

МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ НА РАЗНЫХ СТАДИЯХ ФИБРОЗА

Абаимова М.О.¹ (ассистент кафедры нормальной физиологии), Лебедева Е.И.² (к.б.н., доцент кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии), Бабенко А.С.¹ (к.х.н., доцент кафедры биоорганической химии)

¹Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

²Витебский государственный медицинский университет, г. Витебск

Аннотация. Целью настоящей работы явилось изучение экспрессии иммуногистохимических маркеров CD34 и CD31 эндотелиальными клетками печени на разных стадиях фиброза.

Фиброз печени у крыс-самцов Вистар моделировали раствором тиацетамида. Для выявления соединительной ткани срезы печени окрашивали по методу Ван-Гизона и Маллори. В девяти временных точках исследовали экспрессию иммуногистохимических маркеров CD34 и CD31 эндотелиальными клетками. Гистологические препараты изучали с помощью микроскопа OLYMPUS BX51.

Результаты исследования показали, что в норме в центрлобулярной и перипортальной зонах классической печеночной долилки клетки CD31⁺ характеризуются более интенсивной иммуногистохимической окраской, а в промежуточной зоне отмечено снижение их окраски. Вместе с тем маркер CD34 не экспрессируется синусоидными эндотелиальными клетками.

Клетки CD34⁺ в синусоидных капиллярах на начальных стадиях фиброза не визуализировались. При прогрессирующей узловой перестройке паренхимы (стадия фиброза F5) в синусоидах ближе к периферии отдельных ложных долек наблюдали появление клеток CD34⁺ вытянутой формы.

Таким образом, в норме и при прогрессирующем фиброзе печени крыс Вистар токсической этиологии в синусоидных капиллярах выявлена гетерогенность эндотелиальных клеток иммуногистохимическим методом.

Ключевые слова: крысы, фиброз и цирроз печени, иммуногистохимия, клетки CD34⁺ и CD31⁺.

Введение. Внутрипеченочное сосудистое русло – это уникальная высоко регулируемая многокомпонентная система. Портальные сосуды, поддольковые вены выстланы непрерывными эндотелиальными клетками (ECs), расположенными на базальной мембране. Синусоидные капилляры формируют высокоспециализированные эндотелиальные клетки фенестрированного и синусоидного типов. На сегодняшний день среди исследователей их принято называть синусоидными эндотелиальными клетками печени (LSECs). В последнее время появляются работы, свидетельствующие о гетерогенности ECs на уровне транскриптома [1, 2, 3]. В изученной литературе данные о морфологической гетерогенности ECs при прогрессирующем токсическом фиброзе печени не многочисленны. Мы предполагаем, что фиброгенез печени характеризуется фенотипическими изменениями ECs.

В соответствии с вышесказанным, **целью настоящей работы** явилось изучение экспрессии иммуногистохимических маркеров CD34 и CD31 эндотелиальными клетками печени на разных стадиях фиброза.

Материал и методы. В работе использовали крыс-самцов Вистар массой 190-210 г. Протокол исследования одобрен комиссией по биоэтике и гуманному обращению с лабораторными животными Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета (Протокол № 6 от 03.01.2019 г.). Фиброз печени моделировали путем хронической интоксикации тиаоацетамидом. Свежеприготовленный раствор тиаоацетамида вводили интрагастрально через зонд в дозе 200 мг/кг массы тела 2 раза в неделю в течение 17 нед. Крысы контрольной группы (n=12) получали воду без тиаоацетамида в аналогичном объеме. Животных рандомизировали на 8 групп (n=12 в каждой) в зависимости от длительности воздействия тиаоацетамида.

Для выявления соединительной ткани срезы печени окрашивали по методу Ван-Гизона и Маллори. Степень фиброза (F) определяли согласно полуколичественной шкале Ishak K.G.

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах. Использовали поликлональные мышинные антитела CD34 (номер в каталоге E-AB-60105, разведение 1:100) и моноклональные мышинные антитела CD31 (номер в каталоге E-AB-70173, разведение 1:500) в соответствии с инструкцией производителя. Для достоверной интерпретации результатов исследований в группах животных использовали положительный и отрицательный контроли. Гистологические препараты изучали с использованием компьютерных программ ImageScope Color и cellSens Standard на базе микроскопа OLYMPUS BX51.

Результаты исследования. При микроскопическом изучении гистологических препаратов печени крыс через 9 нед эксперимента вблизи портальных зон наблюдали единичные ложные печеночные дольки. Произошла узелковая перестройка паренхимы печени. Степень фиброза по шкале Ishak K.G. была равной F4/F5. По завершении эксперимента (17 нед, F6) выявили крупноочаговый некроз гепатоцитов, в отдельных гистологических препаратах – тотальный некроз с полной дисконфлексацией пластинчатого строения долек, очаговые кровоизлияния в паренхиме и серозный отек.

В печени интактных и всех опытных крыс ECs, локализованные в междольковых артериях, а также в междольковых, центральных и поддольковых вен экспрессировали маркеры CD34 и CD31.

В синусоидных капиллярах печени контрольной группы животных клетки CD34⁺ не определялись, а маркер CD31 проявлял зональность. В центролобулярной и перипортальной зонах классической печеночной долики визуализировались клетки CD31⁺ с более интенсивной иммуногистохимической окраской, а в промежуточной зоне наблюдалось снижение их экспрессии. Морфологическая гетерогенность LSECs, вероятно, является результатом избирательного воздействия кислорода, питательных веществ и токсинов, движущихся с током крови по синусоидному капилляру в

направлении от портального пространства к центральной вене. На всех последующих сроках зонозависимая гетерогенность экспрессии маркера CD31 не выявлялась. Предположительно, это связано с процессом капилляризации синусоидов.

Проведенные иммуногистохимические исследования показали, что на начальных стадиях фиброза в синусоидных капиллярах клетки CD34⁺ отсутствовали. При прогрессирующей узловой трансформации паренхимы (стадия фиброза F5) в синусоидах ближе к периферии отдельных ложных долек отмечали клетки CD34⁺ вытянутой формы. Необходимо отметить, что эти клетки CD34⁺ имели округло-вытянутые ядра и более светлую окраску по сравнению с клетками CD34⁺ вен и артерий. Преимущественно они контактировали друг с другом с образованием цепочек. Ввиду того, что белок CD34 является маркером мезенхимальных стволовых/предшественников эндотелиальных клеток/эндотелиальных клеток нельзя исключать факт миграции клеток CD34⁺ из костного мозга для участия в патологическом ангиогенезе (перестройка сосудистого русла при формировании ложных печеночных долек) и/или других компенсаторно-регенераторных процессах.

Заключение. В условиях физиологической нормы и при прогрессирующем фиброзе печени крыс Вистар токсической этиологии в синусоидных капиллярах выявлена иммуногистохимическая гетерогенность эндотелиальных клеток.

Список литературы:

1. Engineered matrix microenvironments reveal the heterogeneity of liver sinusoidal endothelial cell phenotypic responses / A. Brougham-Cook [et al.] // APL Bioeng. – 2022. – Vol. 6, N 4. – P. 046102. doi: 10.1063/5.0097602.
2. Emerging Roles of Liver Sinusoidal endothelial cells in nonalcoholic steatohepatitis / K. Furuta [et al.] // Biology (Basel). – 2020. – Vol. 9, N 11. – P. 395. doi: 10.3390/biology9110395.
3. Resolving the fibrotic niche of human liver cirrhosis at single-cell level / P. Ramachandran [et al.] // Nature. – 2019. – Vol. 575, N 7783. – P. 512-518. doi: 10.1038/s41586-019-1631-3.

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ «ВИТЕБСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ДРУЖБЫ НАРОДОВ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»**

**«СТУДЕНЧЕСКАЯ МЕДИЦИНСКАЯ НАУКА
XXI ВЕКА»**

*XXIII Международная научно-практическая конференция
студентов и молодых ученых*

26-27 октября 2023 г.

Витебск, 2023