

İTO Hücrelerinin Kronik C Hepatitine Bağlı Fibrozisde Rolü

THE ROLE OF ITO CELLS IN THE FIBROSIS DUE TO CHRONIC C HEPATITIS

Figen DORAN*, Melek ERGİN**, Aysun UĞUZ***,
Derya GÜMÜRDÜLÜ**, Yüksel GÜMÜRDÜLÜ****

* Doç.Dr., Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD,
** Yrd.Doç.Dr., Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD,
*** Araş.Gör.Dr., Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji AD,
**** Uz.Dr., Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD, ADANA

Özet

Hepatit C virüs enfeksiyonunun prevalansı ABD, Japonya, Çin ve Güney Asya'da genel popülasyon içinde %1 olarak belirlenmiştir (1). Ülkemizde de hastalığın prevalansının bu orana yaklaşık olduğu tahmin edilmektedir. Bu oran dünyada bölgelere göre %5-6 arasında değişmektedir. Hepatit C'de kollajen tip I'in sorumlu olduğu hepatik fibrozis söz konusudur ancak fibrogenezisin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Hepatik stellate (İto) hücrelerinin aktivasyonu bu hücrelerin kollajen oluşumunu stimüle etmeleri nedeniyle önemli bir adımdır.

Bu çalışmada kronik C hepatiti tanısı almış 35 olguda Anti- Alfa Smooth Muscle Actin (α -SMA) kullanılarak İto hücre dansitesi gösterilmeye çalışıldı. Normal karaciğer olgularından kontrol grubu oluşturuldu ve hepatit C olgularıyla karşılaştırılarak periportal, perisantral intralobüler karaciğer bölgelerinde İto hücre dağılımları değerlendirildi. Şiddetli derecede kronik hepatit C ve hepatit C sonrası siroz olgularında daha da belirgin olmak üzere tüm kronik hepatit C olgularında özellikle periportal ve intralobüler bölgelerde daha belirgin olmak üzere İto hücre sayısında belirgin artış dikkati çekti.

Anahtar Kelimeler: Kronik C hepatiti, İto hücreleri, Fibrosis

T Klin Gastroenterohepatol 2000, 11:57-60

Summary

Prevalance of hepatitis C viruse infection is determined as 1% in general population of USA, Japanese, China and South Asia. Prevalance of our country is estimated that nearly this ratio. In hepatitis C, hepatic fibrosis is existed which collagen type I is responsible from this. But mechanism of the fibrogenesis is exactly unknown. The activation of the hepatic stellate (Ito) cells is an important step because, these cells stimulate the collagen synthesis.

In this study, we tried to display ito cell's density with using the Anti-Alfa Smooth Muscle Actin (α -SMA) in the 35 hepatitis C cases. The control group is made from the normal liver cases and the distribution of ito cells are determined in periportal, pericentral, intralobular liver sites. A significant rising is noticed with the number of ito cells especially in the periportal and intralobular sites.

Key Words: Chronic C hepatitis, Ito cells, Fibrosis

T Klin J Gastroenterohepatol 2000, 11:57-60

Hepatit C olgularında kollajen çatının intralobüler, perivenüler ve periportal orijinleri tam

Geliş Tarihi: 18.09.1999

Yazışma Adresi: Dr.Figen DORAN
Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Patoloji AD, ADANA

Not: Bu çalışma 11-17 Nisan 1999 tarihinde Kuşadası'nda yapılan XIV. Ulusal Patoloji Kongresinde poster bildiri olarak sunulmuştur.

T Klin J Gastroenterohepatol 2000, 11

olarak bilinmemektedir. Edmondson ve arkadaşları (2) ilk kez skleroza giden hyalin nekrozda skarlaşmanın santrlobüler dağılımını göstermişler, alkolik karaciğer hastalıklarında perivenüler sklerozun patogenezi aydınlatmak amacıyla birkaç çalışma yapmıştır (3). Perivenüler ve intralobüler skarlaşmada ito hücrelerinin, hepatositlerin, fibroblastların ve myofibroblastların etkin olduğuna dair değişik araştırmalar literatürde yer almıştır (4,5). Ayrıca bu hücrelerin hepatik kollajen sentezindeki rolü bazı

deneysel çalışmalara konu olmuştur (6). Karaciğer fibrozisi sırasında ito hücreleri A vitamini damlacıklarını yitirirler, endoplazmik retikulumları ve mikroflaman bantları artar. Bu şekilde aktive olmuş ito hücreleri myofibroblastlara benzer bir morfoloji sergiler (5,7).

Bu çalışmada hepatit C olgularında ito hücrelerinin periportal, perivenüler ve intralobüler fibrozisdeki rolleri araştırılmıştır.

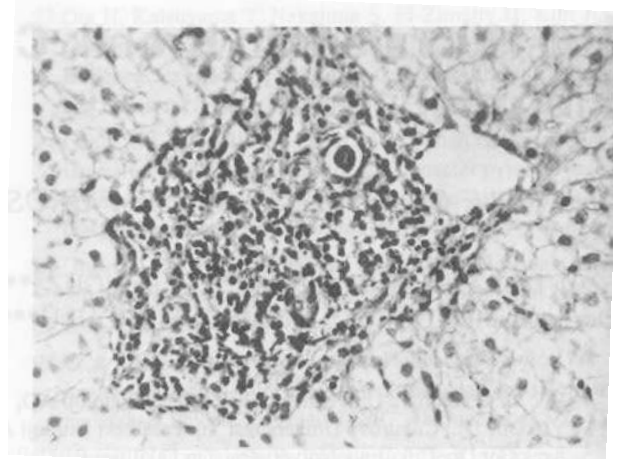
Materyel ve Metod

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı'nda Hepatit C tanısı almış 28 olgu ile Hepatit B + C tanısı almış 7 olgu çalışma grubuna seçildi. Tüm olgularda kronik hepatitlerde derece ve evrelendirme için uygulanan hepatik aktivite indeksi tayini amacıyla "Knodell skorlaması" yapıldı, olguların grade ve stajeleri belirlendi. Hepatit B + C olgularının tümünün grade'i "şiddetli derecede" olarak değerlendirildi. Hepatit C olgularının ise 13'ü "şiddetli derecede", 11'i "orta derecede", 2'si "hafif derecede şiddetli" kronik hepatit C, 2 olgu ise kronik hepatit C sonrası gelişmiş siroz olarak değerlendirildi (Şekil 1). Tüm olgularda immünohistokimyasal yöntemle Hbs Ag, Hbc Ag ve HCV çalışıldı, morfolojik bulgular immünohistokimyasal verilerle desteklendi. Otopsi olgularından elde edilen normal karaciğer dokuları kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edildi.

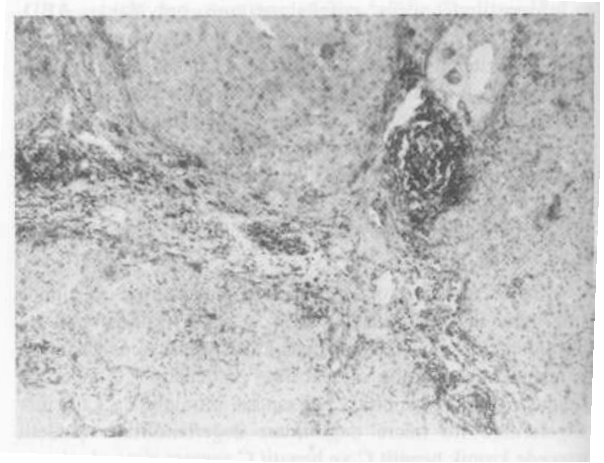
Strept-Avidin-Biotin immünperoksidaz tekniği ile (8) Alfa-Smooth Muscle Actin (α -SMA, Novocastro, 1/50) antikoruna uygulandı. İto hücreleri herbir büyük büyütme alanında (x400) sayıldı. Portal alan çevresi (Zon 1), intralobüler alan (Zon 2) ve santral ven çevresi (Zon 3) ayrı ayrı değerlendirildi (9-11). Veriler morfolojik grupların istatistiksel karşılaştırılmaları şeklinde yorumlandı (t-test).p değerinin<0,005 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ancak inflamatuvar reaksiyonun ve fibrozisin yoğun olduğu alanlarda ito hücrelerinin farkedilmesi güç olduğundan sayılar \pm 2 hücre olarak değerlendirildi.

Bulgular

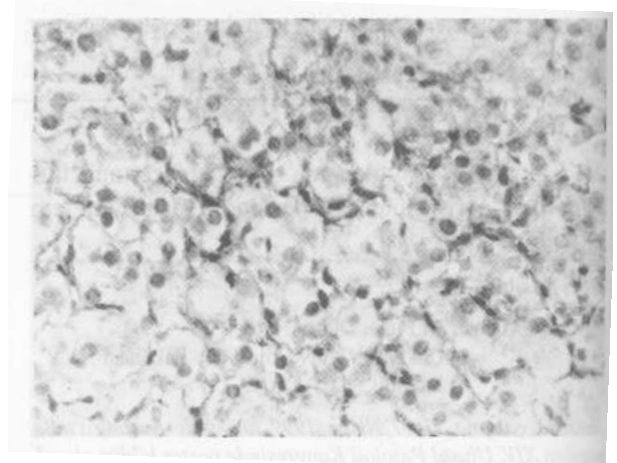
Normal insan karaciğerinde α -SMA pozitif hücreler perisinüzoidal boşluklar içerisinde, portal traktda vasküler duvarda ve santral vende gözlenir. Bu hücrelerin sayısının periportal bölgede,



Şekil 1. Kronik Hepatit C olgusunda zon 1'de lenfoid follikül oluşturma eğilimi gösteren mononükleer iltihabi hücre infiltrasyonu ve fibrozis (HEX200).



Şekil 2. Kronik Hepatit C sonrası gelişmiş siroz olgusunda fibrotik alanlarda ve zon 2'de α -SMA pozitif hücreler (İmmünperoksidaz X 200).



Şekil 3. Zon 3 α -SMA pozitif hücreler (İmmünperoksidaz X 200).

perisantral ve intermediate zona göre daha az olduğu bildirilmektedir (9,10). Perisinüzoidal boşluklarda yer alan α -SMA pozitif hücrelerin yıldız şekilli, dentritik sitoplazmik uzantılara sahip hücreler olduğu görülmüş, portal fibrozisin artması ile α -SMA pozitif hücrelerin de portal alan çevresinde arttığı saptanmıştır. Parankimal nekroz, inflamatuvar ya da mezenkimal reaksiyon bölgelerinde ito hücrelerinin sayılarının değerlendirilmesi oldukça zor olduğundan sayılar ± 2 hücre olarak verilmiştir. Aynı olgularda zon 1, zon 2 ve zon 3'de ito hücre sayısının belirgin farklılıklar göstermediği ancak şiddetli derecede kronik hepatit C ve hepatit C sonrası siroz olgularında ise ito hücre sayısının orta ve hafif şiddetteki kronik hepatit C olgularına göre belirgin artış gösterdiği dikkati çekmiştir (Şekil 2,3). Zon 1'de izlenen İto hücreleri sayısı kontrol grubuna göre hasta grubu değerlendirildiğinde $p= 0.000$, zon 2'de $p= 0.002$, zon 3'de ise $p= 0.000$ olarak tespit edilmiş ve sonuçlar anlamlı olarak saptanmıştır. Morfolojik olarak bu hücrelerin özellikle şiddetli olgularda yağ damlacıkları içermediği gözlenmiştir.

Tartışma

Aktin 6 izotipe sahiptir. α -SMA vasküler ve intestinal düz kas hücrelerinde ve perisitlerde bulunur, fakat fibroblastlarda ve endotelial hücrelerde yoktur (11). Myofibroblastlar ise iyileşen yarada ve fibromatozis, skleroderma gibi fibrokontraktif hastalıklarda izlenir. Bunlar desmin ile pozitif reaksiyon vermekle birlikte α -SMA ile boyanmazlar. Normal karaciğerde de ito hücreleri α -SMA ile pozitif boyanır. Fakat desmin ile pozitif boyanma göstermez. Normal karaciğerde ito hücreleri perisinüzoidal boşluklarda yer alır ve A vitamini içeren lipid damlacıklarını barındırır. α -SMA ekspresyon eden ito hücreleri fetal ve adolesan karaciğerinde dağınık olarak bulunur, fakat adult karaciğerinde az sayıdadır (12).

Kronik hepatit olgularında α -SMA pozitif hücreler insan karaciğerinde hepatik fibrozisin progresyonunda önemli bir rol oynarlar (13-15). İto hücreleri ya da yağ depo eden perisinüzoidal hücreler ilk kez İto ve Nemato tarafından tarif edilmiştir. Bu hücreler Disse boşluğu içerisinde hepatosit ile sinüzoidal döşeyici hücreler arasında yer alır ve karaciğerde fibroblastların inaktif prekürsör-

leri olduğu düşünülür (6). Bu hücrelerin aktivasyonu içerdikleri yağ damlacıklarının sayısı ve boyutu olarak azalması ile açıklanabilir. Aktive olmuş ito hücreleri ışık mikroskopunda net olarak görülemeyebilir, hatta elektron mikroskop düzeyinde de ito hücrelerini fibroblastlardan ayırmak bazen güç olabilir. Belki de bu ayırım zorluğu ito hücrelerinin fibroblastlara transformasyonunun evresini açıklamaktadır (16,17). Nitekim Kent ve arkadaşları, ito hücreleri ve fibroblastlar arasındaki geçiş formlarını tarif etmişlerdir. Yine Kent ve arkadaşlarının raporlarında hepatosellüler nekroz, fibrozis ve ito hücrelerinin fibrinojenik aktivitesi arasında belirgin bir bağlantı olduğundan söz edilmektedir (16).

Bu çalışmada normal karaciğer dokusunda az sayıda gözlenen α -SMA pozitif ito hücrelerine karşılık kronik hepatit C olgularında fibrotik alanlar çevresindeki mezenkimal dokuda belirgin α -SMA ekspresyonu gösteren hücreler dikkati çekmiştir. Pek çok fibroblastta benzer hücrelerin ito hücrelerinden köken aldığı gerçeği ile, kronik hepatit olgularında ve özellikle hepatosellüler dejenerasyon ve inflamasyon alanlarında bol ito hücrelerinin bulunması sürpriz değildir (5,14,15). Bu çalışmada da ito hücreleri hepatik dejenerasyon ve skarlaşma odaklarında çok sayıda gözlenmiştir. Böylece morfolojik ve immünohistokimyasal bulgularımız kronik C hepatitinde fibrogenesis boyunca lipositlerin vitamin A damlacıklarını kaybettiği ve ito hücrelerinin myofibroblastik hücrelere transforme olduğunu düşündürmüştür.

KAYNAKLAR

1. Lee RG. Diagnostic liver pathology. Mosby, 1. edition St. Louis, 1994.
2. Edmondson HA, Peters RL, Reynolds T, et al. Sclerosing hyaline necrosis of liver in the chronic alcoholic: A recognizable clinical syndrome. Ann Intern Med 1963; 59: 546-672.
3. Hahn EG, Timpl R, Nakano M et al. Distribution of hepatic collagen, elastin and structural glycoproteins during the development of alcoholic liver injury in baboons, abstracted. Gastroenterol 1980; 79:1024.
4. Gazelian PS, Qureshi D, Diegelmann RF. Collagen synthesis by hepatocyte: Studies in primary cultures of parenchymal cells from adult rat liver. Coll Res 1981; 1:83-93.
5. Enzan H, Himeno H, Iwamura S, Saibara T, Onishi S, Yamamoto Y, Hara H. Immunohistochemical identification of Ito cells and their myofibroblastic transformation in adult human liver. Virchows Arch 1994; 424: 249-56.

6. Okanoue T, Burbige EJ, French SW. The role of the ito cell in perivenular and intralobular fibrosis in alcoholic hepatitis. *Arch Pathol Lab Med* 1983; 107: 459-63.
7. Minato Y, Hasumura Y, Takeuchi J. The role of fat storing cells in Disse space fibrogenesis in alcoholic liver disease. *Hepatology* 1983; 559-66.
8. Naish S J (ed). *Handbook: Immunochemical staining methods*. Carpinteria: DAKO Corporation 1989.
9. Skalli O, Ropraz P, Trzeciak A, Benzouana G, Gillesen D, Gabbiani G. A monoclonal antibody against α -smooth muscle actin: A new probe for smooth muscle differentiation. *J Cell Biol* 1986; 103: 2787-96.
10. Yamaoka K, Nouchi T, Marumo F, Sato C. α -smooth muscle actin expression in normal and fibrotic human livers. *Digestive Disease and Sciences* 1993; 38: 1473-79.
11. Sappino AP, Schürch W, Gabbiani G. Differentiation repertoire of fibroblastic cells: Expression of cytoskeletal proteins as marker of phenotypic modulations. *Lab Invest* 1990; 63: 144-61.
12. Schmitt-Graff A, Kruger S, Bochar F, Gabbiani G, Denk H. Modulation of alpha smooth muscle actin and desmin expression in perisinusoidal cells of normal and diseased human livers. *Am J Pathol* 1991; 138: 1233-42.
13. Sakaida I, Nagatomi A, Hironaka K, Uchida K, Okita K. Quantitative analysis of liver fibrosis and stellate cell changes in patients with chronic hepatitis C after interferon therapy. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 489-96.
14. Mederle O, Raica M. Immunohistochemical identification of ito-cells with smooth muscle cell anti-actin in normal and pathological liver. *Rom J Morphol Embryol* 1997; 43: 39-43.
15. Casu A, Canepa M, Nanni G. Perisinusoidal stellate cells or Ito cells and their role in hepatic fibrosis. *Pathologica* 1994; 86: 467-99.
16. Kent G, Gay S, Inouye T et. al. Vitamine A containing lipocytes and formation of type III collagen in liver injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 1976; 73: 3719-22.
17. Terada T, Makimoto K, Terayama N, Suzuki Y, Nakanuma Y. Alpha-smooth actin-positive cells in cholangiocarcinomas, hepatocellular carcinomas and metastatic liver carcinomas. *J Hepatol* 1996; 24: 706-12.