ ,  $p=0,02$ ). VWF

прямо, а количество тромбоцитов обратно коррелируют с выраженностью сосудистых изменений, возникающих при хронических заболеваниях печени – «сосудистых звездочек» на лице в сочетании с расширением венозной сети на передней брюшной стенке ( $R=0,486$ ,  $p=0,004$  и  $R=-0,576$ ,  $p=0,031$  соответственно). Помимо этого, количество тромбоцитов обратно коррелирует с выраженностью таких осложнений патологического процесса, как гиперспленизм ( $R=-0,567$ ,  $p=0,001$ ) и варикозное расширение вен пищевода ( $R=0,363$ ,  $p=0,048$ ).

Исследование данных агрегации тромбоцитов с АДФ и коллагеном показало, что у детей с АИГ отмечалось увеличение как степени, так и скорости агрегации не зависимо от стадии фиброза печени. Степень агрегации тромбоцитов при индукции АДФ у больных 1-ой и 2-ой групп значимо превышала аналогичный показатель у здоровых детей ( $p=0,003$  и  $p=0,004$  соответственно). Наряду с этим при индук-

ции АДФ была увеличена и скорость агрегации кровяных пластинок в обеих группах по сравнению с контрольными значениями ( $p=0,008$  и  $p=0,016$  соответственно). При использовании в качестве индуктора агрегации тромбоцитов коллагена у пациентов 1-ой и 2-ой групп по сравнению с контро-

лем зарегистрировано аналогичное возрастание и степени ( $p<0,001$  и  $p=0,021$  соответственно), и скорости агрегации ( $p=0,021$  и  $p=0,04$  соответственно, табл. 1). Выраженность агрегации тромбоцитов с АДФ и коллагеном напрямую зависит от активности VWF (табл. 2).

Таблица 2

*Анализ сопряженности между активностью фактора Виллебранда (VWF) и показателями агрегации тромбоцитов у обследованных детей (коэффициент Спирмена)*

Показатели корреляции	Сила и статистическая значимость корреляционной связи
VWF/степень агрегации тромбоцитов с АДФ	$r=0,467$ , $p=0,001$
VWF/скорость агрегации тромбоцитов с АДФ	$r=0,312$ , $p=0,039$
VWF/степень агрегации тромбоцитов с коллагеном	$r=0,302$ , $p=0,046$
VWF/скорость агрегации тромбоцитов с коллагеном	$r=0,366$ , $p=0,016$

*Примечания:*  $r$  – сила корреляционной связи,  $p$  – статистическая значимость корреляционной связи

Таким образом, согласно результатам проведенного исследования, АИГ у детей характеризуется агрессивным течением. Первые жалобы и клинические проявления зачастую появляются уже на фоне глубокого поражения печени. Достаточно быстро, в среднем за 7-8 месяцев с момента первых клинических проявлений, формируются выраженные нарушения структуры печени, обусловленные разрастанием большого количества соединительной ткани. Лишь у 23% детей отсутствовали признаки фиброза печени, у остальной части пациентов – 77% зафиксированы различные степени фиброза от 1 до 4 по шкале Metavir.

У пациентов с АИГ были установлены лабораторные признаки поражения эндотелия – выявлено повышение в крови высокоспецифичных маркеров эндотелиальной дисфункции – эндотелина-1 и VWF.

Одна из основных функций эндотелия состоит в сбалансированном выделе-

нии регуляторных субстанций, определяющих целостную работу системы кровообращения. При «нормальной» функции эндотелия баланс всегда сдвинут в сторону поддержания вазодилатации, ингибиции ангиогенеза, антитромботического, противовоспалительного и антиоксидантного эффекта. При нарушении функции или структуры эндотелия резко меняется спектр выделяемых им биологически активных веществ в виде избыточного синтеза прокоагулянтов: эндотелина-1 и VWF [7,8]. Высокие концентрации эндотелина-1 способствуют развитию стойкой вазоконстрикции, приводя к развитию ишемии, некрозу тканей, поддержанию воспалительного процесса в органе. В эксперименте доказано, что эндотелин-1 участвует в активации звездчатых клеток, способствуя тем самым повышенному отложению основных компонентов внеклеточного матрикса [12-14]. Согласно литературным данным у взрослых людей

с хроническим вирусным гепатитом и декомпенсированным циррозом вирусной этиологии отмечаются повышение значений эндотелина-1 и VWF [15]. Показано, что плазменный уровень VWF может быть повышен более чем в 10 раз при тяжелой циррозе печени у взрослых [16,17]. Полученные нами данные не противостоят литературным: у детей со сформированным циррозом печени в исходе АИГ, сопровождающегося умеренной и высокой степенью биохимической активности, печеночно-клеточной недостаточностью, гиперспленизмом, варикозным расширением вен пищевода значения маркеров нарушения функции эндотелия были повышены максимально.

Увеличение активности VWF способствует усилению адгезивно-агрегационных свойств тромбоцитов. Он относится к группе ранних тромборегуляторов, т.к. влияет на процесс тромбообразования еще до образования тромбина [18]. Полученные нами положительные корреляционные связи между активностью VWF и показателями агрегации тромбоцитов это подтверждают. У всех обследованных имеет место повышение степени и скорости агрегации при индукции АДФ и коллагеном. Однако, достоверно значимых различий между исследуемыми группами не получено. По-видимому, это связано с тенденцией к снижению количества тромбоцитов в обеих группах. Известно, что образование малых агрегатов при тромбоцитопении может не сказываться на светопропускании суспензии тромбоцитов при исследовании их агрегации, то есть приводит к занижению результатов исследования [19]. Как на начальных стадиях фиброза, так и при сформированном циррозе у детей с аутоиммунным поражением печени количество тромбоцитов имеет тенденцию к снижению по сравнению с контрольной группой. Однако содержание тромбоцитов в нашем исследовании в обеих группах остается в коридоре физиологической нормы. В исследованиях, участниками которых являлись взрослые паци-

енты с гепатитом и циррозом печени вирусной этиологии, получены аналогичные данные в нарушении сосудисто-тромбоцитарного гемостаза в виде увеличения агрегации и активации тромбоцитов [20].

Важно отметить, что концентрация эндотелина-1, уровень тромбоцитов, активность VWF имеют важное клиническое значение при АИГ у детей. Согласно результатам нашего исследования, дети, у которых в дебюте заболевания имел место более выраженный астеноневротический синдром и синдром желтухи, в дальнейшем имеют более выраженную дисфункцию эндотелия и более тяжелую форму заболевания, характеризующуюся формированием цирроза печени, гиперспленизмом и варикозным расширением вен пищевода.

### Выводы

1. Тяжелая форма аутоиммунного гепатита характеризуется в дебюте заболевания выраженным синдромом желтухи, комплексом жалоб астеноневротического характера, умеренно высокой степенью биохимической активности, печеночно-клеточной недостаточностью, быстрым формированием цирроза печени и осложнений (варикозное расширение вен пищевода, гиперспленизм) на фоне выраженной дисфункции эндотелия.

2. Дисфункция эндотелия (повышение концентрации эндотелина-1 и активности фактора фон Виллебранда) регистрируется у всех детей с аутоиммунным гепатитом и зависит от степени фиброза печени.

3. Изменение функционального состояния тромбоцитарного звена гемостаза (повышение агрегации тромбоцитов) регистрируется у всех детей с аутоиммунным гепатитом и не зависит от степени фиброза печени.

4. Определение показателей функционального состояния эндотелия (эндотелина-1, фактора фон Виллебранда) и количество тромбоцитов могут быть рекомендованы для оценки тяжести поражения печени при аутоиммунном гепатите у детей.



## Литература

1. Костырко Е.В., Шумилов П.В. Современные методы лечения детей с аутоиммунными заболеваниями печени // Педиатрическая фармакология. 2015. Т. 12, №6. С. 679-685. doi:10.15690/pf.v12i6.1492
2. Кляритская И.Л., Шелихова Е.О., Семенихина Е.В. Диагностика аутоиммунного гепатита согласно рекомендациям EASL 2015 // Крымский терапевтический журнал. 2015. Т. 27, №4. С. 9-17.
3. Шварц В.Я., Ногаллер А.М. Аутоиммунный гепатит // Клиническая медицина. 2013. Т. 91, №9. С. 57-61.
4. Leonardi F., Maria N., Villa E. Anticoagulation in cirrhosis: a new paradigm? // *Clinical and molecular hepatology*. 2017. Vol. 23, №1. P. 13-21. doi:10.3350/cmh.2016.0110
5. Куркина И.А., Маевская М.В., Силаев Б.В., и др. Гиперкоагуляционный синдром у больных циррозом печени // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2014. Т. 24, №6. С. 36-44.
6. Mancuso A. The ischemic liver cirrhosis theory and its clinical implications // *Medical Hypotheses*. 2016. Vol. 94. P. 4-6. doi:10.1016/j.mehy.2016.06.008
7. Eelen G., De Zeeuw P., Treps L., et al. Endothelial Cell Metabolism // *Physiological Reviews*. 2018. Vol. 98, №1. P. 3-58. doi:10.1152/physrev.00001.2017
8. Шиффман Ф.Дж. Патология крови. М.: БИНОМ; 2017.
9. Malerba M., Nardin M., Radaeli A., et al. The potential role of endothelial dysfunction and platelet activation in the development of thrombotic risk in COPD patients // *Expert Review of Hematology*. 2017. Vol. 10, №9 P. 821-832. doi:10.1080/17474086.2017.1353416
10. Holinstat M. Normal platelet function // *Cancer and Metastasis Reviews*. 2017. Vol. 36, №2. P. 195-198. doi:10.1007/s10555-017-9677-x
11. Козловский В.И., Ковтун О.М., Серпухова О.П., и др. Методы исследования и клиническое значение агрегации тромбоцитов. Фокус на спонтанную агрегацию // Вестник ВГМУ. 2013. Т. 12, №4. С. 79-91.
12. Шифф Ю.Р., Соррел М.Ф., Мэддрей У.С. Болезни печени по Шиффу. Цирроз печени и его осложнения. Трансплантация печени. 10-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2012.
13. Poisson J., Lemoine S., Boulanger C., et al. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases // *Journal of Hepatology*. 2017. Vol. 66, №1. P. 212-227. doi:10.1016/j.jhep.2016.07.009
14. Wereszczynka-Siemiakowska U., Swidnicka-Siergiejko A., Siemiakowski A., et al. Endothelin 1 and transforming growth factor- $\beta$ 1 correlate with liver function and portal pressure in cirrhotic patients // *Cytokine*. 2015. Vol. 76, №2. P. 144-151. doi:10.1016/j.cyt.2015.05.025
15. Щёктова А.П., Котельникова Л.П., Мугатаров И.Н., и др. Эндотелиальная дисфункция, воспаление и фиброз при гепатобилиарной патологии // *Фундаментальные исследования*. 2013. №5-2. С. 451-455.
16. Куркина И.А., Маевская М.В., Ивашкин В.Т. Гиперкоагуляция и тромбоз у больных циррозом печени // *Поликлиника*. 2015. №4-2. С. 20-26.
17. Wu H., Yan Sh., Wang G., et al. von Willebrand factor as a novel noninvasive predictor of portal hypertension and esophageal varices in hepatitis B patients with cirrhosis // *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2015. Vol. 50, №9. P. 1160-1169. doi:10.3109/00365521.2015.1037346
18. Папаян Л.П. Болезнь Виллебранда: структура и функция фактора Виллебранда, классификация, клиническая картина и основные принципы диагностики. Лекция // *Вопросы гематологии, онкологии и иммунологии в педиатрии*. 2012. Т. 11, №4. С. 5-10.
19. Gabbasov Z.A., Popov E.G., Gavrilov I.Yu., et al. Platelet aggregation: the use of optical density fluctuations to study microaggregate formation in platelet suspension // *Thrombosis Research*. 1989. Vol. 54, №3. P. 215-223. doi:10.1016/0049-3848(89)90229-6
20. González-Reimers E., Quintero-Platt G., Martín-González C., et al. Thrombin activation and liver inflammation in advanced hepatitis C virus infection // *World Journal of Gastroenterology*. 2016. Vol. 22, №18. P. 4427-4437. doi:10.3748/wjg.v22.i18.4427

## References

1. Kostyrko EV, Shumilov PV. Contemporary Methods of Treating Children with Autoimmune Nephric Diseases. *Pediatric Pharmacology*. 2015; 12(6):679-85. (In Russ). doi:10.15690/pf.v12i6.1492
2. Klyaritskaia IL, Shelihova EO, Semehihina EV. Diagnosis of autoimmune hepatitis according to EASL Clinical Practice Guidelines 2015. *Crimean Journal of Internal Diseases*. 2015; 27(4):9-17. (In Russ).
3. Shvarts VYa, Nogaller AM. Autoimmune hepatitis. *Clinical Medicine*. 2013;91(9):57-61. (In Russ).
4. Leonardi F, Maria N, Villa E. Anticoagulation in cirrhosis: a new paradigm? *Clinical and Molecular Hepatology*. 2017;23(1):13-21. doi:10.3350/cmh.2016.0110
5. Kurkina IA, Mayevskaya MV, Silayev BV, et al. Hypercoagulation syndrome at liver cirrhosis. *Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology*. 2014;6:36-44. (In Russ).
6. Mancuso A. The ischemic liver cirrhosis theory and its clinical implications. *Medical Hypotheses*. 2016;94:4-6. doi:10.1016/j.mehy.2016.06.008
7. Eelen G, De Zeeuw P, Treps L, et al. Endothelial Cell Metabolism. *Physiological Reviews*. 2018; 98(1):3-58. doi:10.1152/physrev.00001.2017
8. Shiffman FDzh. *Patofiziologiya krovi*. Moscow: BINOM; 2017. (In Russ).

9. Malerba M, Nardin M, Radaeli A, et al. The potential role of endothelial dysfunction and platelet activation in the development of thrombotic risk in COPD patients. *Expert Review of Hematology*. 2017;10(9):821-32. doi:10.1080/17474086.2017.1353416
10. Holinstat M. Normal platelet function. *Cancer and Metastasis Reviews*. 2017;36(2):195-8. doi:10.1007/s10555-017-9677-x
11. Kozlovsky VI, Kovtun OM, Seroukhova OP, et al. Methods of investigation and clinical significance of thrombocytes aggregation with emphasis on spontaneous aggregation of platelets. *Vestnik of Vitebsk State Medical University*. 2013;12(4):79-91. (In Russ).
12. Schiff ER, Sorrell MF, Mjeddrej WC. *Shiff's diseases of the liver*. 10<sup>th</sup> ed. Moscow: GJEOTAR-Media; 2012. (In Russ).
13. Poisson J, Lemoine S, Boulanger C, et al. Liver sinusoidal endothelial cells: Physiology and role in liver diseases. *Journal of Hepatology*. 2017; 66(1):212-27. doi:10.1016/j.jhep.2016.07.009
14. Wereszczynka-Siemiakowska U, Swidnicka-Siergiejko A, Siemiakowski A, et al. Endothelin 1 and transforming growth factor- $\beta$ 1 correlate with liver function and portal pressure in cirrhotic patients. *Cytokine*. 2015;76(2):144-51. doi:10.1016/j.cyto.2015.05.025
15. Schekotova AP, Kotelnikova LP, Mugatarov IN et al. Endothelial dysfunction, inflammation and fibrosis in the presence of hepatobiliary pathology. *Fundamental Research*. 2013;5-2:451-5. (In Russ).
16. Kurkina IA, Maevskaya MV, Ivashkin VT. Hypercoagulation and thrombosis in patients with liver cirrhosis. *Polyclinic*. 2015;4(2):20-6. (In Russ).
17. Wu H, Yan Sh, Wang G, et al. von Willebrand factor as a novel noninvasive predictor of portal hypertension and esophageal varices in hepatitis B patients with cirrhosis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*. 2015;50(9):1160-9. doi:10.3109/00365521.2015.1037346
18. Papayan LP. Von Willebrand disease: Structure and function of von Willebrand factor, classification, clinical manifestations, and diagnosis. *Pediatric Hematology/Oncology and Immunopathology*. 2012; 11(4):5-10. (In Russ)
19. Gabbasov ZA, Popov EG, Gavrillov IYu, et al. Platelet aggregation: the use of optical density fluctuations to study microaggregate formation in platelet suspension. *Thrombosis Research*. 1989;54(3): 215-23. doi:10.1016/0049-3848(89)90229-6
20. González-Reimers E, Quintero-Platt G, Martín-González C, et al. Thrombin activation and liver inflammation in advanced hepatitis C virus infection. *World Journal Gastroenterology*. 2016;22(18): 4427-37. doi:10.3748/wjg.v22.i18.4427

#### Дополнительная информация [Additional Info]

**Источник финансирования.** Бюджет ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России. [Financing of study. Budget of Research Medical University of Volga Region.]

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить, в связи с публикацией данной статьи. [Conflict of interests. The authors declare no actual and potential conflict of interests which should be stated in connection with publication of the article.]

**Участие авторов.** Коновалова Е.Ю. – дизайн исследования, сбор и обработка материала, статистическая обработка, написание текста, Лаврова А.Е. – концепция и дизайн исследования, редактирование, Преснякова М.В. – сбор и обработка материала, написание текста. [Participation of authors. E.Y. Konovalova – design of the study, acquisition and processing of the material, statistical processing, writing the text, A.E. Lavrova – concept and design of the study, editing, M.V. Presnyakova – acquisition and processing of the material, writing the text.]

#### Информация об авторах [Authors Info]

\***Коновалова Екатерина Юрьевна** – м.н.с. отдела «Клиника гастроэнтерологии и нарушений обмена веществ» ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород, Россия. [Ekaterina Yu. Konovalova – Junior Researcher of Department «Clinic of Gastroenterology and Metabolic disorders», Research Medical University of Volga Region, Nizhny Novgorod, Russia.]  
SPIN: 4437-3176, ORCID ID: 0000-0003-1059-6293, Researcher ID: H-1099-2018. E-mail: ekaterinapashkina@yandex.ru

**Лаврова Алла Евгеньевна** – д.м.н., г.н.с. отдела «Клиника гастроэнтерологии и нарушений обмена веществ» ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород, Россия. [Alla E. Lavrova – MD, PhD, Leading Researcher of Department «Clinic of Gastroenterology and Metabolic disorders», Research Medical University of Volga Region, Nizhny Novgorod, Russia.]  
SPIN: 1040-2836, ORCID ID: 0000-0002-0447-214X, Researcher ID: H-5209-2018.

**Преснякова Марина Владимировна** – к.б.н., с.н.с. лаборатории биохимии ФГБОУ ВО Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России, Нижний Новгород, Россия. [**Marina V. Presnyakova** – PhD in Biological sciences, Senior Researcher of Department «Clinic of Gastroenterology and Metabolic disorders», Research Medical University of Volga Region, Nizhny Novgorod, Russia.] SPIN: 2188-3549, ORCID ID: 0000-0002-3951-9403, Researcher ID: H-4567-2018.

**Цитировать:** Коновалова Е.Ю., Лаврова А.Е., Преснякова М.В. Дисфункция эндотелия и нарушение тромбоцитарного звена гемостаза при развитии фиброза печени у детей с аутоиммунным гепатитом // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. 2018. Т. 26, №4. С. 500-510. doi:10.23888/PAVLOVJ2018264500-510

**To cite this article:** Konovalova EY, Lavrova AE, Presnyakova MV. Endothelial dysfunction and platelet function disorder in hemostasis in development of hepatic fibrosis in children with autoimmune hepatitis. *IP Pavlov Russian Medical Biological Herald.* 2018;26(4):500-10. doi:10.23888/PAVLOVJ2018264500-510

**Поступила/Received:** 13.04.2018  
**Принята в печать/Accepted:** 12.12.2018