

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 616.36–002

doi:10.18499/2225-7357-2024-13-2-16-23

1.5.22 – клеточная биология

3.3.2 – патологическая анатомия



## Динамика распределения виментина и альфа-гладкомышечного актина в печени на этапах регенерации после химически индуцированного фиброза

И. А. Дворяшина<sup>1, 2✉</sup>, Ю. И. Великородная<sup>1</sup>, В. Л. Загребин<sup>1</sup>,  
Д. Ю. Быхалов<sup>1</sup>, А. В. Смирнов<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

<sup>2</sup>Волгоградский медицинский научный центр, Волгоград, Россия

**Аннотация.** Цель исследования – анализ распределения виментина и альфа-гладкомышечного актина ( $\alpha$ -SMA) в печени на различных этапах регенерации после химически индуцированного фиброза. **Материал и методы.** Из белых беспородных крыс-самцов были сформированы четыре экспериментальные группы, представляющих различные стадии восстановления печени (без восстановления, 4, 8 и 12 недель) после химически индуцированного фиброза и контрольная группа. В каждой группе насчитывалось по 8 животных. Анализировали динамику распределения промежуточных филаментов мезенхимальных клеток на препаратах, окрашенных иммуногистохимическим методом с использованием антител к виментину и  $\alpha$ -SMA. **Результаты.** После химически индуцированного фиброза печени наблюдалось значительное увеличение удельной площади виментина и  $\alpha$ -SMA, что свидетельствует о важной роли мезенхимальных клеток в ремоделировании печеночной паренхимы. На 4-й неделе сохранялось увеличение количества виментин- и  $\alpha$ -SMA-позитивных клеток, которые располагались вдоль фиброзных септ и вокруг кровеносных сосудов. На данном этапе формировались регенераторные розеткоподобные структуры, состоящие из виментин- и  $\alpha$ -SMA-позитивных мезенхимальных клеток, окруженных юными регенерирующими гепатоцитами. На 8–12-й неделях регенерации отмечалось уменьшение удельной площади этих маркеров, однако виментин- и  $\alpha$ -SMA-позитивные клетки все еще присутствовали вблизи порталных триад и кровеносных сосудов, указывая на продолжающиеся процессы регенерации. **Заключение.** Виментин и  $\alpha$ -SMA играют ключевую роль в формировании фиброзного матрикса и активации перисинусоидальных клеток и миофибробластов. Наблюдаемая корреляция между изменениями содержания виментина и  $\alpha$ -SMA указывает на их координированное участие в процессах фиброза и регенерации.

**Ключевые слова:** регенерация; печень; промежуточные филаменты; виментин; альфа-гладкомышечный актин

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Для цитирования:** Дворяшина И.А., Великородная Ю.И., Загребин В.Л., Быхалов Д.Ю., Смирнов А.В. Динамика распределения виментина и альфа-гладкомышечного актина в печени на этапах регенерации после химически индуцированного фиброза // Журнал анатомии и гистопатологии. 2024. Т. 13, №2. С. 16–23. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-2-16-23>

## ORIGINAL ARTICLES

Original article

## Dynamics of Distribution of Vimentin and Alpha-Smooth Muscle Actin in the Liver at the Stages of Regeneration after Chemically Induced Fibrosis

I. A. Dvoryashina<sup>1, 2✉</sup>, Yu. I. Velikorodnaya<sup>1</sup>, V. L. Zagrebina<sup>1</sup>,  
D. Yu. Bykhalov<sup>1</sup>, A. V. Smirnov<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup>Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

<sup>2</sup>Volgograd Medical Research Center, Volgograd, Russia

**Abstract.** The aim of the study was to analyze the distribution of vimentin and alpha-smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) in the liver at various stages of regeneration after chemically induced fibrosis. **Material and methods.** Four experimental groups of animals were formed, consisting of white male rats representing different stages of liver recovery (no recovery, 4, 8, and 12 weeks of recovery) after chemically induced liver fibrosis, and a control group of intact animals, with 8 animals in each group. The dynamics of the distribution of

intermediate filaments of mesenchymal cells were analyzed on preparations stained by immunohistochemical method using antibodies to vimentin and  $\alpha$ -SMA. **Results.** After chemically induced liver fibrosis, a significant increase in the specific area of vimentin and  $\alpha$ -SMA was observed, suggesting an important role of mesenchymal cells in the remodeling of the liver parenchyma. At the 4th week, the increased number of vimentin- and  $\alpha$ -SMA-positive cells persisted, with these cells localized along fibrous septa and around blood vessels. At this stage, regenerative rosette-like structures consisting of vimentin- and  $\alpha$ -SMA-positive mesenchymal cells surrounded by young regenerating hepatocytes were formed. By the 8<sup>th</sup>–12<sup>th</sup> weeks of regeneration, a decrease in the specific area of these markers was noted; however, vimentin- and  $\alpha$ -SMA-positive cells were still present near portal triads and blood vessels, indicating ongoing regeneration processes. **Conclusion.** Vimentin and  $\alpha$ -SMA play a key role in the formation of the fibrous matrix and the activation of perisinusoidal cells and myofibroblasts. The observed correlation between changes in vimentin and  $\alpha$ -SMA indicates their coordinated involvement in the processes of fibrosis and regeneration.

**Keywords:** regeneration; liver; intermediate filaments; vimentin; alpha-smooth muscle actin

**Conflict of interests:** the authors declare no conflict of interests.

**For citation:** Dvoryashina I.A., Velikorodnaya Yu.L., Zagrebina V.L., Bykhalov D.Yu., Smirnov A.V. Dynamics of distribution of vimentin and alpha-smooth muscle actin in the liver at the stages of regeneration after chemically induced fibrosis. *Journal of Anatomy and Histopathology. 2024. V. 13, №2. P. 16–23. <https://doi.org/10.18499/2225-7357-2024-13-2-16-23>*

## Введение

Фиброз печени является ключевым патологическим процессом при хронических заболеваниях печени, который может приводить к циррозу и, в крайних случаях, к острой печеночной недостаточности. Понимание молекулярных и клеточных механизмов, лежащих в основе фиброза и регенерации печени, имеет важное значение для разработки эффективных терапевтических стратегий [4]. Изучение изменений в распределении белков, таких как виментин и актин гладкомышечных клеток ( $\alpha$ -SMA), особенно значимо, поскольку эти белки играют важную роль в структурных и функциональных аспектах клеток печени, и их изменения могут отражать процессы ремоделирования тканей при фиброзе и последующей регенерации.

Промежуточные филаменты являются важными структурными компонентами цитоскелета клетки, играющими ключевую роль в поддержании клеточной формы, механической устойчивости и внутриклеточного транспорта.

Виментин – один из основных промежуточных филаментов, который синтезируется преимущественно в мезенхимальных клетках, участвует в регуляции клеточной адгезии, миграции и сигналинга, что особенно важно в процессах заживления ран и регенерации тканей. На сегодняшний день известно, что виментин играет ключевую роль в процессах эпителиально-мезенхимального перехода, который важен для регенерации и ремоделирования тканей [6]. В печени виментин экспрессируется в клетках Купфера, звездчатых клетках и других клетках мезенхимального происхождения, что подчеркивает его важную роль в процессе регенерации печени [5].

$\alpha$ -SMA – важный белок, который часто используется как маркер активации миофибробластов. Миофибробласты играют ключевую роль в заживлении ран и фиброзе, так как они способствуют синтезу и ремоделированию внеклеточного матрикса. В контексте пече-

ночной регенерации  $\alpha$ -SMA является маркером активации перисинусоидальных клеток Ито, которые трансформируются в миофибробласты и участвуют в восстановлении поврежденной ткани.

Исследования показали, что эти белки не только играют важную роль в жизнедеятельности клеток, но и активно участвуют в регуляции процессов воспаления, заживления и регенерации. Именно поэтому исследование виментина и  $\alpha$ -SMA в контексте регенерации печени является столь актуальным. Эти белки позволяют лучше понять механизмы, лежащие в основе восстановления ткани после повреждения, и могут служить потенциальными биомаркерами или терапевтическими мишенями.

В настоящем исследовании была использована модель экспериментального фиброза печени с субхроническим введением четыреххлористого углерода (ЧХУ) на фоне алкоголизации, что имитирует клиническую картину, наблюдаемую у пациентов с алкогольной болезнью печени [5]. Этот метод позволяет изучать динамику фиброзных и регенеративных процессов в печени и оценивать изменения в распределении и экспрессии белков виментина и  $\alpha$ -SMA.

Целью нашего исследования является анализ распределения виментина и  $\alpha$ -SMA в печени на различных этапах регенерации после химически индуцированного фиброза.

## Материал и методы исследования

Исследование проводилось на 40 белых беспородных крысах-самцах возрастом 12 месяцев по 8 особей в группе. На проведение исследования получено разрешение регионально исследовательского этического комитета ВолГМУ (протокол № 2013-2015 от 7 апреля 2015 года). Животных содержали в клетках по 8 особей в каждой в помещениях с искусственным освещением (8.00–20.00 – свет, 20.00–8.00 – темнота) при 20–22°C в условиях свободного доступа к воде и пище.

Для формирования у крыс фиброза была выбрана модель с длительным (8 недель) введением ЧХУ на фоне постоянной алкоголизации. Моделирование фиброза проводили по следующей схеме: за 7 дней до начала введения ЧХУ животным в качестве питья давали 5% водный раствор этанола. Раствор ЧХУ в пищевом дезодорированном кукурузном масле в соотношении 1:3 вводили внутривенно через зонд дважды в неделю в дозе 0,1 мл/100 г массы тела животного. После моделирования химически индуцированного фиброза были сформированы 4 экспериментальные группы регенерации печени: I группа (без восстановления, печень забирали сразу после моделирования экспериментального фиброза), II группа (4 недели восстановления), III группа (8 недель восстановления), IV группа (12 недель восстановления). В качестве контроля брали печень интактных животных, что позволяло провести комплексное изучение процессов регенерации [9].

Выведение животных из эксперимента проводилось под наркозом с использованием диэтилового эфира путем декапитации.

Для исследования брали фрагмент печени в области медианной доли, в которой процесс развития фиброза наиболее выражен [9]. Образцы печени размером 1 см<sup>3</sup> фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, дегидратировали и заключали в парафин. Парафиновые блоки резали на ротационном микротоме (MICROM HM340E, Германия), получали срезы толщиной 5 мкм и монтировали их на предметные стекла.

Для иммуногистохимического исследования срезы размещали на стеклах, обработанных поли-L-лизинном (Menzel). Для определения локализации  $\alpha$ -SMA применяли мышиные моноклональные (1A4) антитела (BioLegend, США) в разведении 1:100. Для изучения виментина использовали кроличьи моноклональные (V9) антитела (Invitrogen, США) в разведении 1:100. Для блокирования эндогенной пероксидазы срезы инкубировали в течение 20 минут в 3% растворе перекиси водорода. Постановку иммуногистохимических реакций проводили с помощью пероксидаза-полимерной системы визуализации по стандартному протоколу производителя (Dako, США). Демаскировку антител осуществляли путем кипячения срезов при 100°C в цитратном буфере (pH=6,0) в течение 10 минут. Пероксидазу проявляли 3-3-диаминобензидином из набора протокола. На заключительном этапе реакции срезы докрашивали гематоксилином Майера. Негативным контролем служили препараты без инкубации с первичными антителами при полном соблюдении остальных этапов протокола.

Препараты изучали и фотографировали с помощью микроскопа AxioScore (ZEISS, Германия), оборудованного цифровой камерой AxioCam506 color (ZEISS, Германия).

Площадь, занимаемую на срезе ИГХ-позитивными структурами, измеряли с помощью программ ZEN 2012 (ZEISS, Германия) и Image-Pro Plus.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программы Statistica 6.0 (StatSoft, США). Нормальность данных проверяли с помощью теста Шапиро–Уилка. Установлен нормальный тип распределения данных. В качестве меры центральной тенденции использовали среднее арифметическое значение. Для оценивания статистической значимости различий средних пользовались ANOVA тестом с применением апостериорного критерия Тьюки. Зависимость между удельной площадью виментин- и  $\alpha$ -SMA-позитивных структур оценивали при помощи коэффициента корреляции Пирсона.

### Результаты и их обсуждение

**Распределение виментина.** В печени интактных животных контрольной группы продукт ИГХ реакции на виментин имел типичную локализацию – в эндотелиоцитах, холангиоцитах, перисинусоидальных клетках и звездчатых макрофагах (клетках Купфера) (рис. 1А) [3, 6]. В печени животных I экспериментальной группы (без восстановления) виментин сохранялся в эндотелиоцитах, перисинусоидальных клетках и звездчатых макрофагах (рис. 1Б), в составе фиброзных септ, что согласуется с литературными данными [1], отмечали позитивную ИГХ реакцию на виментин в юных гепатоцитах и виментин-негативные скопления небольших клеток с бледной цитоплазмой внутри фиброзных септ, предположительно овальных клеток печени.

Через 4 недели спонтанной регенерации печени обнаруживались особые розеткоподобные структуры, в центре которых располагалась группа мелких виментин-позитивных мезенхимальных клеток, окруженных виментин-позитивными клетками полигональной формы с яркоокрашенным ядром. По морфологии и содержанию виментина, они могли соответствовать печеночным прогениторным клеткам (рис. 1В) [4]. Такие же виментин-позитивные клетки обнаруживались вдоль фиброзных септ. Мы полагаем, что такие виментин-позитивные гепатоциты могут свидетельствовать об активации мезенхимально-эпителиального перехода при регенерации печени после химически-индуцированного фиброза.

Через 8 недель восстановления мезенхимальные островки клеток были окружены виментин-негативными гепатоцитами (рис. 1Г), тогда как виментин-позитивные клетки с насыщенно окрашенной цитоплазмой локализовались вблизи кровеносных

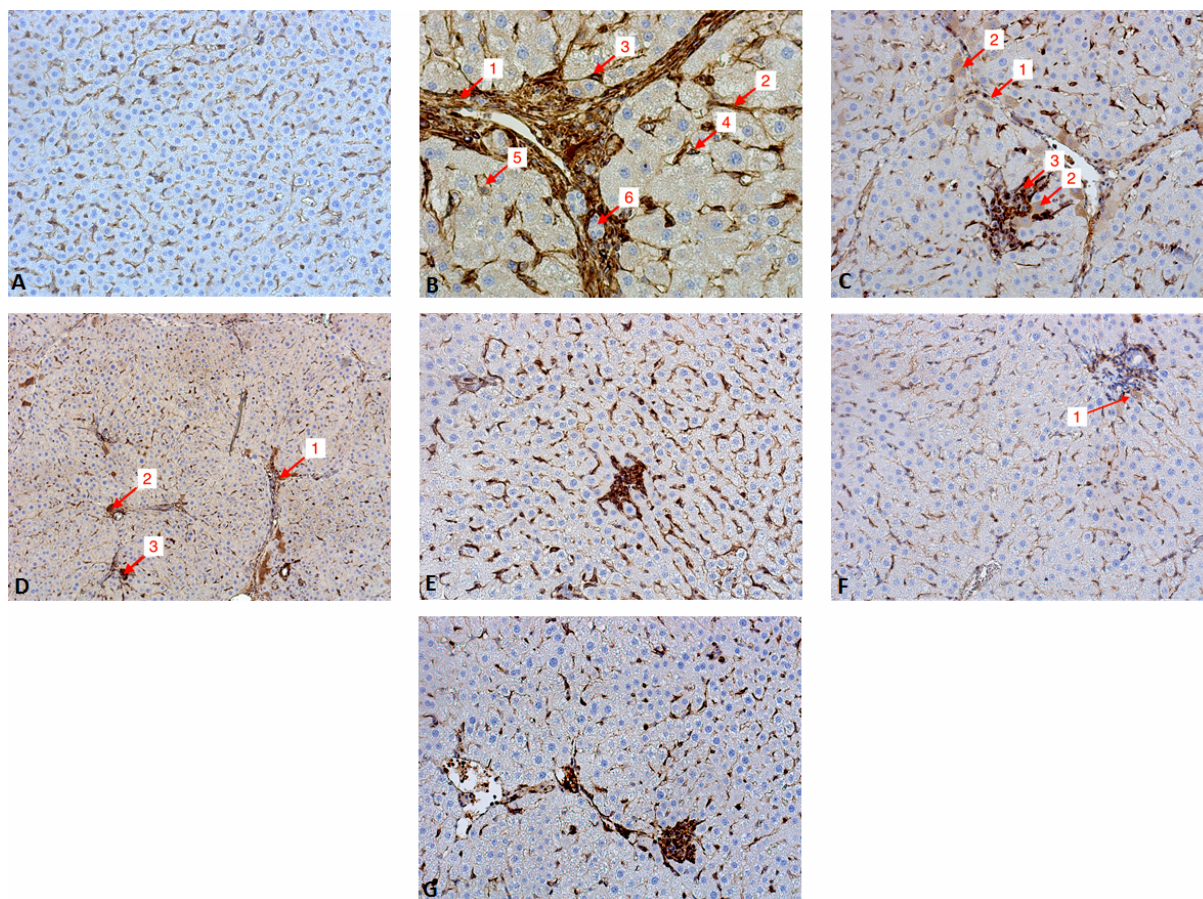


Рис. 1. Виментин-позитивные структуры в печени крыс на этапах восстановления после химически индуцированного фиброза. А – intactное животное. Иммунопозитивные депозиты располагаются вдоль перисинусоидальных пространств, визуализируя сеть мезенхимальных клеток. Мелкие пылевидные депозиты также присутствуют в цитоплазме гепатоцитов и эндотелии сосудов. В – особь без восстановления после фиброза. 1 – фиброзные септы, 2 – эндотелий синусоидов, 3 – перисинусоидальные клетки, 4 – клетки Купфера, 5 – небольшая иммунопозитивная гепатоцитоподобная клетка, 6 – низкодифференцированные виментин-негативные клетки. С – 4 недели восстановления. Виментинпозитивные юные гепатоциты (2) вдоль фиброзных септ (1) и вокруг мезенхимальной регенераторной розетки (3). D – 8 недель восстановления. Виментинпозитивные юные гепатоциты вдоль фиброзных септ (1) и вблизи кровеносных сосудов (2), группа виментин-позитивных клеток (3) в окружении зрелых гепатоцитов. E – 8 недель восстановления. Виментин-позитивная розетковидная группа клеток в окружении зрелых гепатоцитов. F – 12 недель восстановления. Виментинпозитивные юные гепатоциты вблизи портальных триад. G – 12 недель восстановления. Виментинпозитивные розетки вблизи кровеносных сосудов. Иммуногистохимическое окрашивание, ПАП-метод, антитела к виментину. Ув. 100 (D), 200 (A, C, E, F, G), 400 (B).

Fig. 1. Vimentin-positive structures in the liver of rats during recovery stages after chemically induced fibrosis. A – intact rat. Immunopositive deposits are located along the perisinusoidal spaces, visualizing a network of mesenchymal cells. Small dust-like deposits are also present in the cytoplasm of hepatocytes and in the endothelium of blood vessels. B – rat without recovery after fibrosis. 1 – fibrous septa, 2 – sinusoidal endothelium, 3 – perisinusoidal cells, 4 – Kupffer cells, 5 – small immunopositive hepatocyte-like cell, 6 – poorly differentiated vimentin-negative cells. C – 4 weeks of recovery. Vimentin-positive young hepatocytes (2) along the fibrous septa (1) and around the mesenchymal regenerative rosette (3). D – 8 weeks of recovery. Vimentin-positive young hepatocytes along the fibrous septa (1) and near blood vessels (2), a group of vimentin-positive cells (3) surrounded by mature hepatocytes. E – 8 weeks of recovery. Vimentin-positive rosette-like group of cells surrounded by mature hepatocytes. F – 12 weeks of recovery. Vimentin-positive young hepatocytes near the portal triads. G – 12 weeks of recovery. Vimentin-positive rosettes near blood vessels. Immunohistochemical staining, PAP method, antibodies to vimentin. Magnification  $\times 100$ (D),  $\times 200$  (A, C, E, F, G),  $\times 400$  (B).

сосудов и истонченных фиброзных септ (рис. 1D).

Через 12 недель восстановления гистархитектоника печени и распределение виментина приближалось к норме, видимые фиброзные септы отсутствовали, небольшое количество виментин-позитивных гепатоцитов располагалось вблизи портальных триад (рис. 1E), вблизи кровеносных сосудов отме-

чали островки виментин-позитивных мезенхимальных клеток в окружении юных виментин-негативных гепатоцитов (рис. 1З).

Морфометрический анализ иммунореактивного к виментину материала показал статистически значимое увеличение удельной площади виментин-позитивных структур в I группе (без восстановления) в 2,59 раза ( $p < 0,01$ ) и во II группе (4 недели восстановле-



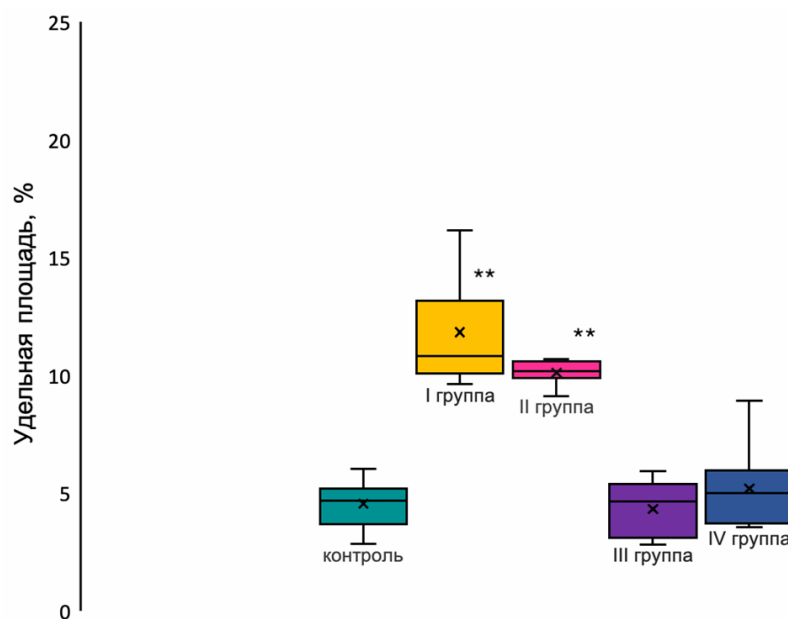


Рис. 2. Динамика удельной площади иммунореактивного материала с использованием антител к виментину на этапах регенерации печени. Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с апостериорным критерием Тьюки. \*\* – статистически значимые различия по сравнению с другими группами при  $p < 0,01$ .

Fig. 2. Dynamics of the specific area of immunoreactive material using antibodies to vimentin at different stages of liver regeneration. One-way ANOVA with Tukey's post-hoc test. \*\* – statistically significant differences compared to other groups at  $p < 0.01$ .

ния) в 2,2 раза по сравнению с контролем ( $p < 0,01$ ), что указывает на активацию регенерационных механизмов и участие виментина в структурной перестройке тканей печени еще до отмены токсического воздействия. Это увеличение сохраняется и на четвертой неделе, что свидетельствует о продолжающемся процессе регенерации с участием виментина. Последующее статистически значимое уменьшение данного показателя в III группе (8 недель восстановления) в 2,72 раза ( $p < 0,01$ ) и IV группе (12 недель восстановления) в 1,94 раза ( $p < 0,01$ ) по сравнению с первой экспериментальной группой ( $p < 0,01$ ) (рис. 2) может отражать восстановление нормальной структуры печени в процессе репаративной регенерации.

**Распределение альфа-гладкомышечного актина.** В ходе исследования печени животных контрольной группы, значительная часть  $\alpha$ -SMA находилась в стенках сосудов и миофибробластах в перипортальных зонах (рис. 3А). Это распределение  $\alpha$ -SMA соответствует его известной роли в поддержании структуры и функции печеночных сосудов, как это описано в исследовании Q. Zhang et al. [10].

При иммуногистохимическом исследовании с использованием антител к  $\alpha$ -SMA в печени крыс первой экспериментальной группы (без восстановления) обнаружены многочисленные фиброзные септы, состоящие из активированных перисинусоидальных клеток, миофибробластов и волокон. Это согласуется с данными о роли миофибробластов в фиброзе, описанными в работе T. Tsuchida et al. (рис. 3Б) [8]. Во второй экспериментальной группе (4 недели восстановления) обнаружены  $\alpha$ -SMA-позитивные клетки (рис. 3В), что может указывать на фенотипические изменения гепатоцитов в процессе регенерации, подобно тому, как это описано в исследовании

M. Zeisberg et al. [9]. В третьей экспериментальной группе (8 недель восстановления) обнаружены  $\alpha$ -SMA-позитивные активированные перисинусоидальные клетки, ассоциированные с клетками Купфера (рис. 3Г), что согласуется с исследованием P. Ramachandran et al. [7]. В четвертой экспериментальной группе (12 недель регенерации), восстановление характерного распределения  $\alpha$ -SMA (рис. 3Д) может свидетельствовать о завершении процесса регенерации, как ранее было установлено в исследовании T. Kisseleva et al. [2].

Количественный морфометрический анализ иммунореактивного к  $\alpha$ -SMA материала продемонстрировал статистически значимое увеличение удельной площади  $\alpha$ -SMA-позитивных структур в I группе (без восстановления) в 2,19 раза ( $p < 0,01$ ) и во II группе (4 недели восстановления) в 2,69 раза ( $p < 0,01$ ) по сравнению с контролем (рис. 4), но в отличие от виментина, максимальные значения отмечали через 4 недели после отмены токсического воздействия на печень, что может указывать на активацию перисинусоидальных клеток печени и миофибробластов в этой фазе восстановления.

Виментин и  $\alpha$ -SMA – маркеры клеток мезенхимального происхождения, которые часто ассоциируют с процессами фиброза и регенерации в печени. Увеличение удельной площади виментин-позитивных структур в I и II экспериментальных группах с последующим уменьшением данного показателя в III и IV группах может коррелировать с изменениями уровня  $\alpha$ -SMA, что предполагает активацию и последующую регуляцию популяций миофибробластов в процессе репаративной регенерации печени.

Для подтверждения предполагаемой взаимосвязи мы провели корреляционный анализ с использованием коэффициента Пирсона и обнаружили значимую ( $p < 0,05$ )

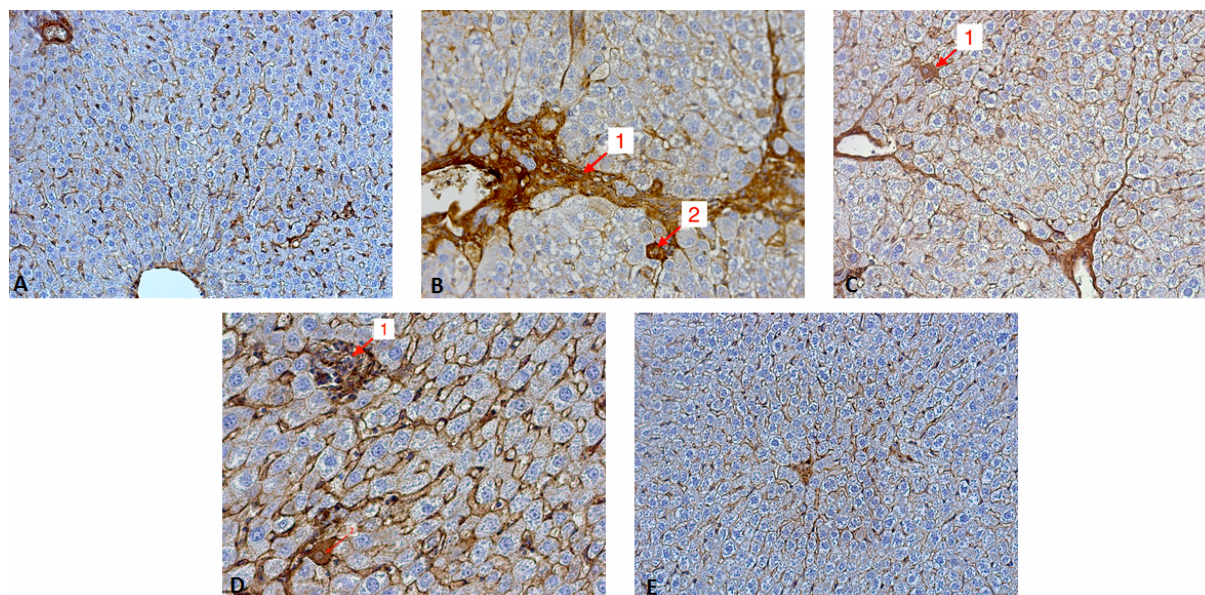


Рис. 3.  $\alpha$ -SMA-позитивные структуры в печени крыс на этапах восстановления после химически индуцированного фиброза. А – интактное животное. В – особь без восстановления после фиброза. Миофибробласты в составе фиброзных септ (1) и активированные перисинусоидальные клетки (2). С – 4 недели восстановления. Активированная перисинусоидальная клетка (1) вблизи фиброзной септы. D – 8 недель восстановления. Мезенхимальная розетка из  $\alpha$ -SMA позитивных клеток (1) в окружении гепатоцитов и активированные перисинусоидальные клетки (2) в паренхиме печеночной дольки. E – 12 недель восстановления. Мезенхимальная розетка из миофибробластов в окружении зрелых гепатоцитов и в паренхиме печеночной дольки. Иммуногистохимическое окрашивание, ПАП-метод, антитела к  $\alpha$ -SMA. Увеличение 100 (E), 200 (A, B, C), 400 (D).

Fig. 3.  $\alpha$ -SMA-positive structures in the liver of rats during recovery stages after chemically induced fibrosis. A – intact rat. B – rat without recovery after fibrosis. Myofibroblasts in fibrous septa (1) and activated perisinusoidal cells (2). C – 4 weeks of recovery. Activated perisinusoidal cell (1) near the fibrous septum. D – 8 weeks of recovery. Mesenchymal rosette of  $\alpha$ -SMA positive cells (1) surrounded by hepatocytes and activated perisinusoidal cells (2) in the parenchyma of the liver lobule. E – 12 weeks of recovery. Mesenchymal rosette of myofibroblasts surrounded by mature hepatocytes in the parenchyma of the liver lobule. Immunohistochemical staining, PAP method, antibodies to  $\alpha$ -SMA. Magnification  $\times 100$  (E),  $\times 200$  (A, B, C),  $\times 400$  (D).

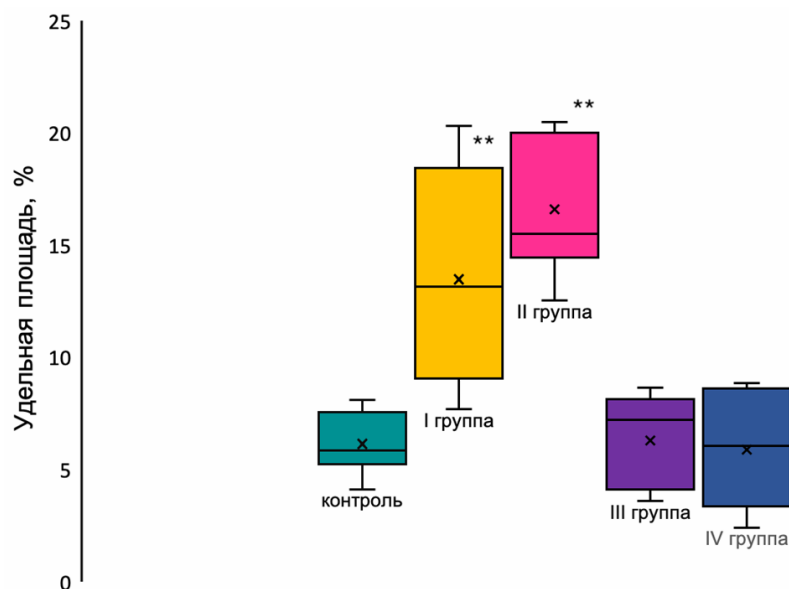


Рис. 4. Динамика удельной площади иммунореактивного материала с использованием антител к  $\alpha$ -SMA на этапах регенерации печени. Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA с апостериорным критерием Тьюки. \*\* – статистически значимые различия по сравнению с другими группами при  $p < 0.01$ .

Fig. 4. Dynamics of the specific area of immunoreactive material using antibodies to  $\alpha$ -SMA at different stages of liver regeneration. One-way ANOVA with Tukey's post-hoc test. \*\* – statistically significant differences compared to other groups at  $p < 0.01$ .

сильную прямую ( $r=0.92$ ) положительную корреляцию между удельной площадью виментин- и  $\alpha$ -SMA-позитивных структур на этапах регенерации печени.

Наше исследование распределения виментина и  $\alpha$ -SMA в печени в контексте регенерации после химически индуцированного фиброза дополняет существующие данные в

этой области. Обнаруженное распределение виментина в эндотелиоцитах, холангиоцитах, перисинусоидальных клетках и звездчатых макрофагах согласуется с результатами исследований М. Pervin et al. [6], подчеркивающих роль виментина в различных клеточных типах печени. Присутствие  $\alpha$ -SMA в оболочках сосудов, активированных перисинусоидаль-

ных клетках и миофибробластах согласуется с исследованием Q. Zhang et al. [10], которое подчеркивает важность  $\alpha$ -SMA в поддержании сосудистой структуры.

Наши наблюдения изменений в распределении этих белков в процессе регенерации предлагают новое понимание их динамики. Например, увеличение  $\alpha$ -SMA в гепатоцитоподобных клетках может отражать фенотипические изменения, связанные с регенерацией, как это описано в работе M. Zeisberg et al. [9]. Таким образом, наше исследование не только подтверждает уже известные данные о распределении виментина и  $\alpha$ -SMA, но и расширяет понимание их роли в регенеративных процессах печени, что может быть важным для раскрытия механизмов заболеваний печени и разработки новых терапевтических стратегий.

Изменения в распределении виментина и  $\alpha$ -SMA, наблюдаемые в ходе нашего исследования, могут играть ключевую роль в молекулярных и клеточных механизмах, лежащих в основе фиброза и регенерации печени. Виментин как структурный компонент цитоскелета, предположительно участвует в поддержании клеточной структуры и механической целостности, что критически важно в процессах ремоделирования тканей в ответ на повреждение. Это соответствует данным исследования M. Pervin et al., подчеркивающего роль виментина в разнообразных клеточных типах печени [6]. С другой стороны,  $\alpha$ -SMA, характерный для активированных миофибробластов, может указывать на их ключевую роль в формировании фиброзного матрикса в печени. Активация перисинусоидальных клеток и миофибробластов, их участие в синтезе коллагена и других компонентов внеклеточного матрикса являются центральными процессами в развитии фиброза, как показано в исследовании T. Tsuchida et al. [8]. Изменение распределения  $\alpha$ -SMA в регенерирующих гепатоцитах и вблизи фиброзных септ может отражать динамику клеточных преобразований, связанных с ремоделированием и регенерацией ткани. Это согласуется с исследованием M. Zeisberg et al., которое обсуждает эпителиально-мезенхимальный переход в контексте фиброза печени [9]. На основе этих данных можно предположить, что виментин и  $\alpha$ -SMA играют важную роль в балансе между процессами фиброгенеза и регенерации в печени. Виментин может способствовать структурной стабилизации клеток в процессе регенерации, в то время как  $\alpha$ -SMA может быть связан с активацией перисинусоидальных клеток и миофибробластов и последующими фиброзными изменениями в паренхиме печени. Это понимание механизмов регенерации и фиброза открывает перспективы для разработки новых подходов к лечению и предотвращению хронических заболеваний печени.

## Заключение

В результате исследования было установлено, что удельная площадь виментина и  $\alpha$ -SMA значительно увеличивается после индуцированного фиброза печени и на 4-й неделе репаративной регенерации. Статистически значимое увеличение этих маркеров в I и II группах по сравнению с контролем подтверждает их активное участие в регенерационных механизмах.

Наблюдаемое увеличение удельной площади виментина на ранних этапах регенерации указывает на его возможную роль в поддержании структурной стабильности клеток в условиях токсического воздействия и в процессе ремоделирования тканей. Виментин может быть важным компонентом в механизмах, обеспечивающих клеточную целостность и структурные изменения в ответ на повреждение печени.

На 4-й неделе восстановления были обнаружены регенераторные розетковидные структуры, состоящие из виментин- и  $\alpha$ -SMA-позитивных мезенхимальных клеток, окруженных юными регенерирующими гепатоцитами. Формирование этих структур свидетельствует о комплексной организации регенерационных процессов и активном участии мезенхимальных клеток в восстановлении тканей печени.

Однако важно учитывать ограничения нашего исследования, такие как использование экспериментальных животных и особенности иммуногистохимического метода, что подчеркивает необходимость дальнейшего изучения молекулярных путей регуляции экспрессии и функции виментина и  $\alpha$ -SMA в репаративной регенерации печени, а также проведения клинических исследований для оценки их потенциала в качестве биомаркеров или терапевтических мишеней.

## Список источников / References

1. Friedman SL. Liver fibrosis – from bench to bedside. *Journal of Hepatology*. 2003 Jan;38:38–53. doi: 10.1016/s0168-8278(02)00429-4
2. Kisseleva T, Cong M, Paik Y, Scholten D, Jiang C, Benner C, et al. Myofibroblasts revert to an inactive phenotype during regression of liver fibrosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012 May 7;109(24):9448–53. doi: 10.1073/pnas.1201840109
3. Li J, Xin J, Zhang L, Wu J, Jiang L, Zhou Q, et al. Human Hepatic Progenitor Cells Express Hematopoietic Cell Markers CD45 and CD109. *International Journal of Medical Sciences*. 2014;11(1):65–79.
4. Lieber CS. Alcoholic liver disease: New insights in pathogenesis lead to new treatments. *Journal of Hepatology*. 2000 Jan;32:113–28. doi: 10.1016/s0168-8278(00)80420-1
5. Marin F, Boya J, A. Lopez-Carbonell. Immunocytochemical localization of vimentin in stellate cells (Folliculo-stellate cells) of the rat, cat and rabbit

- pituitary pars distalis. *Anatomy and embryology*. 1989 Apr 1;179(5):491–5. doi: 10.1007/bf00319592
6. Pervin M, Hasan I, Kobir MdA, Akter L, Karim MR. Immunophenotypic analysis of the distribution of hepatic macrophages, lymphocytes and hepatic stellate cells in the adult rat liver. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 2021 Jun 15;50(4):736–45. doi: 10.1111/ahe.12718
  7. Ramachandran P, Iredale J, Fallowfield J. Resolution of Liver Fibrosis: Basic Mechanisms and Clinical Relevance. *Seminars in Liver Disease*. 2015 May 14;35(02):119–31. doi: 10.1055/s-0035-1550057
  8. Tsuchida T, Friedman SL. Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2017 May 10;14(7):397–411. doi: 10.1038/nrgastro.2017.38
  9. Zeisberg M, Yang C, Martino M, Duncan MB, Rieder F, Tanjore H, et al. Fibroblasts Derive from Hepatocytes in Liver Fibrosis via Epithelial to Mesenchymal Transition. *Journal of Biological Chemistry*. 2007 Aug;282(32):23337–47. doi: 10.1074/jbc.m700194200
  10. Hong Z, Reeves KJ, Sun Z, Li Z, Brown NJ, Meisinger GA. Vascular Smooth Muscle Cell Stiffness and Adhesion to Collagen I Modified by Vasoactive Agonists. Dague E, editor. *PLOS ONE*. 2015 Mar 6;10(3):e0119533. doi: 10.1371/journal.pone.0119533

#### Информация об авторах

✉ Дворяшина Ирина Александровна – ассистент кафедры гистологии, цитологии, эмбриологии Волгоградского государственного медицинского университета; пл. Павших Бойцов, 1, Волгоград, 400131, Россия  
germionna@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-7589-7532>  
SPIN 6612-2922

Великородная Юлия Ивановна – мл. научн. сотр. лаборатории токсикологии отдела экспериментальной фармакологии и токсикологии Научного центра инновационных лекарственных средств;  
alta-u@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-2976-6352>  
SPIN 7033-6111

Загребин Валерий Леонидович – канд. мед. наук, доцент, зав. кафедрой гистологии, цитологии, эмбриологии Волгоградского государственного медицинского университета; vlzagrebin@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-9559-9196>  
SPIN 8469-9848

Быхалов Леонид Сергеевич – д-р. мед. наук, доцент, профессор кафедры патологической анатомии Волгоградского государственного медицинского университета;  
leonby-vgd@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-2161-5189>  
SPIN 2081-4348

Смирнов Алексей Владимирович – д-р. мед. наук, профессор, заведующий кафедрой патологической анатомии Волгоградского государственного медицинского университета;  
alexeysmirnov.volggmu@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0001-5351-6105>  
SPIN 8931-7823

#### Information about the authors

✉ Irina A. Dvoryashina – Assistant of the Department of Histology, Cytology, Embryology of Volgograd State Medical University; pl. Pavshikh Boitsov, 1, Volgograd, 400131; Russia;  
germionna@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-7589-7532>  
SPIN 6612-2922

Yuliya I. Velikorodnaya – junior researcher of the Laboratory of Toxicology of the Department of Experimental Pharmacology and Toxicology of Scientific Center of Innovative Drugs;  
alta-u@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-2976-6352>  
SPIN 7033-6111

Valerii L. Zagrebin – Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, head of the Department of Histology, Cytology, Embryology of Volgograd State Medical University;  
vlzagrebin@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0002-9559-9196>  
SPIN 8469-9848

Leonid S. Bykhalov – Doct. Sci. (Med.), Associate Professor, Professor of the Department of Pathologic Anatomy of Volgograd State Medical University;  
leonby-vgd@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-2161-5189>  
SPIN 2081-4348

Aleksei V. Smirnov – Doct. Sci. (Med.), Professor, head of the Department of Pathologic Anatomy of Volgograd State Medical University;  
alexeysmirnov.volggmu@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0001-5351-6105>  
SPIN 8931-7823

Статья поступила в редакцию 5.02.2024; одобрена после рецензирования 7.06.2024; принята к публикации 28.06.2024.  
Submitted 5.02.2024; Revised 7.06.2024; Accepted 28.06.2024.