

Lekarz Krzysztof Tomaszek

Związek komórek NK z zaawansowaniem włóknienia
u chorych z przewlekłym wirusowym zapaleniem wątroby
typu C

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor : Prof. dr hab. n. med. Andrzej Gabriel

Katedra i Zakład Histologii i Embriologii

Kierownik Katedry: prof.dr hab.n.med. Romuald Wojnicz

**Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze
Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach**

Zabrze rok 2017

Streszczenia

WZW C jest uznane przez WHO za zagrożenie o globalnym zasięgu. Do zakażenia dochodzi poprzez kontakt z zakażoną krwią podczas zbiegów chirurgicznych, stomatologicznych, kosmetycznych, a także m.in. przez łożysko matki do dziecka, stosunek płciowy i kontakt ze środkami higieny osobistej. Przebieg choroby najczęściej jest skryty, a objawy są nieswoiste. Stosowane obecnie leki nowej generacji – inhibitory białek wirusowych NS3/4A, NS5B czy NS5A pozwalają na uzyskanie SVR i dają nadzieję na obniżenie ilości chorych na pzw C. Istotnym aspektem pzw C jest poza uszkodzeniem mięszu wątroby postępujące jego włóknienie, wywoływane między innymi przez komórki HSC. Badania ostatnich lat wskazują na istotną rolę komórek NK w modulowaniu przebiegu fibrogenyzy poprzez bezpośrednie działanie cytotoksyczne wobec HSC, dotyczy to niektórych aktywnych funkcjonalnie fenotypów komórek NK. Udowodniono również zaburzenia czynności komórek NK w zależności od rocznego postępu włóknienia wątroby.

Celem pracy jest próba oceny zależności pomiędzy ilością i fenotypami komórek NK w krwi obwodowej a zaawansowaniem włóknienia wątroby u chorych na pzw C.

Materiał analizy stanowiły 53 osoby dorosłe z rozpoznaniem pzw C, kwalifikowane do leczenia przeciwwirusowego. Kohorta podzielona została na dwie grupy: badaną (z zaawansowanym włóknieniem) i odniesienia (z małym zaawansowaniem włóknienia). Każdy pacjent został poddany biopsji gruboigłowej wątroby, ocenie histopatologicznej bioptatu i ocenie cytofluorometrycznej krwi pełnej obwodowej. Na zdigitalizowanych obrazach bioptatów wątroby z oznaczonymi IHC limfocytami CD56 dokonano cyfrowej analizy numerycznej określając odsetek i gęstość populacyjną limfocytów.

Badania wykazały znamienne statystycznie większy odsetek komórek NK CD56 CD16 w krwi obwodowej u chorych w grupie badanej i statystycznie większy odsetek fenotypów komórek NK CD62L⁺, NKCD62L⁺CD94⁺, NK CD27⁺, NKCD127⁺CD27⁺, NK CXCR3⁺CD27⁺ we krwi chorych z grupy odniesienia.

Stwierdzono pozytywną korelację odsetka komórek NK CD94⁺ krwi a odsetkiem wewnątrzwątrobowych NK, oraz odsetkiem NK CD62L⁺ krwi a populacją wewnątrzwątrobowych komórek NK. Wykazano silną pozytywną korelację pomiędzy

odsetkiem komórek NK CXCR3⁺CD94⁺⁺ a wewnątrzwątrobowym odsetkiem i populacją komórek NK w grupie badanej.

Wnioski: u chorych na pzw C z zaawansowanym włóknieniem występuje wyższy odsetek komórek NK CD56⁺ CD16⁺ we krwi obwodowej w stosunku do chorych z małym zasięgiem włóknienia. Wykazano większe wartości odsetka komórek NK o fenotypach CD62L⁺, CD94⁺, CD27⁺, CD127⁺ i CXCR3⁺ we krwi obwodowej u chorych z niewielkim zasięgiem włóknienia, w stosunku do chorych z zaawansowanym włóknieniem. Wskazuje to na mniejszą dostępność aktywnych funkcjonalnie form komórek NK w tej grupie chorych. U chorych na pzw C występuje dodatnia korelacja pomiędzy odsetkiem komórek NK o fenotypach CD62L⁺, NK CD62L⁺CD94⁺⁺ we krwi obwodowej a wskaźnikiem populacyjnym wewnątrzwątrobowych komórek NK bez względu na zasięg włóknienia. Stwierdzono korelację odsetka komórek NK CXCR3⁺CD94⁺⁺ ze wskaźnikiem populacyjnym komórek NK w wątrobie, będącą niemal dwukrotnie wyższą u chorych z zaawansowanym włóknieniem. U chorych na pzw C z zaawansowanym włóknieniem może występować wewnątrzwątrobową kumulacją upośledzonych funkcjonalnie komórek NK a tym samym ograniczenie możliwości wpływu tych komórek na dalszy postęp włóknienia.

Chronic hepatitis C is considered by WHO as worldwide threat. Major main routes of transmission are the parenteral, via intravenous drug use, surgery, dental, cosmetic procedures, sexual intercourse as well as the perinatal transmission. Disease course is usually asymptomatic.

Currently being in use the new generation of drugs, the viral protein inhibitors NS3/4A, NS5B or NS5A allow to obtain sustain virologic response (SVR) giving the hope to reduce the number of infected people.

Significant consequence of HCV infection is liver injury with its subsequence progressive fibrosis caused by activated hepatic stellate cells (HSCs). The latest scientific reports have shown significant role of NK cells modulating the course of fibrogenesis through direct cytotoxic action on HSCs, which is particularly characteristic for certain NK cells phenotypes. The functional disorders of the NK cells have shown to be also depended on the progression of liver fibrosis.

The aim of this study is to evaluate the relationship between the number and phenotype of NK cells in circulating blood and the degree of liver fibrosis in patients bearing HCV.

The study consists of 53 people, women and men diagnosed with chronic hepatitis C that were eligible for the treatment. Cohort was divided into two groups: study group (with the advanced stage of liver fibrosis) and reference group (with the low stage of liver fibrosis). Liver biopsy and cytofluorometric blood sample analysis were performed on each patient. Digitized images of liver biopsies containing lymphocytes labeled with CD56 antibody by IHC were computer analyzed to determine the percentage and population density of afore mentioned lymphocytes.

The study has shown statistically significant higher percentage of the CD56⁺CD16⁺ NK cells in circulating blood in patients from the study group and statistically significant higher proportion of the NK cells with CD62L⁺; CD62L⁺CD94⁺; CD27⁺; CD127⁺CD27⁺ and CXCR3⁺CD62L⁺ NK phenotypes in the reference group.

There was a positive correlation between the blood cells count of the CD94⁺ NK cells and the intrahepatic NK cells percentage as well the blood cells count of the CD62L⁺ NK cells and the intrahepatic NK cells population. There was also a strong positive correlation between the percentage of the CXCR3⁺CD94⁺ NK cells and the intrahepatic NK cells percentage and population in the study group.

Conclusions: In patients with advanced stage of liver fibrosis, there is a higher proportion of CD56⁺CD16⁺ NK cells in circulating blood compared to patients with lower stage of fibrosis.

The percentage of NK cells with CD62L⁺, CD94⁺, CD27⁺, CD127⁺ and CXCR3⁺ phenotypes were found to be higher in patients with lower stage of liver fibrosis compared to patients with advanced stage of fibrosis. This indicates a lower availability of functionally active forms of NK cells in this group of patients. In patients with chronic hepatitis C, there is a positive correlation between the percentage of NK cells with CD62L⁺, CD62L⁺ CD94⁺⁺ phenotypes in circulating blood and the percentage of intrahepatic NK cells irrespectively to the extent of fibrosis. A further correlation was found between circulating blood CXCR3+CD94⁺⁺ NK cells percentage and NK cells population in the liver which was almost twice higher in patients with advanced stage of liver fibrosis.

In patients with the advanced stage of liver fibrosis, there may be an intrahepatic accumulation of functionally impaired NK cells, thereby limiting the potential of HSCs cytolysis which result in further progression of fibrosis