

Дербак Марія Антонівна,
доктор медичних наук, професор,
завідувач кафедри факультетської терапії,
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
mariana.derbak@uzhnu.edu.ua
<https://orcid.org/0000-0003-4791-4080>
м. Ужгород, Україна

Лізанець Наталія Володимирівна,
асистент кафедри внутрішніх хвороб,
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
nataliya.lizanets@uzhnu.edu.ua
<https://orcid.org/0000-0003-3560-195X>
м. Ужгород, Україна

Цитокіни фіброгенезу у хворих на хронічний гепатит С, поєднаний із неалкогольною жирковою хворобою печінки

Вступ. Прогресування фіброзу печінки пов'язують з різними факторами, серед яких неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), неалкогольний стеатогепатит (НАСГ), підвищена маса тіла, інфікування вірусами гепатиту В і С та ВІЛ-інфекція. У регуляції розвитку запальної реакції печінкової тканини, апоптозу і некрозу клітин печінки, розвитку холестаза та фіброзу беруть участь цитокіни.

Мета дослідження. Встановити зв'язок рівнів цитокінів фіброгенезу та ангиогенезу, а саме ангиопоетину-2 (Ang-2), трансформуючого фактора росту – $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), лептину та адипонектину із ступенем фіброзу та стадією жирової інфільтрації печінки у хворих на хронічний гепатит С (ХГС) із підвищеною масою тіла та супутньою неалкогольною жирковою хворобою печінки (НАЖХП).

Матеріали і методи. Під спостереженням знаходилось 82 хворих на ХГС, із яких у 56 (68,3%) осіб діагностовано НАЖХП та підвищену масу тіла (ПМТ). Усім учасникам визначали кількість РНК HCV, індекс маси тіла (ІМТ), ангиопоетин-2 (Ang-2), трансформуючий фактор росту – $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), лептин, адипонектин. Ступінь фіброзу печінки встановлювали неінвазивним методом ФіброМакс. Хворі розділені на групи: 1 гр. (n=23) ХГС+ПМТ+стеатоз печінки, 2 гр. (n=33) – ХГС+ПМТ +неалкогольний стеатогепатит (НАСГ), 3-тя гр. (n=26) – ХГС+ нормальна маса тіла (НМТ).

Результати досліджень. З 82 пацієнтів прогресуючий фіброз печінки (F_{3-4}) мали 31 (37,8%) хворий, помірний фіброз (F_{1-2}) – 25 (30,5%), мінімальний фіброз (F_{0-1}) – 11 (13,4%), а 15 осіб (18,3%) не мали фіброзу (F_0). Прогресуючий фіброз печінки F_{3-4} частіше зареєстровано у хворих на ХГС поєднаний із НАСГ. Також встановлено, що у хворих на ХГС+НАСГ достовірно частіше, ніж у хворих 1 та 3 груп був стеатоз печінки S 2-3 (45,5% проти 30,4 % та 3,9% хворих; $p < 0,05$). Сироваткові рівні Ang-2 є достовірно вищими ($p < 0,05$) у хворих на ХГС +НАСГ із ІМТ $> 24,9$ кг/м² та прогресуючими ступенями фіброзу (F_{3-4}), ніж у хворих із ступенем фіброзу до F_2 та нормальною масою тіла. Концентрація лептину у хворих на ХГС +НАСГ була підвищена у 4,2 раз, а у хворих на ХГС із простим стеатозом – у 2,9 разів, порівняно з групою контролю. При цьому сироватковий рівень адипонектину у хворих 2 та 1 груп був знижений у 2,5 раз та у 1,4 раз відповідно у порівнянні із хворими групи 3. Виявлено позитивну кореляцію значень лептину та Ang-2 ($r = 0,49$; $p < 0,05$) із ступенем жирової інфільтрації печінки, тоді як аналогічний взаємозв'язок співвідношення адипонектин/лептин мав негативний характер ($r = -0,34$; $p < 0,05$). Із збільшенням рівня лептину в крові та зменшенням коефіцієнта адипонектин/лептин зростала ступінь стеатозу печінки, що відповідало більш високим рівням Ang-2.

Висновки. У хворих на ХГС+НАЖХП з підвищеною масою тіла реєструються дисрегуляторні зміни ангиопоетину-2 та трансформуючого фактору росту – $\beta 1$, які позитивно корелюють зі стадією жирової інфільтрації та ступенем фіброзу печінки, що може бути важливими біомаркерами ангиогенезу та фіброгенезу.

Ключові слова: хронічний гепатит С, НАЖХП, підвищена маса тіла, фіброз, стеатоз печінки, цитокіни.

Derbak Mariia Antonivna, Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Faculty Therapy, State Higher Educational Institution “Uzhhorod National University”, mariana.derbak@uzhnu.edu.ua, <https://orcid.org/0000-0003-4791-4080>, Uzhhorod, Ukraine

Lizanets Nataliia Volodymyrivna, Assistant Professor, Department of Internal Diseases, Faculty of Medicine №2, State Higher Educational Institution “Uzhhorod National University”, nataliya.lizanets@uzhnu.edu.ua, <https://orcid.org/0000-0003-3560-195X>, Uzhhorod, Ukraine

The cytokines of fibrogenesis in patients with chronic hepatitis C and nonalcoholic fatty liver disease

Introduction. The progression of fibrosis has been linked to various factors, including nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD), nonalcoholic steatohepatitis (NASH), increased body weight, infection with hepatitis B and C viruses and HIV infection. The cytokines are involved in the process of regulation in the development of inflammatory reactions of liver tissue, apoptosis and necrosis of liver cells, development of cholestasis and fibrosis.

The aim of the study. To establish the relationship between the levels of a fibrogenic and angiogenic cytokines, including angiopoietin-2 (Ang-2), transforming growth factor β 1 (TGF- β 1), leptin and adiponectin with the degree of fibrosis and stage of fatty liver infiltration in patients with chronic hepatitis C (HCV), with increased body weight and concomitant nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

Materials and methods. 82 patients with CHC were examined, of which 56 (68.3%) were diagnosed with NAFLD and increased body weight. All participants were examined for HCV RNA, body mass index (BMI), angiopoietin-2 (Ang-2), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), leptin and adiponectin. The degree of liver fibrosis was determined by the noninvasive FibroMax method. Patients were divided into groups: 1 group (n=23) CHC + increased body weight + liver steatosis, 2 group (n=33) – CHC + increased body weight + nonalcoholic steatohepatitis (NASH), 3rd group (n=26) – HCV+ normal body weight.

Results. Out of 82 patients, progressive liver fibrosis (F_{3,4}) had 31 patients (37.8%), moderate fibrosis (F_{1,2}) – 25 patients (30.5%), minimal fibrosis (F_{0,1}) – 11 patients (13.4%), and 15 patients (18.3%) had no fibrosis (F₀). Progressive liver fibrosis F_{3,4} is more common in patients with CHC combined with NASH. It was also found that patients with CHC+NASH significantly more often than patients of the groups 1 and 3 had liver steatosis S 2-3 (45.5% compared with 30.4% and 3.9% of patients; p<0.05). Serum levels of Ang-2 were significantly higher (p<0.05) in patients with CHC + NASH with a BMI of 24.9 kg/m² and progressive degrees of fibrosis (F_{3,4}), than in patients with a degree of fibrosis up to F₂ and normal body weight. The concentration of leptin in patients with HCV+NAFLD was increased by 4.2 times, and in patients with CHC with simple steatosis – by 2.9 times, compared to the control group. At the same time, serum adiponectin level in patients of groups 2 and 1 was reduced by 2.5 times and 1.4 times compared with patients of group 3. A positive correlation of leptin and Ang-2 values (r=0.49; p<0.05) with the degree of fatty infiltration of the liver was revealed, while a similar relationship of the ratio adiponectin/leptin ratio was negative (r=-0.34; p<0.05). As blood leptin levels increased and the adiponectin/leptin ratio decreased, the degree of liver steatosis increased, corresponding to higher levels of Ang-2.

Conclusions. Dysregulatory changes in angiopoietin-2 and transforming growth factor- β 1 are registered in patients with CHC+NAFLD and increased body weight, which correlate positively with the stage of fatty infiltration and the degree of liver fibrosis, that could be an important as biomarkers of angiogenesis and fibrogenesis.

Key words: chronic hepatitis C, NAFLD, increased body weight, fibrosis, liver steatosis, cytokines.

Довготривала персистенція вірусу гепатиту С (ВГС) в тканині печінки із наступним запаленням, веде до ангіогенезу, фіброзу, цирозу та гепатоцелюлярної карциноми (ГЦК) [1]. Темпи прогресування фіброзу печінки пов'язують з різними факторами, серед яких інші захворювання печінки, зокрема алкогольна та неалкогольна жирова хвороба печінки (НАЖХП), неалкогольний стеатогепатит (НАСГ), підвищена маса тіла, ко інфікування вірусом гепатиту В та ВІЛ-інфекція. Процес фіброгенезу при ХГС є відповідною реакцією організму на ушкодження печінки, що ініціюється та підтримується хронічним запальним процесом [2, 3]. У регуляції розвитку запальної реакції печінкової тканини, апоптозу і некрозу клітин печінки, розвитку холестераз та фіброзу беруть участь цитокіни [4]. Прогресування фіброзу печінки супроводжується ангіогенезом, незалежно від етіології захворювання печінки [5, 6]. Одним із ключових у розвитку фіброгенезу є трансформуючий фактор росту β (TGF- β 1), який є головним профіброгенним цитокіном, що сприяє активації міофібробластів печінки [7]. TGF- β також має проангіогенну здатність та регулює диференціацію, проліферацію та міграцію перичитів [8]. Ангіогенез при ураженні печінки пов'язують із підвищенням рівнів фактора росту ендотелію судин (VEGF) та ангіопоетинів [9]. Ангіопоетини – це група судинних факторів росту, причому найбільш добре вивчені ангіопоетин-1 (Ang-1) і Ангіопоетин-2 (Ang-2) [10]. Ang-1 допомагає підтримувати судинну сітку, діючи як фактор збереження ендотелію. Ang-2 є біологічним антагоністом Ang-1, який сильно експресується в місцях ремоделювання судин. Він знижує стабільність судин і робить VEGF більш доступним для ендотеліальних клітин [11]. Прогнозування фібротичних змін у печінці після лікування ВГС є вирішальною клінічною проблемою [12].

Оскільки фактори прогресування фіброзу печінки у хворих на ХГС до кінця не вивчені, а дані наукових досліджень є суперечливі, це зумовило актуальність наших досліджень.

Мета дослідження. Встановити зв'язок рівнів цитокінів фіброгенезу та ангіогенезу, а саме ангіопоетину-2 (Ang-2), трансформуючого фактора росту – β 1 (TGF- β 1), лептину та адипонектину із ступенем фіброзу та стадією жирової інфільтрації печінки у хворих на хронічний гепатит С (ХГС) із підвищеною масою тіла.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проведено на кафедрі факультетської терапії за згодою хворих, а методика їх проведення відповідала Гельсінській декларації 1975 р. і її перегляду 1983 р. Дослідження схвалене локальною етичною комісією (протокол № 6/2 від 07.09.2021), а учасники його ознайомилися і підписали погоджувальний лист, структура якого відповідала офіційно прийнятій.

Критерії залучення в дослідження: хворі з верифікованим діагнозом ХГС генотип 1b з та без НАЖХП, що погодилися на спостереження.

Критерії вилучення хворих з дослідження: наявність маркерів інфікування іншими вірусами гепатитів (А, В, Д), маркерів аутоімунного гепатиту, використання кортикостероїдів, нестероїдних протизапальних препаратів, та рішення хворого припинити участь у дослідженні.

З урахуванням вказаних критеріїв до дослідження залучено всього 82 хворих з верифікованим діагнозом ХГС, з яких 56 осіб мали ХГС поєднаний з НАЖХП та 26 хворих на ХГС без НАЖХП. Чоловіків було 53,7% (44), жінок 46,3% (38). Середній вік пацієнтів – 58,5±1,5 років. Контрольну групу (n=25, середній вік 33,2±1,5 р.) склали практично здорові особи.

Діагноз ХГС був встановлений згідно з Міжнародною класифікацією хвороб 10-го перегляду та підтверджений виявленням у крові пацієнтів RNA-HCV методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) у реальному часі (RT-PCR) з визначенням вірусного навантаження та генотипуванням. Ступінь активності патологічного процесу встановлювали за рівнем підвищення активності АлАТ, згідно міжнародної класифікації захворювань печінки (Лос-

Анжелес, 1994). Діагноз НАЖХП встановлювали відповідно до уніфікованого клінічного протоколу «Неалкогольний стеатогепатит» (2014) та адаптованої клінічної настанови, заснованої на доказах «Неалкогольна хвороба печінки» (2012), згідно з рекомендаціями Європейської асоціації з вивчення печінки (EASL).

У роботі використано імуноферментний аналіз Enzyme-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) для визначення рівнів сироваткового Ангіопоетину-2 (Ang-2), трансформуючого фактору росту – $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) та лептину і адипонектину, згідно інструкцій, що додаються до наборів реактивів Diagnostics Biochem Canada та DRG (США).

Ступінь фіброзу та стеатозу печінки визначали неінвазивним методом діагностики – ФіброМакс, що включає: ФіброТест, АктіТест, СтеатоТест, ЕшТест, НешТест та проводиться компанією BioPredictive (Paris, France) у комерційних лабораторіях «Діла» та «Сінево». Усім учасникам проводили УЗД органів черевної порожнини та визначали індекс маси тіла (ІМТ). За нормальну масу тіла (НМТ) вважали ІМТ 18,5–24,9 кг/м². Значення ІМТ > 24,9 кг/м² розцінювали, як підвищена маса тіла (ПМТ).

Аналіз і обробка результатів обстеження хворих здійснювались за допомогою комп'ютерної програми Statistics for Windows v.7.0 (StatSoft Inc, США) з використанням параметричних і непараметричних методів оцінки отриманих результатів. Різницю вважали вірогідною при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Під спостереженням знаходилось 82 хворих на ХГС серед яких у 56 (68,3%) осіб діагностовано різного ступеня жирову інфільтрацію печінки (НАЖХП) та ПМТ. Згідно поставлених задач всі хворі розділені на три групи: 1 група (n=23) – ХГС+ПМТ+ стеатоз печінки, 2 група (n=33) – ХГС+ПМТ +неалкогольний стеатогепатит (НАСГ), 3-тя група (n=26) – ХГС+НМТ. Групи були репрезентативні за віком та статтю.

З 82 пацієнтів прогресуючий фіброз печінки (F₃₋₄) мали 31 (37,8%) хворий, помірний фіброз (F₁₋₂) – 25 (30,5%), мінімальний фіброз (F₀₋₁) – 11 (13,4%), а 15 осіб (18,3%) не мали фіброзу (F₀). Порівнюючи групи хворих необхідно відмітити, що прогресуючий фіброз печінки F₃₋₄ частіше зареєстровано у хворих на ХГС поєднаний із НАСГ. Також встановлено, що у хворих 2 групи (ХГС+НАСГ) достовірно частіше, ніж у хворих 1 та 3 груп був виразний стеатоз печінки S 2–3 (45,5% проти 30,4 % та 3,9% хворих; $p < 0,05$) (табл. 1).

При дослідженні сироваткового рівня TGF- $\beta 1$ у хворих на ХГС встановлено підвищений рівень у 60 (73,2%) хворих, знижений – у 8 (9,8%) і відповідав показникам норми – у 14 (17,0%) хворих. Сироваткові рівні Ang-2 значно вищі зареєстровано у пацієнтів з ХГС + НАСГ +ПМТ, ніж у пацієнтів із ХГС+ стеатоз +ПМТ та ХГС без стеатозу (у 1,8 та у 2,3 раз відповідно; $p < 0,05$). Необхідно відмітити, що сироваткові рівні Ang-2 були достовірно вищими ($p < 0,05$) у хворих на ХГС +НАСГ із ІМТ > 24,9 кг/м² та прогресуючими ступенями фіброзу (F₃₋₄), ніж у хворих із ступенем фіброзу до F₂ та НМТ.

Таблиця 1

Дані неінвазивного методу ФіброМакс у хворих на ХГС

Показник		Групи хворих		
		1	2	3
		ХГС + стеатоз +ПМТ (n=23) абс/%	ХГС + НАСГ+ПМТ (n=33) абс/%	ХГС+НМТ (n=26) абс/%
Ступені фіброзу FibroTest	F ₀ (n=15)	3/13.0	5/15.2	7/26.9
	F ₀₋₁ (n=11)	3/13.0	3/9.1	5/19.2
	F ₂ (n=25)	10/43.5	9/27.2	6/23.1
	F ₃₋₄ (n=31)	7/30.4	16/48.5*	8/30.8
Активність некротально го процесу ActiTest	A ₀ (n=19)	6/26,1	5/15.2	8/30.8
	A ₁ (n=20)	7/30.4	7/21.2	6/23.1
	A ₂ (n=23)	6/26.1	10/30.3	7/26.9
	A ₃ (n=20)	4/17.4	11/33.3*	5/19.2
Ступені стеатозу SteatoTest	S ₀₋₁ (n=37)	10/34.8	7/21.2	20/76.9
	S _{>1} (n=22)	6/26.1	11/33.3	5/19.2
	S _{>2} (n=23)	7/30.4	15/45.5*	1/3.9
Запалення при метаболических порушеннях NashTest	N ₀	0	0	0
	N ₁ (n=17)	0	17/51.5	0
	N ₂ (n=16)	0	16/48.5	0

Примітки: * – достовірна різниця ступенів фіброзу, стеатозу, запалення між групами ($p < 0,05$).

Рівні цитокінів фіброгенезу та ангиогенезу у хворих на ХГС

Група	Показник			
	TGF- β 1, пг/мл	Ang-2, пг/мл	Лептин, нг/мл	Адипонектин, мкг/мл
1 (n=23)	224,3 \pm 36,3*	325,4 \pm 22,5*	19,4 \pm 1,7**	52,4 \pm 12,3**
2 (n=33)	457,2 \pm 28,7***	573,2 \pm 45,8***	27,5 \pm 2,2**	30,5 \pm 2,7**
3 (n=26)	176,2 \pm 15,3*	254,6 \pm 27,5*	12,3 \pm 1,5	68,5 \pm 7,2
Контрольна (n=25)	134,0 \pm 14,5	128,5,0 \pm 5,2	6,5 \pm 0,7	77,4 \pm 9,5

Примітка: Достовірність різниці: * – з групою контролю; ** – з 3 групою (показник розрахований за критерієм Манна-Уїтні, $p < 0,05$).

Середні показники Ang-2 та TGF- β 1 були підвищені у всіх хворих на ХГС з найвищими значеннями у 2 групі, що достовірно ($p < 0,01$) відрізнялося від відповідних значень хворих у групах 1 і 3. Із збільшенням рівня лептину в крові зростала ступінь стеатозу печінки, що відповідало більш високим рівням Ang 2. Сироваткові рівні лептину були значно вищими у пацієнтів з ХГС+НАЖХП, ніж у пацієнтів із ХГС. Концентрація лептину у хворих на ХГС +НАГС була підвищена у 4,2 раз, а у хворих на ХГС із простим стеатозом – у 2,9 разів, порівняно з групою контролю. При цьому сироватковий рівень адипонектину у хворих 2 та 1 груп був знижений у 2,5 раз та у 1,4 раз у порівнянні із хворими групи 3 (табл. 2).

Виявлено позитивну кореляцію значень лептину та Ang-2 ($r=0,49$; $p < 0,05$) із ступенем жирової інфільтрації печінки, тоді як аналогічний взаємозв'язок співвідношення адипонектин/лептин мав негативний характер ($r=-0,34$; $p < 0,05$). Із збільшенням рівня лептину в крові та

зменшенням коефіцієнта адипонектин/лептин зростала ступінь стеатозу печінки, що відповідало більш високим рівням Ang-2. Очевидно, що на ангиогенез впливають цитокіни, що беруть участь у формуванні НАЖХП. Лептин є адипокіном, який регулює відчуття ситості, має ключову роль у ожирінні і стимулює ангиогенез [13].

Високий рівень TGF- β 1 у хворих на ХГС асоційований із ризиком розвитку цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми, про що повідомляють Radwan MI та співавтори [14].

Висновки. 1. У хворих на ХГС+НАЖХП з підвищеною масою тіла реєструються високі сироваткові рівні ангиопоетину-2 та трансформуючого фактору росту – β 1, які позитивно корелюють із стадією жирової інфільтрації печінки та ступенем фіброзу печінки.

2. Дисрегуляторні зміни ангиопоетину-2 та трансформуючого фактору росту – β 1 можуть бути важливими біомаркерами ангиогенезу та фіброгенезу печінки у хворих на ХГС+НАЖХП з підвищеною масою тіла.

Перспективи подальших досліджень. Наступними дослідженнями є вивчення впливу противірусної терапії у хворих на ХГС на показники фіброгенезу та ангиогенезу.

Інформація про конфлікт інтересів. Автори рукопису свідомо засвідчують відсутність фактичного або потенційного конфлікту інтересів.

Інформація про фінансування. Автори гарантують, що не отримували жодних винагород у будь-якій формі, здатних вплинути на результати роботи.

Особистий внесок кожного автора у виконання роботи:

Дербак М.А. – загальне керівництво роботи, розробка концепції дослідження, формулювання мети роботи, редагування тексту статті;

Лізанець Н.В. – ідея роботи, збір матеріалу дослідження, статистична обробка отриманих результатів, аналіз та узагальнення даних, написання тексту статті.

ЛІТЕРАТУРА

- Hernández-Bartolomé Á, López-Rodríguez R, Borque MJ et al. Angiopoietin-2/angiopoietin-1 as non-invasive biomarker of cirrhosis in chronic hepatitis C. *World J Gastroenterol.* 2016 Nov 28;22(44):9744-9751. doi: 10.3748/wjg.v22.i44.9744. PMID: 27956798; PMCID: PMC5124979.
- Che Noh I, Avoi R, Abdullah Nurul A, Ahmad I, Abu Bakar R. Analysis of serum and gene expression profile of cytokines (IL-6, TNF- α and TGF- β 1) in chronic hepatitis C virus infection. *PeerJ.* 2022 Apr 20;10:e13330. doi: 10.7717/peerj.13330. PMID: 35469194; PMCID: PMC9034700.
- Amira Isaac, Tarek Maged El Sakaty, Sarah Hamdan Hussein and Hany Samir Rasmay. Angiopoietin-2 as a predictor of fibrosis regression in chronic hepatitis C virus patients after direct-acting antiviral drugs. *Egypt J Intern Med* 2021;33: 53. <https://doi.org/10.1186/s43162-021-00086-5>
- Das SK, Balakrishnan V. Role of cytokines in the pathogenesis of non-alcoholic Fatty liver disease. *Indian J Clin Biochem.* 2011 Apr;26(2):202-9. doi: 10.1007/s12291-011-0121-7. Epub 2011 Apr 7. PMID: 22468051; PMCID: PMC3107419.
- Coulon S, Heindryckx F, Geerts A, Van Steenkiste C, Colle I, Van Vlierberghe H. Angiogenesis in chronic liver disease and its complications. *Liver Int.* 2011 Feb;31(2):146-62. doi: 10.1111/j.1478-3231.2010.02369.x. Epub 2010 Nov 15. PMID: 21073649.

6. Zadorozhna M, Di Gioia S, Conese M, Mangieri D. Neovascularization is a key feature of liver fibrosis progression: anti-angiogenesis as an innovative way of liver fibrosis treatment. *Mol Biol Rep.* 2020 Mar;47(3):2279-2288. doi: 10.1007/s11033-020-05290-0. Epub 2020 Feb 10. PMID: 32040707.
7. Dewidar B, Meyer C, Dooley S, Meindl-Beinker AN. TGF- β in Hepatic Stellate Cell Activation and Liver Fibrogenesis-Updated 2019. *Cells.* 2019 Nov 11;8(11):1419. doi: 10.3390/cells8111419. PMID: 31718044; PMCID: PMC6912224.
8. Van Meeteren LA, Goumans MJ, ten Dijke P. TGF- β receptor signaling pathways in angiogenesis; emerging targets for anti-angiogenesis therapy. *Curr Pharm Biotechnol.* 2011 Dec;12(12):2108-20. doi: 10.2174/138920111798808338. PMID: 21619534.
9. Moon WS, Rhyu KH, Kang MJ et al. Overexpression of VEGF and angiopoietin 2: a key to high vascularity of hepatocellular carcinoma? *Mod Pathol.* 2003 Jun;16(6):552-7. doi: 10.1097/01.MP.0000071841.17900.69. PMID: 12808060.
10. Abd-El-Moety HA, Magour GH, Maharem DA et al. Evaluation of serum angiopoietin-II in HCV related glomerulonephritis. *Alexandria J Med* 2011; 47:97–103 <https://rdcu.be/cSH1e>
11. Eklund L, Olsen BR. Tie receptors and their angiopoietin ligands are context-dependent regulators of vascular remodeling. *Exp Cell Res.* 2006 Mar 10;312(5):630-41. doi: 10.1016/j.yexcr.2005.09.002. Epub 2005 Oct 12. PMID: 16225862.
12. Mauro E, Crespo G, Montironi C et al. Portal pressure and liver stiffness measurements in the prediction of fibrosis regression after sustained virological response in recurrent hepatitis C. *Hepatology.* 2018 May;67(5):1683-1694. doi: 10.1002/hep.29557. Epub 2018 Mar 24. PMID: 28960366.
13. She Y, Mangat R, Tsai S, Proctor SD, Richard C. The Interplay of Obesity, Dyslipidemia and Immune Dysfunction: A Brief Overview on Pathophysiology, Animal Models, and Nutritional Modulation. *Front Nutr.* 2022 Feb 17;9:840209. doi: 10.3389/fnut.2022.840209. PMID: 35252310; PMCID: PMC8891442.
14. Radwan MI, Pasha HF, Mohamed RH, Hussien HI, El-Khshab MN. Influence of transforming growth factor- β 1 and tumor necrosis factor- α genes polymorphisms on the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients. *Cytokine.* 2012 Oct;60(1):271-6. doi: 10.1016/j.cyto.2012.05.010. Epub 2012 Jun 6. PMID: 22682513.