

ХАРАКТЕРИСТИКА ФЕНОТИПОВ СТЕЛЛАТНЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ С

И. А. Кондратович, В. М. Цыркунов, В. П. Андреев, Р. И. Кравчук

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь



Введение. Стеллатные клетки печени (HSC) играют ключевую роль в развитии фиброза печени при разных поражениях.

Цель. Представить структурно-функциональную и количественную характеристику разных фенотипов HSC при хроническом гепатите С (ХГС).

Материал и методы. Объектом исследования были 18 биоптатов печени пациентов с верифицированным ХГС (РНК HCV+ в ПЦР). Стадию фиброза печени оценивали по Metavir. Структурно-функциональную и количественную характеристики разных фенотипов 160 проанализированных HSC при разных стадиях фиброза при ХГС оценивали по результатам световой (полутонкие срезы) и электронной микроскопии с установлением в каждом биоптате размеров средней площади, длины и ширины одного ПСЛ, количества липидных капель во всех и в одном ПСЛ, средней площади, длины и ширины одной липидной капли.

Результаты. На разных стадиях фиброза при ХГС одновременно у пациента выявлялись все три фенотипа HSC, которые имели различия по основным структурным и количественным параметрам. Преимущественно (44,4%) выявлялись HSC, соответствующие неактивированному (спящему) фенотипу, реже (20,6%) – к активному (миофибробластическому) фенотипу. По мере активации HSC происходило изменение формы клеток (звездчатая-вытянутая), уменьшение количества липидных капель в клетке без изменения размеров включений), изменение цитоплазматического/ядерного отношения в сторону увеличения ядра. Частота распределения фенотипов зависела от стадии фиброза печени.

Выводы. У пациентов с ХГС характерно наличие всех трех фенотипов HSC, различающихся между собой по структурным и количественным характеристикам, частота которых зависит от стадии фиброза печени, что важно учитывать в диагностике развития и регресса фиброза в печени при оценке эффективности антифиброзной терапии.

Ключевые слова: стеллатные клетки, фенотипы, гепатит С.

Для цитирования: Характеристика фенотипов стеллатных клеток печени при хроническом гепатите С / И. А. Кондратович, В. М. Цыркунов, В. П. Андреев, Р. И. Кравчук // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2022. Т. 20, № 4. С. 393-399. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2022-20-4-393-399>

Введение

Стеллатные клетки печени (перисинусоидальные липоциты) (Hepatic Stellate Cell, HSC) составляют одну треть непаренхиматозной популяции или около 15% от общего числа резидентных клеток в нормальной печени [1]. Средняя объемная плотность HSC $1,88 \pm 0,25\%$ объема паренхимы, а количество HSC на 1000 гепатоцитов (клеточный индекс Ито) – $63,45 \pm 19,18$. Зональное распределение показало их преимущественную локализацию в центрлобулярных, а не в перипортальных областях, а высокие коэффициенты вариации свидетельствуют о том, что для оценки объемных или числовых изменений HSC необходимы количественные характеристики [2, 3].

В здоровой печени HSC находятся в непролиферативном состоянии (покоя) в пространстве Диссе, имеют звездообразную форму с длинными отростками, идущими вдоль и вокруг синусоидов и между пластинками гепатоцитов (рис. 1) [4]. Наиболее характерный признак HSC – наличие в них цитоплазматических включений (перинуклеарных липидных капель), содержащих витамин А в виде ретинилпальмитата. HSC участвуют в регуляции кровотока в синусоидах, регуляции внеклеточного матрикса (ECM), детоксикации лекарств, иммунотолерантности,

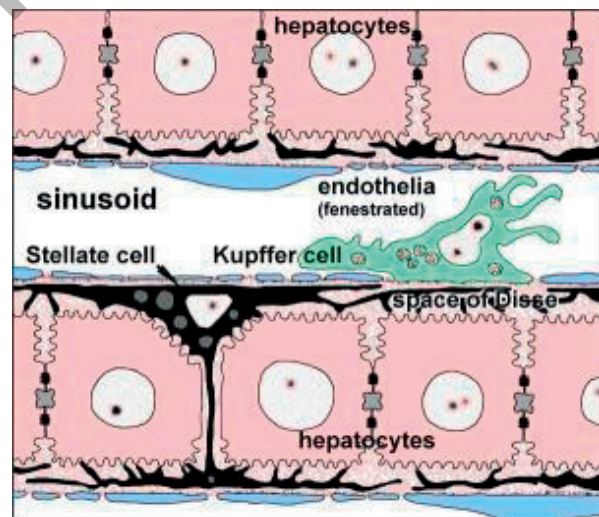


Рисунок 1. – Взаимоотношения эпителиальных и синусоидальных клеток печени. HSC (Stellate cell) располагаются внутри пространства Диссе, образованного синусоидальным слоем клеток и тяжами гепатоцитов [4]

Figure 1. – Inter-relations between epithelial and sinusoidal liver cells. HSC (Stellate cell) are located inside the space of Disse, formed by sinusoidal layer of cells and strands of hepatocytes [4]

сохранении массы гепатоцитов за счет секреции митогенов [5].

При повреждении печени HSC активируются для трансдифференцировки в миофибробласты (MFB), теряют липидные капли, приобретают пролиферативный и мигрирующий потенциал с заменой звездчатой формы на фенотип, характерный для MFB и фибробластов (FB). При этом происходит экспрессия большого количества белков ECM: альфа-гладкомышечного актина (α -SMA), матричных металлопротеиназ (MMPs) и их специфических тканевых ингибиторов (TIMPs).

На ранних стадиях поражения HSC временно экспрессируют MMP-3, MMP-13 и активатор уроплазминогена (uPA), проявляют фенотип разрушения ECM, а на более поздних стадиях картина меняется и HSC экспрессируют комбинацию MMP, обладающих способностью разрушать нормальный ECM, ингибируя при этом деградацию фибриллярных коллагенов, которые накапливаются при фиброзе печени (рис. 2) [6-9].

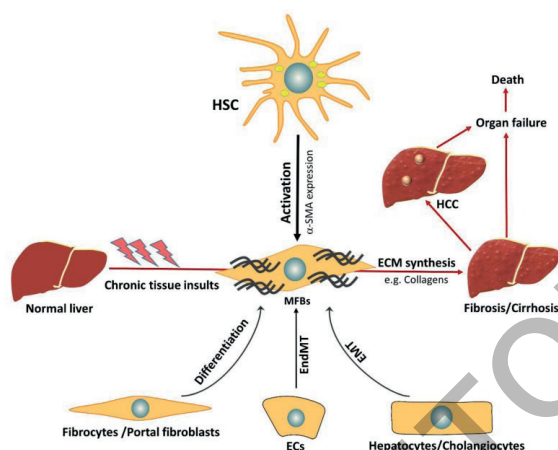


Рисунок 2. – Активация HSC и происхождение миофибробластов (MFB) при хронических заболеваниях печени [7]

Figure 2. – HSC activation and myofibroblast (MFB) origin in chronic liver diseases [7]

В настоящее время считают, что MFB, происходящие из HSC и порталных FB, имеют разные морфологические характеристики и что их механизмы активации и деактивации не идентичны, в частности, активированные порталные FB/MFB работают как «MFB для холангиоцитов», тогда как HSC работают как «MFB для гепатоцитов» [10].

MFB, происходящие из HSC, могут терять экспрессию α -SMA, не подвергаясь гибели клеток, тогда как MFB, происходящие из порталных FB, погибают в результате апоптоза. Таким образом, HSC представляют более пластичный фенотип по сравнению с порталными FB, у которых дифференцировка FB в MFB более полная и менее обратима [11]. Однако надежные визуальные маркеры, позволяющие дифференцировать MFB, происходящие из HSC и порталных FB, пока неизвестны [12].

Идентификация HSC как ключевого клеточного источника ECM в печени была большим достижением, так как до 1980-х гг. главным производителем ECM признавали гепатоциты [13]. По мнению некоторых авторов, липоциты принято определять как перисинусоидальные клетки при объеме липидных капель более 20% от объема клетки и наоборот, переходные (активированные) – с объемом липидных капель менее 20% от объема клетки. Переходные клетки имеют меньшее клеточное тело, но большую площадь шероховатого эндоплазматического ретикулума (rER) – надежного критерия интенсивности синтеза белка [14].

Несмотря на многочисленные исследования, посвященные HSC, в доступной литературе недостаточно сведений, характеризующих количественные параметры визуализации разных фенотипов HSC.

Цель исследования – представить структурно-функциональную и количественную характеристику разных фенотипов HSC при хроническом гепатите C (ХГС).

Материал и методы

Объектом исследования были 18 биоптатов от пациентов с ХГС (РНК HCV+ в ПЦР), находящихся на разных стадиях фиброза печени.

Для световой микроскопии образцы печени фиксировали в 10% растворе формалина. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, основным фуксином и по Ван-Гизону. Электронно-микроскопическое изучение проводили в биоптатах печени, фиксированных 1% раствором четырёхокси осмия на 0,1 М буфере Миллонига, pH 7,4 при +4°C в течение 2 часов [15]. После дегидратации в спиртах восходящей концентрации и ацетоне образцы заливали в смеси эпон-аралдит и метил-бутил эфиры метакриловой кислоты. Из полученных блоков на ультратомикоме MT-7000 ULTRA (USA) готовили полутонкие срезы, которые окрашивали метилевым синим, азуром II и основным фуксином. Препараты изучали в световом микроскопе и выбирали участок для дальнейшего изучения ультраструктурных изменений (для соблюдения стандартности при окончательной заточке образца печени отбирали однотипные участки печёночной дольки). Затем изготавливали ультратонкие срезы, которые контрастировали 2% раствором уранилацетата на 50% метаноле и цитратом свинца по E. S. Reynolds [16]. Электронно-микроскопические препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (Япония) при увеличениях 5000-30000 при ускоряющем напряжении 80 кВт. Для изучения биоптата на полутонких срезах кусочки размером 1 мм³ фиксировали методом двойной фиксации: вначале фиксировали по методике Sato Taizan [17], затем образцы ткани в течение 1 часа дополнительно фиксировались в 1% осмиевом фиксаторе. После дегидратации образцов в серии спиртовых растворов возрастающей концентрации и ацетоне они помещались в преполимеризованную смесь бутилового метакрилата и стирола, поли-

меризовались при 60° С. Оба морфолога до проведения исследований не были информированы о пациентах и характере патологии.

Всего в 18 биоптатах печени пациентов с ХГС подлежали визуализации 160 HSC, отнесенных нами к разным фенотипам, описание и количественные характеристики которых представлены в таблице 1 и на рисунках. Стадию фиброза печени оценивали по Metavir (1994).

При разделении HSC на фенотипы использованы описания классических вариантов HSC, представленные в литературе, и предложенные нами количественные характеристики: средняя площадь, длина и ширина одного HSC, количество липидных капель во всех и в одном HSC, средняя площадь, длина и ширина липидной капли.

Обработка результатов включала методы описательной и непараметрической статистики с использованием стандартной лицензионной программы STATISTICA 10.0.

Результаты и обсуждение

Количественные параметры разных фенотипов HSC представлены в таблице 1.

Большинство HSC (44,4%) были отнесены к неактивированному (спокойному) фенотипу и по светооптическим параметрам характеризовались вытянутыми, «звездчатыми», треугольными формами с множеством липидных капель, равномерно заполняющих все цитоплазматическое пространство клетки, оттесняя на периферию ядро. Данный фенотип HSC заметно отличался от других большим содержанием липидных капель (в отдельных случаях до 30 в одной

клетке), от больших до малых (преобладали) размеров, разных по форме и диаметру, в отличие от других фенотипов (рис. 3).

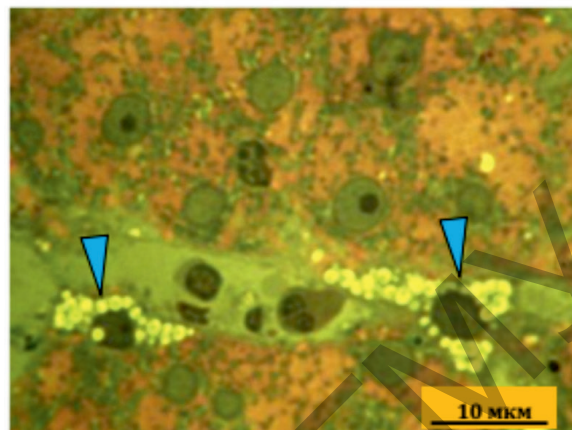


Рисунок 3. – Фенотип HSC, находящихся в «спокойном» состоянии, в цитоплазме которых множество капель липидов. Полутонкий срез. Окраска: азур II-основной фуксин

Figure 3. – The phenotype of HSCs in "calm" state, in the cytoplasm of which there are many lipid drops. Semi-thin section. Azure II-basic fuchsin stain

Особо заметные различия неактивированного фенотипа HSC зафиксированы на электронограмме, на которой были видны крупные липидные капли, окружающие ядро клетки и оттесняя его на периферию липидными включениями малых размеров (рис. 4). Избыточное давление на другие внутриклеточные органеллы приводило к их смещению на периферию клетки, что было видно по слаборазвитой эндоплазматической сети (рис. 4).

Активированный (переходный) фенотип HSC, выявленный у 35% пациентов, по внешним светооптическим параметрам в большинстве случаев отличался от «спящего» за счет уменьшения размеров клетки, появления HSC с вытянутой формой и исчезновением отростков (при фибробластической трансформации), а также уменьшения количества липидных капель в одной клетке, которые по своим количественным параметрам не отличались от неактивированного типа (рис. 5, 6).

При световой микроскопии HSC основными признаками фибробластической трансформации были: локализация клеток в просвете синусоида с признаками капилляризации, деструкции клеток Купфера, вблизи гепатоцитов, претерпевших дистрофию. Как правило, в цитоплазме наблюдалось уменьшение количества

Таблица 1. – Количественная характеристика разных фенотипов HSC при ХГС (M±m)

Table 1. – Quantitative characteristics of different phenotypes of HSC in chronic hepatitis C (M±m)

Показатели	Неактивный фенотип, n=71	Переходный фенотип, n=56	Активированный фенотип, n=33	p
Средняя площадь одного ПСЛ, мкм ²	67,86±4,012	45,18±2,837	32,46±2,714	p ₁₋₂ =0,000 p ₁₋₃ =0,000 p ₂₋₃ =0,004
Средняя длина ПСЛ, мкм	13,05±0,455	11,39±0,499	9,6±0,601	p ₁₋₂ =0,023* p ₁₋₃ =0,000* p ₂₋₃ =0,023*
Средняя ширина ПСЛ, мкм	7,68±0,278	6,03±0,236	5,06±0,251	p ₁₋₂ =0,000* p ₁₋₃ =0,000* p ₂₋₃ =0,01*
Среднее количество липидных капель в ПСЛ	14,17±0,132	7,96±0,128	4,03±0,022	p ₁₋₂ =0,000* p ₁₋₃ =0,000* p ₂₋₃ =0,000*
Средняя площадь липидной капли, мкм ²	2,85±0,123	2,68±0,155	2,95±0,281	p ₁₋₂ =0,614 p ₁₋₃ =0,291 p ₂₋₃ =0,203
Средняя длина липидной капли, мкм	2,12±0,035	2,08±0,052	2,19±0,098	p ₁₋₂ =0,541 p ₁₋₃ =0,495 p ₂₋₃ =0,319
Средняя ширина липидной капли, мкм	1,44±0,026	1,41±0,037	1,47±0,064	p ₁₋₂ =0,685 p ₁₋₃ =0,328 p ₂₋₃ =0,254

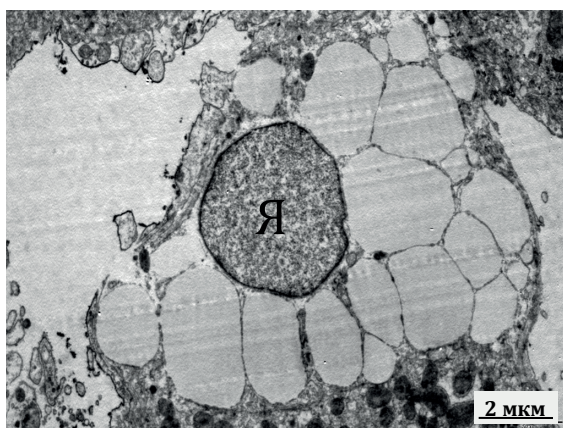


Рисунок 4. – Электронограмма неактивированной HSC, в цитоплазме которой слаборазвитая эндоплазматическая сеть и многочисленные капли липидов
Figure 4. – Electron micrograph of inactive HSC, in the cytoplasm of which an underdeveloped endoplasmic network and numerous lipid droplets

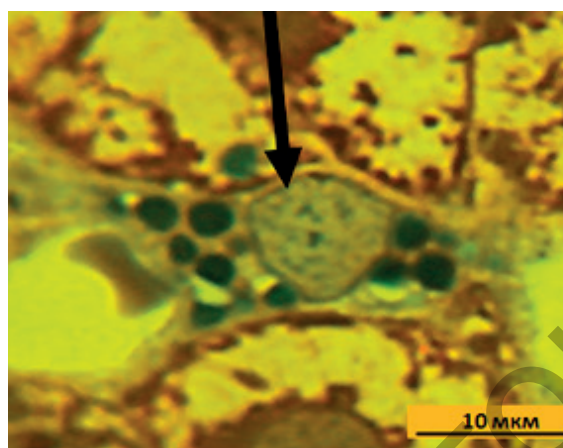


Рисунок 5. – Переходный фенотип вытянутой по форме HSC (черная стрелка) с 8 липидными каплями, расположенными по краям большого ядра. Полутонкий срез.
Окраска: азур II-основной фуксин
Figure 5. – Transitional phenotype of shape-elongated HSC (black arrow) with eight lipid droplets located at the edges of the large nucleus. Semi-thin section. Azure II-basic fuchsin stain

липидных капель, нередко до 1-2, а в контакте с клеткой – развитие фиброзной ткани (рис. 7, 8). Активированные портальные FB чаще всего находились в окружении клеток воспалительного инфильтрата.

Характерными ультраструктурными признаками активированного фибробластического фенотипа клеток портального тракта были: увеличение площади, занятой эухроматином в ядре (признак активации генов); интенсивное развитие гранулярной эндоплазматической сети (ГрЭС) и комплекса Гольджи, указывающие на активный синтез белка; волокна фиброзной ткани в контакте с клеткой. Активированные FB часто наблюдались в портальном тракте, нередко – вблизи пограничной пластинки (рис. 9).

В просвете синусоида активированные FB портального тракта наблюдались в «сопрово-

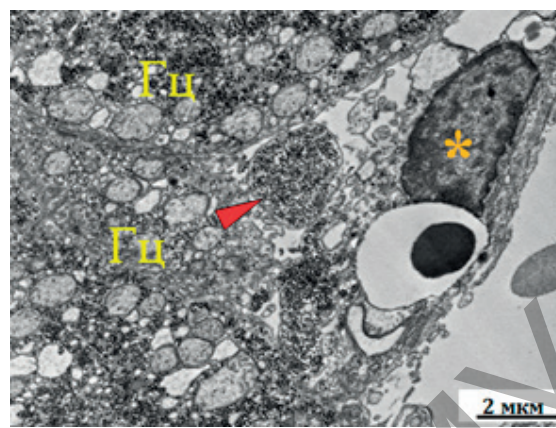


Рисунок 6. – Электронограмма: переходный фенотип HSC (звездочка в ядре), расположенного в пространстве Диссе; в цитоплазме HSC видна липидная капля. Наконечником стрелки обозначена экстрацеллюлярная вакуоль с гранулами гликогена. Гц – гепатоцит
Figure 6. – Electron micrograph: the transitional phenotype of the HSC (asterisk in the nucleus) located in Disse space; a lipid drop is visible in the HSC cytoplasm. The arrowhead indicates an extracellular vacuole with glycogen granules. "Гц" – hepatocyte

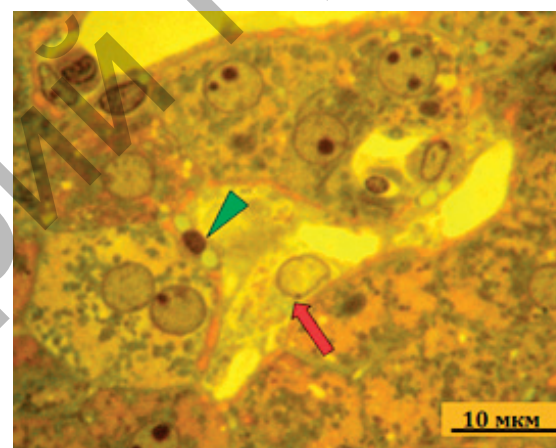


Рисунок 7. – Активированная HSC (наконечник стрелки) в тесном контакте с гепатоцитом в состоянии дистрофии. Красной стрелкой обозначена клетка Купфера. Полутонкий срез. Окраска: азур II-основной фуксин

Figure 7. – Activated HSC (arrowhead) in close contact with hepatocyte in a dystrophy state. The red arrow indicates the Kupffer cell. Semi-thin section. Azure II-basic fuchsin stain

ждении» клеток воспалительного инфильтрата и были удлинённой формы (рис. 10). Активированные HSC, как правило, находились в контакте с гепатоцитами, имели округло-овальную форму и менее выраженную ГрЭС; синтезированные ими фибриллы коллагена проникали вглубь пластинок гепатоцитов, нарушая контакты между клетками.

Установив различия в фенотипах HSC у пациентов с ХГС, представлялось важным изучить частоту распределения фенотипов HSC на разных стадиях фиброза печени (табл. 2).

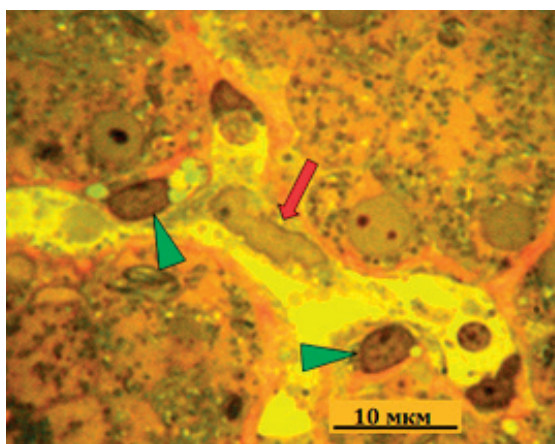


Рисунок 8. – Активированный (переходный тип) HSC (наконечники стрелок) в претерпевшем капилляризацию синусоиде (перисинусоидальный фиброз).

Разрушающаяся клетка Купфера – красная стрелка.

Полутонкий срез. Окраска: азур II-основной фуксин

Figure 8. – Activated (transient type) HSCs (arrowheads) in capillarized sinusoid (perisinusoidal fibrosis). Kupffer's crumbling cell – by red arrow. Semi-thin section. Azure II-basic fuchsin stain

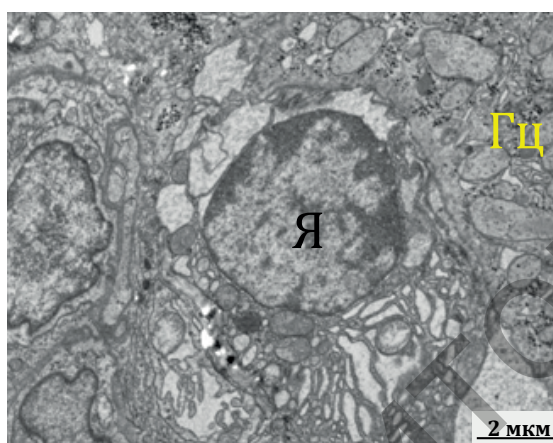


Рисунок 9. – Электронограмма, показывающая фенотип активированной HSC, расположенной в контакте с гепатоцитом пограничной пластинки, липидные капли.

Я – ядро HSC, Гц – гепатоцит

Figure 9. – Electron diffraction pattern showing the phenotype of activated HSC located in contact with the hepatocyte boundary plate lipid droplets. Я - HSC nucleus, Гц - hepatocyte

Таблица 2. – Распределение разных фенотипов HSC на разных стадиях фиброза печени у пациентов с ХГС
Table 2. – Distribution of different HSC phenotypes at different stages of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C

Стадия фиброза	Фенотипы HSC, абс/%		
	Неактивированный	Активированный, переходный	Активированный, фибробластический
0	21/44,7	16/34,0	10/21,3
I	15/53,6%	7/25,0	6/21,4
II	28/45,2	25/40,3	9/14,5
IV	7/30,4	8/34,8	8/34,8

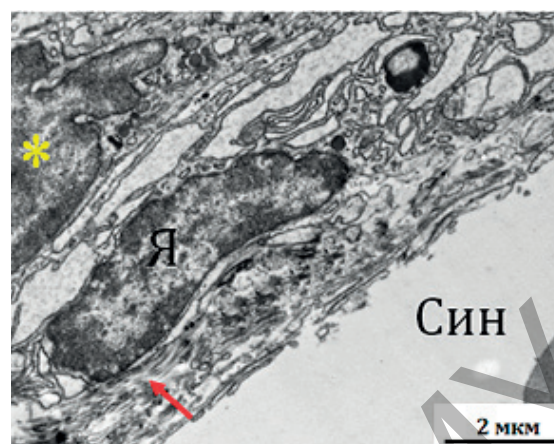


Рисунок 10. – Электронограмма фибробласта, в цитоплазме которого наблюдается хорошо развитая ГрЭС.

Пучки коллагеновых фибрилл обозначены стрелкой.

Макрофаг обозначен звездочкой

Figure 10. – Electron micrograph of fibroblast, in the cytoplasm of which a well-developed granular endoplasmic reticulum is observed.

Bundles of collagen fibrils are indicated by an arrow.

The macrophage is marked with an asterisk

Как видно из таблицы 2, на разных стадиях фиброза имеет место присутствие всех фенотипов HSC, включая пациентов с отсутствием фиброза печени при ХГС, у которых частота активированного (фибробластического) фенотипа все же составила 21,3%. Более заметное отличие – увеличение суммы переходного и фибробластического вариантов по мере нарастания стадии фиброза. При II стадии суммарный показатель двух фенотипов составил 54,8%, а при IV стадии – 69,6%.

Выводы

Представленная структурно-функциональная и количественная характеристика HSC свидетельствует о том, что при ХГС имеет место одновременное присутствие в печени разных фенотипов HSC, имеющих отличительные количественные параметры и свидетельствующие как об активации, так и о регрессе процесса фиброзообразования.

FB, происходящие из HSC, демонстрируют округлые и распространенные морфологические характеристики с увеличенной цитоплазмой. Напротив, FB, происходящие из портальных FB, имеют более удлиненные морфологические характеристики.

Представленная структурно-функциональная и количественная характеристика HSC позволяет более точно оценить процесс развития и регресса фиброза в печени и мониторировать эти процессы при оценке эффективности индивидуальной для каждого пациента антифиброзной терапии.

Литература

1. Giampieri, M. P. The lipocytes in normal human liver. A quantitative study / M. P. Giampieri, A. M. Jezequel, F. Orlandi // *Digestion*. – 1981. – Vol. 22, № 4. – P. 165-169. – doi: 10.1159/000198640.
2. Ito cell heterogeneity: desmin-negative Ito cells in normal rat liver / G. Ballardini [et al.] // *Hepatology*. – 1994. – Vol. 19, № 2. – P. 440-446.
3. Puche, J. E. Hepatic stellate cells and liver fibrosis / J. E. Puche, Y. Saiman, S. L. Friedman // *Compr Physiol*. – 2013. – Vol. 3, № 4. – P. 1473-1492. – doi: 10.1002/cphy.c120035.
4. Hasegawa, G. Development, differentiation, and maturation of Kupffer cell / G. Hasegawa, K. Takahachi, M. Naito // *Microsc. Res. Tech.* – 1997. – Vol. 39, № 4. – P. 350-364.
5. Heterogeneity of Hepatic Stellate Cells in Fibrogenesis of the Liver: Insights from Single-Cell Transcriptomic Analysis in Liver Injury / W. Zhang [et al.] // *Cells*. – 2021. – Vol. 10, № 8. – P. 2129. – doi: 10.3390/cells10082129.
6. TGF- β in Hepatic Stellate Cell Activation and Liver Fibrogenesis-Updated 2019 / B. Dewidar [et al.] // *Cells*. – 2019. – Vol. 8, № 11. – P. 1419. doi: 10.3390/cells8111419.
7. Tsuchida, T. Mechanisms of hepatic stellate cell activation / T. Tsuchida, S. L. Friedman // *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. – 2017. – Vol. 14, № 7. – P. 397-411. – doi: 10.1038/nrgastro.2017.38.
8. Activation of Hepatic Stellate Cells Requires Dissociation of E-Cadherin-Containing Adherens Junctions with Hepatocytes / H. Urushima [et al.] // *Am J Pathol*. – 2021. – Vol. 191, № 3. – P. 438-453. – doi: 10.1016/j.ajpath.2020.12.007.
9. Benyon, R. C. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells / R. C. Benyon, M. J. Arthur // *Semin Liver Dis*. – 2001. – Vol. 21, № 3. – P. 373-384. – doi: 10.1055/s-2001-17552.
10. The characteristics of activated portal fibroblasts/myofibroblasts in liver fibrosis / D. Karin [et al.] // *Differentiation*. – 2016. – Vol. 92, № 3. – P. 84-92. – doi: 10.1016/j.diff.2016.07.001.
11. Fibrogenesis. III. Posttranscriptional regulation of type I collagen / J. N. Lindquist [et al.] // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. – 2000. – Vol. 279, № 3. – P. 471-476.
12. Mannose-binding lectin polymorphisms in patients with hepatitis C virus infection / K. Sasaki [et al.] // *Scand J Gastroenterol*. – 2000. – Vol. 35, № 9. – P. 960-965. – doi: 10.1080/003655200750023039.
13. Collagen measured in primary cultures of normal rat hepatocytes derives from lipocytes within the monolayer / J. J. Maher [et al.] // *J Clin Invest*. – 1988. – Vol. 82, № 2. – P. 450-459. – doi: 10.1172/JCI113618.
14. Mak, K. M. Lipocytes and transitional cells in alcoholic liver disease: a morphometric study / K. M. Mak, C. S. Lieber // *Hepatology*. – 1988. – Vol. 8, № 5. – P. 1027-1033. – doi: 10.1002/hep.1840080508.
15. Millonig, G. A. Advantages of a phosphate buffer for osmiumtetroxide solutions in fixation / G. A. Millonig // *J. Appl. Physics*. – 1961. – Vol. 32. – P. 1637-1643.
16. Reynolds, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electron opaque stain in electron microscopy / E. S. Reynolds // *J. Cell. Biol*. – 1963. – Vol. 17. – P. 208-212.
17. Sato, T. An electron microscopic study of specimen-fixed for longer periods in phosphate buffered formalin / T. Sato, I. Takagi // *J Electron Microsc.* – 1982. – Vol. 31, № 4. – P. 423-428.

References

1. Giampieri MP, Jezequel AM, Orlandi F. The lipocytes in normal human liver. A quantitative study. *Digestion*. 1981;22(4):165-169. doi: 10.1159/000198640.
2. Ballardini G, Groff P, Badiali de Giorgi L, Schuppan D, Bianchi FB. Ito cell heterogeneity: desmin-negative Ito cells in normal rat liver. *Hepatology*. 1994;19(2):440-446.
3. Puche JE, Saiman Y, Friedman SL. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Compr Physiol*. 2013;3(4):1473-1492. doi: 10.1002/cphy.c120035.
4. Hasegawa G, Takahachi K, Naito M. Development, differentiation, and maturation of Kupffer cell. *Microsc. Res. Tech.* 1997;39(4):350-364. doi: 10.1002/(SICI)1097-0029(19971115)39:4<350::AID-JEMT5>3.0.CO;2-L.
5. Zhang W, Conway SJ, Liu Y, Snider P, Chen H, Gao H, Liu Y, Isidan K, Lorez KJ, Campana G, Li P, Ekser B, Francis H, Shou W, Kubal C. Heterogeneity of Hepatic Stellate Cells in Fibrogenesis of the Liver: Insights from Single-Cell Transcriptomic Analysis in Liver Injury. *Cells*. 2021;10(8):2129. doi: 10.3390/cells10082129.
6. Dewidar B, Meyer C, Dooley S, Meindl-Beinker AN. TGF- β in Hepatic Stellate Cell Activation and Liver Fibrogenesis-Updated 2019. *Cells*. 2019;8(11):1419. doi: 10.3390/cells8111419.
7. Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(7):397-411. doi: 10.1038/nrgastro.2017.38.
8. Urushima H, Yuasa H, Matsubara T, Kuroda N, Hara Y, Inoue K, Wake K, Sato T, Friedman SL, Ikeda K. Activation of Hepatic Stellate Cells Requires Dissociation of E-Cadherin-Containing Adherens Junctions with Hepatocytes. *Am J Pathol*. 2021;191(3):438-453. doi: 10.1016/j.ajpath.2020.12.007.
9. Benyon RC, Arthur MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis*. 2001;21(3):373-84. doi: 10.1055/s-2001-17552.
10. Karin D, Koyama Y, Brenner D, Kisseleva T. The characteristics of activated portal fibroblasts/myofibroblasts in liver fibrosis. *Differentiation*. 2016;92(3):84-92. doi: 10.1016/j.diff.2016.07.001.
11. Lindquist JN, Marzluft WF, Stefanovic B. Fibrogenesis. III. Posttranscriptional regulation of type I collagen. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2000;279(3):G471-6. doi: 10.1152/ajpgi.2000.279.3.G471.
12. Sasaki K, Tsutsumi A, Wakamiya N, Ohtani K, Suzuki Y, Watanabe Y, Nakayama N, Koike T. Mannose-binding lectin polymorphisms in patients with hepatitis C virus infection. *Scand J Gastroenterol*. 2000;35(9):960-5. doi: 10.1080/003655200750023039.
13. Maher JJ, Bissell DM, Friedman SL, Roll FJ. Collagen measured in primary cultures of normal rat hepatocytes derives from lipocytes within the monolayer. *J Clin Invest*. 1988;82(2):450-9. doi: 10.1172/JCI113618.
14. Mak KM, Lieber CS. Lipocytes and transitional cells in alcoholic liver disease: a morphometric study. *Hepatology*. 1988;8(5):1027-33. doi: 10.1002/hep.1840080508.
15. Millonig GA. Advantages of a phosphate buffer for osmiumtetroxide solutions in fixation. *J. Appl. Physics*. 1961;32:1637-1643.
16. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol*. 1963;17(1):208-12. doi: 10.1083/jcb.17.1.208.
17. Sato T, Takagi I. An electron microscopic study of specimens fixed for longer periods in phosphate buffered formalin. *J Electron Microsc.* 1982;31(4):423-8.

CHARACTERISTICS OF HEPATIC STELLATE CELLS PHENOTYPES IN CHRONIC HEPATITIS C

I. A. Kondratovich, V. M. Tsykunov, V. P. Andreev, R. I. Kravchuk

Grodno State Medical University, Belarus

Background. Hepatic stellate cells (HSC) play a key role in the development of liver fibrosis in different damages. The aim is to present the structural-functional and quantitative characteristics of various HSC phenotypes in chronic hepatitis C (CHC).

Material and methods. The object of the study was 18 liver biopsies of patients with verified CHC (HCV+ RNA in PCR). The stage of liver fibrosis was assessed by Metavir. Structural, functional and quantitative characteristics of different phenotypes of 160 analyzed HSCs at different stages of fibrosis in CHC were assessed by the results of light (semithin sections) and electron microscopy. We determined the average area, length and width of one PSL in each biopsy specimen, the number of lipid droplets in all and in one PSL as well as the average area, length and width of one lipid droplet.

Results. At different stages of fibrosis in CHC, all three HSC phenotypes, which had differences in the main structural and quantitative parameters, were simultaneously detected in the patient. Predominantly (44.4%), HSCs corresponding to the non-activated (sleeping) phenotype were detected, less often (20.6%) – those corresponding to the active (myofibroblastic) phenotype. As the HSC was activated, the shape of the cells changed (star-shaped–elongated), the number of lipid droplets in the cell decreased without changing the size of the inclusions, and the cytoplasmic/nuclear ratio changed towards an increase in the nucleus. The frequency distribution of phenotypes depended on the stage of liver fibrosis.

Conclusions. Patients with CHC are characterized by the presence of all three HSC phenotypes, which differ from each other in structural and quantitative characteristics, the frequency of which depends on the stage of liver fibrosis.

Keywords: stellate cells, phenotypes, hepatitis C.

For citation: Kondratovich IA, Tsykunov VM, Andreev VP, Kravchuk RI. Characteristics of hepatic stellate cells phenotypes in chronic hepatitis C. *Journal of the Grodno State Medical University.* 2022;20(4):393-399. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2022-20-4-393-399>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Об авторах / About the authors

*Кондратович Ирина Анатольевна / Kondratovich Irina, e-mail: iriskak22@mail.ru, ORCID: 0000-0002-7310-5204

Цыркунов Владимир Максимович / Tsykunov Vladimir, e-mail: tvml11@mail.ru, ORCID: 0000-0002-9366-6789

Андреев Виктор Павлович / Andreev Victor, e-mail: andrvp@yandex.ru, SCOPUS: 57198006665

Кравчук Римма Ивановна / Kravchuk Rimma, e-mail: cnil@grsmu.by, SCOPUS: 6602264428

* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 30.05.2022

Принята к публикации / Accepted for publication: 01.07.2022