

ПАТОМОРФОЛОГІЯ

© О.М. Гаврилук

УДК 616.36-004-02: (616.36-003.826 +616.36-002.17)-091.8

О.М. Гаврилук

**ОСОБЛИВОСТІ УЧАСТІ РІЗНИХ ПОПУЛЯЦІЙ α -SMA-ПОЗИТИВНИХ
ФІБРОГЕННИХ КЛІТИН У РОЗВИТКУ ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ, ЗУМОВЛЕНОГО
НЕАЛКОГОЛЬНИМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ ТА ВІРУСНИМ ГЕПАТИТОМ С**

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького (м. Львів)

Дослідження є фрагментом планової наукової роботи кафедри патологічної анатомії та судової медицини Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького на тему: «Вивчення патоморфологічних та патогенетичних особливостей захворювань щитоподібної залози, печінки, серцево-судинної і репродуктивної систем та пухлин системи крові з метою вдосконалення їх морфологічної діагностики» (№ держреєстрації 0108U001134)

Вступ. Однією з основних ознак циротичної трансформації при хронічних захворюваннях печінки є надмірний синтез елементів позаклітинного матриксу з формуванням сполучнотканинних септ, periцелюлярного та перисинусоїдного фіброзу. Новоутворена сполучна тканина є наслідком активації цілої групи клітин, які первинно або після відповідної трансформації здатні виконувати складну синтетичну функцію. Серед клітин так званої фіброгенної популяції можна виділити декілька варіантів, які мають спільні риси, в деяких аспектах відрізняються одна від одної [8]. До найбільш вивчених клітин відносяться печінкові зірчасті клітини (ПЗК) та портальні фібробласти [2,3]. Інші резидентні клітини, що можуть диференціюватись у міофібробласти, включають фібробласти капсули Гліссона, гладком'язові клітини судинних стінок, так звані клітини другого шару навколо центральних вен. Частина фіброгенних клітин можуть бути похідними попередників з кісткового мозку [1]. Незважаючи на різне походження та спеціалізовану функцію, всі ці клітини при активації виявляють позитивну експресію маркера α -SMA, що розцінюється в більшості досліджень як трансформація у міофібробласти (МФбл). Крім виконання синтетичної функції ці клітини здатні до проліферації, міграції, виділення цитокінів та інших функцій, які дозволяють їм відігравати важливу роль у процесах фіброзу та репарації.

Метою нашої роботи було вивчення кількісних відмінностей та особливостей локалізації α -SMA-позитивних клітин при цирозах різного походження.

Об'єкт і методи дослідження. Було проаналізовано історії хвороби та матеріали автопсійного дослідження 30 розтинів померлих з цирозом печінки, проведених у 2008-2010 р.р. у ЛОПАБ. На основі вивчення основних факторів ризику розвитку цирозу випадки були віднесені до двох патогенетичних

груп: цироз внаслідок стеатогепатиту (неалкогольного, асоційованого з метаболічним синдромом (НАСГ) та поствірусний цироз (гепатит С).

Взяті на секції шматочки тканини печінки фіксували у 10% розчині формаліну та фарбували гематоксилін-еозином для рутинного патогістологічного опису. Крім того було проведено імуногістохімічне дослідження за допомогою моноклональних антитіл до α -SMA (клон 144, DakoCytomation) та наступним використанням системи візуалізації останнього покоління EnVision (DakoCytomation). Оцінку експресії маркера проводили у відповідності з рекомендаціями інших дослідників (D.J.Dabbs, 2010). Результат вважався позитивним, якщо більше 20% клітин виявляли специфічне забарвлення.

Виразеність процесів активації клітин фіброгенної популяції визначалась за допомогою морфометричного (стереометричного) аналізу з обчислення відносної площі міофібробластів, забарвлених коричневим кольором (α -SMA -позитивних). Для цього в кожному випадку було досліджено 10 фотографій тканини печінки на малому збільшенні (x 100) для оцінки загальної відносної площі, яку займають активовані фіброгенні клітини (α -SMA заг) та 20 фотографій на великому збільшенні (x 400) для визначення портально/септальної та інтралобулярної локалізації α -SMA + клітин (α -SMAп/с, α -SMAлбл). Великі судини та жовчеві протоки виключались з дослідження. Аналіз зображення проводився за допомогою програми Image-Pro Plus (Version 6.).

Одержані дані були представлені у вигляді середніх величин \pm стандартне квадратичне відхилення. Виявлення статистично значущих відмінностей між групами проводилось з визначенням критерію Стюдента ($p < 0,05$);

Результати дослідження та їх обговорення. Загальна характеристика досліджуваного автопсійного матеріалу наведена у таблиці.

З великої групи потенційно фіброгенних клітин протягом останніх 15-20 років найбільшу увагу приділяли вивченню ПЗК. Роботи присвячені іншим клітинним популяціям зустрічались набагато рідше [4]. Ще в 2002 році було запропоновано виділення трьох популяцій мезенхімальних клітин, задіяних у фіброгенезі [5]. Перша - портальні/септальні МФбл – клітини з однаковим набором антигенів, які виявляються у внутрішній частині фіброзної септи (септальні

МФбл) або у розширених порталних трактах (портальні МФбл); походять переважно з порталних Фбл і частково з попередників із кісткового мозку. Друга - активовані ПЗК або ПЗК/МФбл виявляються переважно у капіляризованих синусоїдах, які оточують розширений порталний тракт. Третя - пограничні МФбл, які розміщуються на межі між фіброзною септою та оточуючою паренхімою; походять з активованих ПЗК (згідно антигенного профіля) і частково з попередників із кісткового мозку. В подальших дослідженнях вивчались маркери, які дозволяють розрізнити ці популяції, особливості диференціювання клітин із зміною накопичувального фенотипу у активований та варіанти їх функціональної активності (проліферація, синтез елементів

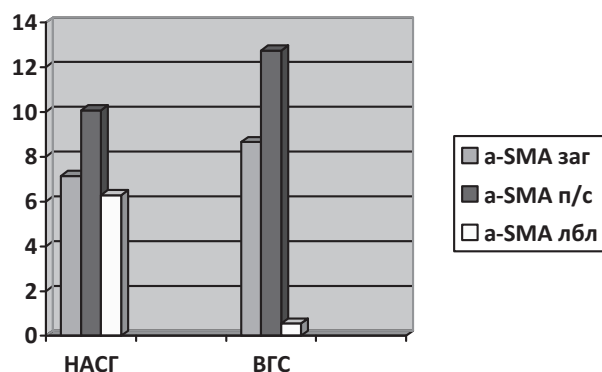


Рис. Залежність відносної площі, яку займають α -SMA –позитивні клітини, від захворювання. (α -SMA заг - загальна площа, α -SMAп/с – площа у портално/септальних ділянках, α -SMAлбл – площа інтралобулярно розміщених клітин, НАСГ – неалкогольний стеатогепатит, ВГС – вірусний гепатит С).

Таблиця

Клінічні та біохімічні дані про пацієнтів з досліджуваної групи, максимальне та мінімальне значення, (середнє арифметичне)

Параметр	Хворі на цироз зумовлений НАСГ (n=15)	Хворі на поствірусний цироз (n=15)
Стать (Ч/Ж)	5/10	11/4
Вік	52-71 (60,6)	22-60 (43,6)
Загальний білірубін крові (мМ/л)	11,9-270,3 (125,9)	37,8-419,4 (141,7)
Аланінаміно-трансфераза (мМ/л)	0,43-22,5 (8,08)	0,2-20,3 (4,8)
Протромбіновий індекс (%)	47-93 (72,4)	42-77 (59,3)

Примітка: Ч, чоловіки; Ж, жінки.

позаклітинного матриксу, міграція, виділення факторів росту та прозапальних цитокінів, скорочення у відповідь на вплив вазоактивних факторів). На основі цих даних на сьогодні можна говорити про переважачу роль ПМФбл при формуванні біліарного цирозу (первинного, після склерозуючого холангіту) [6]. В той же час лишається ще багато відкритих питань щодо участі різних мезенхімальних клітин при метаболічних/токсичних розладах та при вірусних ураженнях.

В нашому дослідженні вивчались активовані клітини з фенотипом міофібробластів, які експресують маркер α -SMA. При цьому ми приділяли основну увагу кількості таких клітин, оцінюючи відносну площу, яку вони займають, та розміщенню їх у часточці. Одержані результати свідчать про наявність особливостей кількості та локалізації активованих клітин при цирозах різного походження.

Кількість α -SMA-позитивних міофібробластів була приблизно однаковою при цирозі, зумовленому метаболічними розладами та вірусною інфекцією, в той час як локалізація їх дещо відрізнялась (рис.). При поствірусному цирозі основна маса активованих клітин знаходилась у сполучнотканинних септах. При цьому у центральних відділах септ їх було менше, а основна частина розміщувалась по

периферії септи, часто навколо новоутворених жовчечих проток («дуктулярна реакція»). Згідно даних літератури у таких пограничних ділянках популяція міофібробластів є гетерогенною і включає активовані варіанти ПФ, ПЗК та пограничних клітин. Біліарні епітеліоцити у зоні дуктулярної реакції теж активуються і виділяють фактори, що приваблюють та трансформують фенотип ПФ, які в свою чергу забезпечують процеси фіброгенезу. Кількість інтралобулярних α -SMA-позитивних міофібробластів була незначною.

При цирозах, зумовлених стеатогепатитом, у септах міофібробласти розміщувались переважно у периферійних ділянках, з найбільш вираженими скупченнями в зонах «дуктулярної реакції». Але в той же час виявлялась значна кількість інтралобулярно розміщених клітин з переважачою локалізацією по периферії часточки або біля внутрішньочасточкових ділянок склерозу. В цьому випадку, імовірно активуються всі три популяції фіброгенних клітин, включаючи ПЗК.

Висновки. Кількість α -SMA-позитивних міофібробластів достовірно не відрізнялась у випадках цирозу, зумовленого неалкогольним стеатогепатитом та вірусним гепатитом С.

Локалізація активованих міофібробластів залежала від морфогенезу змін. При поствірусному цирозі вони виявлялись переважно у ділянках септ, а при цирозі, зумовленому неалкогольним стеатогепатитом спостерігались і в септах, і в паренхіматозних вузлах.

Виявлені особливості дозволяють оцінювати роль окремих популяцій фіброгенних клітин у розвитку цирозу при різних захворюваннях печінки.

Перспективи подальших досліджень. Визначення переважання активації тієї чи іншої популяції мезенхімальних клітин при хронічних захворюваннях печінки дозволить уточнити загальну схему фіброгенезу та інших механізмів репарації, а також може використовуватись для розробки нових диференційно-діагностичних критеріїв різних нозологічних форм.

Список літератури

1. Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis / T. Kisseleva, H.Uchinami, N.Feirt [et al.] // J Hepatol. – 2006. – V.45, № 3. – P.429-438.
2. Dranoff J.A. Portal fibroblasts: underappreciated mediators of biliary fibrosis / J.A.Dranoff, R.G.Wells // Hepatology. 2010. – V. 51, № 4. – P. 1438-1444.
3. Friedman S.L. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional and enigmatic cells of the liver / S.L.Friedman // Physiol Rev. – 2008. – Vol., № 1. – P.125-172.
4. Hepatic fibrosis and cirrhosis: the (myo)fibroblastic cell subpopulations involved / C.Guyot, S.Lepreux, C.Combe [et al.] // Biochem Cell Biol. – 2006. – V.38, № 2. – P.135-151.
5. Hepatic stellate cell/myofibroblast subpopulations in fibrotic human and rat livers / D.Cassiman, L.Libbrecht, V.Desmet [et al.] // J Hepatol. – 2002. – Vol.36. – P.200-209.
6. Penz-Osterreicher M. Fibrosis in autoimmune and cholestatic liver disease / M.Penz-Osterreicher, Ch.Osterreicher, M.Trauner // 2011. – Best Pract Res Clin Gastroenterol. – 2011. – Vol.25, № 4. – P.245-258.
7. Thabut D. Intrahepatic angiogenesis and sinusoidal remodeling in chronic liver disease: new targets for the treatment of portal hypertension / D. Thabut, V. Shah // J Hepatol – 2010. – V.53, №5. – P.976-980.
8. Wells R.G. Cellular sources of extracellular matrix in hepatic fibrosis / R.G.Wells // Clin Liver Dis. – 2008. – V. 12, № 4. – P.759-764.

УДК 616.36-004-02: (616.36-003.826 +616.36-002.17)-091.8

ОСОБЛИВОСТІ УЧАСТІ РІЗНИХ ПОПУЛЯЦІЙ α -SMA-ПОЗИТИВНИХ ФІБРОГЕННИХ КЛІТИН У РОЗВИТКУ ЦИРОЗУ ПЕЧІНКИ, ЗУМОВЛЕНОГО НЕАЛКОГОЛЬНИМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ ТА ВІРУСНИМ ГЕПАТИТОМ С

Гаврилюк О.М.

Резюме. 30 автопсійних випадків цирозу печінки були проаналізовані за допомогою імуногістохімічного та морфометричного методів. Кількість α -SMA-позитивних міофібробластів достовірно не відрізнялась у випадках цирозу, зумовленого неалкогольним стеатогепатитом (НАСГ) та вірусним гепатитом С (ВГС). Локалізація активованих міофібробластів залежала від морфогенезу змін. При поствірусному цирозі вони виявлялись переважно в ділянці септ, а при цирозі, зумовленому НАСГ спостерігались і у септах і в паренхіматозних вузлах. Виявлені особливості дозволяють оцінювати роль окремих популяцій фіброгенних клітин у розвитку цирозу при різноманітних захворюваннях печінки.

Ключові слова: цироз печінки, неалкогольний стеатогепатит, вірусний гепатит С, α -SMA-позитивні міофібробласти.

УДК 616.36-004-02: (616.36-003.826 +616.36-002.17)-091.8

ОСОБЕННОСТИ УЧАСТИЯ РАЗЛИЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ α -SMA-ПОЗИТИВНЫХ ФИБРОГЕННЫХ КЛЕТОК В РАЗВИТИИ ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ, ОБУСЛОВЛЕННОГО НЕАЛКОГОЛЬНЫМ СТЕАТОГЕПАТИТОМ И ВИРУСНЫМ ГЕПАТИТОМ С

Гаврилюк Е.М.

Резюме. 30 аутопсийных случаев цирроза печени были проанализированы при помощи иммуногистохимического и морфометрического методов. Количество α -SMA-позитивных миофибробластов достоверно не отличалось в случаях цирроза обусловленного неалкогольным стеатогепатитом (НАСГ) и вирусным гепатитом С (ВГС). Локализация активированных миофибробластов зависела от морфогенеза изменений. При поствирусном циррозе они выявлялись преимущественно в области септ, а при циррозе, обусловленном НАСГ наблюдались и в септах, и в паренхиматозных узлах. Выявленные особенности позволяют оценивать роль отдельных популяций фиброгенных клеток в развитии цирроза при различных заболеваниях печени.

Ключевые слова: цирроз печени, неалкогольный стеатогепатит, вирусный гепатит С, α -SMA-позитивные миофибробласты

UDC 616.36-004-02: (616.36-003.826 +616.36-002.17)-091.8

Heterogenous Population Of α -SMA-positive Myofibroblasts In The Development Of Liver Cirrhosis Caused By Non-Alcoholic Steatohepatitis And Viral Hepatitis C

Gavrilyuk E.M.

Summary. 30 autopsies of patients with liver cirrhosis were analysed using immunohistochemistry and morphometry. Amount of α SMA-positive myofibroblasts is the same in the cases of cirrhosis caused by non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and viral hepatitis C. Localization of activated myofibroblasts depends on the morphogenesis of process. In postviral cirrhosis they are revealed mostly in the septal area, and in cirrhosis caused by NASH – in the both compartments: parenchymal nodules and septa. These findings allow to appreciate role of heterogenous fibrogenic cell population in the development of cirrhosis caused by different etiologic factors.

Key words: liver cirrhosis, non-alcoholic steatohepatitis, viral hepatitis C, α -SMA-positive myofibroblasts.

Стаття надійшла 12.04.2012 р.

Рецензент – проф. Гасюк А.П.