

فیروز کبد و عوامل مؤثر بر آن

● دکتر داریوش فرهود



متخصص ژنتیک پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، گروه علوم پایه / اخلاق، فرهنگستان علوم پزشکی ایران، مرکز تحقیقات سلامت سالمندی، کلینیک ژنتیک

● پریسا ورجاوند* (correspond)



کارشناس ارشد ژنتیک، مرکز تحقیقات سلامت سالمندی، کلینیک ژنتیک

چکیده

کبد به عنوان بزرگ‌ترین ارگان بدن، نقش حیاتی در متابولیسم، سم زدایی، حفظ هموستاز، سنتز و ذخیره سازی مواد غذایی و دفاع در برابر ماکرو مولکول‌های مهاجم را دارد. بیماری‌های کبدی می‌تواند به دلیل عوامل آگزوزن، مانند مصرف الکل، مصرف داروها، القای سموم و ابتلا به عفونت‌ها و یا عوامل اندوزن، مانند سندرم‌های متابولیکی، بیماری‌های خود ایمنی و ژنتیکی ایجاد شوند. با اعمال آسیب‌ها، کبد وارد اولین مرحله بیماری یعنی کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) شده که در لیز و شکست چربی دچار مشکل می‌شود که اگر با التهاب همراه باشد، منجر به استئاتوهپاتیت غیر الکلی (NASH) می‌شود. در صورت ادامه روند بیماری و عدم درمان، (آسیب‌های مداوم و مزمن) کبد وارد مرحله پیشرفته‌تری از بیماری، یعنی فیروز می‌شود. میزان تجمع ماتریکس خارج سلولی و تولید کلاژن تایپ I، III و IV در طی فیروز تا ده برابر افزایش می‌یابد و با گذشت زمان، منجر به سیروز، هپاتوسلولار کارسینوما^۱ (HCC) و به دلیل نقص در عملکرد کبد، منجر به مرگ بیمار می‌شود. سلول‌ها و مسیرهای التهابی متعددی در ایجاد فیروز کبد دخیل هستند. روش‌های درمانی احتمالی و پیش بالینی به منظور درمان فیروز کبد، گزارش شده

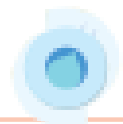
است، اما هنوز روش‌های قطعی برای درمان و برگشت‌پذیری بیماری در انسان اثبات نشده است.

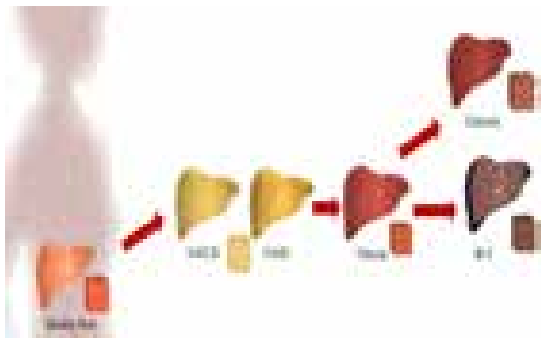
واژگان کلیدی: فیروز کبد، کموکاین CCL2، کموکاین CX3CL1، سلول‌های ستاره مانند کبدی، رسپتور، سلول درمانی

سر آغاز

سالانه، ۱،۴۰۰،۰۰۰ نفر در سراسر جهان به دلیل بیماری‌های کبدی جان خود را از دست می‌دهند. در ایران، بیش از ۲۵٪ مردم ایران به بیماری‌های کبدی مبتلا هستند. لازم به ذکر است که ۸۰٪ افراد از وجود بیماری در خود بی‌خبر هستند و زمانی متوجه بیماری خود می‌شوند که بیماری آن‌ها حاد شده است. آسیب‌های وارد شده به کبد در نتیجه مواردی چون مسمومیت با الکل، بیماری‌های خود ایمنی، بیماری‌های متابولیکی، هپاتیت ویروسی یا القای سموم، موجب فیروز کبد می‌شوند. فیروز کبدی منجر به فعال شدن سلول‌های ستاره مانند کبدی^۲ (HSC)، اختلال عملکرد کبد و تجمع پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی^۳ می‌شود که با گذشت زمان این حالت پاتولوژیک منجر به سیروز و سایر پیامدهای بالینی مانند سرطان کبد و مرگ در اثر نقص عملکرد کبد می‌شود (شکل ۱). نسبت

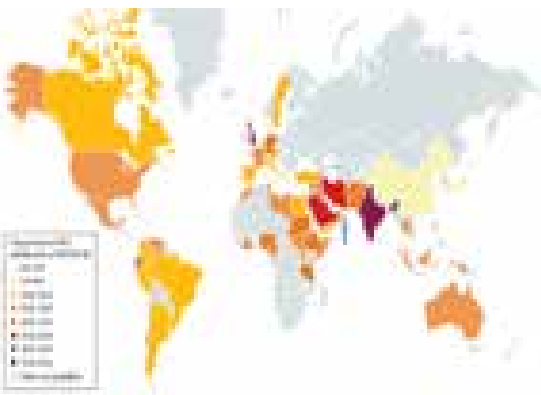
- 1- Non-alcoholic fatty liver disease
- 2- Hepatocellular carcinoma
- 3- Hepatic Stellate Cell
- 4- Extra Cellular Matrix





شکل ۱. مراحل آسیب به کبد

اولین مرحله بیماری کبد چرب غیر الکلی است، در صورت ادامه روند بیماری و عدم درمان کبد وارد مراحل پیشرفته‌تر یعنی استئاتوهپاتیت غیر الکلی و سپس فیبروز می‌شود و با آسیب حادتر منجر به سیروز و هپاتوسلولار کارسینوما خواهد شد.



شکل ۲. نسبت هپاتوسلولار کارسینوما (HCC) مرتبط با بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) در بریتانیا، هند، آلمان و خاورمیانه (۱۰).

سرطان کبد اولیه که احتمالاً ناشی از NAFLD است در انگلیس، هند، آلمان و خاورمیانه نسبتاً بالا گزارش شده است (شکل ۲). امروزه مشخص شده است که فیبروز کبدی به عنوان یک پاسخ التیام دهنده زخم محسوب می‌شود (۱-۴). مسیرهای التهابی و سلول‌های ایمنی مانند سلول‌های کوپفرسل و سلول‌های ستاره کبدی در محل آسیب نقش مهمی در شروع و تداوم فیبروز کبد دارند (۵،۶). سلول‌های ستاره‌ای کبدی که در فضایی در کبد، تحت عنوان دیس^۵ قرار گرفته‌اند، حاوی ذرات چربی هستند و محل اصلی ذخیره رتینوئیدها (متابولیت‌های ویتامین A) می‌باشند. این سلول‌ها ۱۵٪ از سلول‌های کبد انسان سالم را تشکیل می‌دهد که در حالت طبیعی فنوتیپ خاموش را نشان می‌دهند، اما پس از آسیب کبدی و ایجاد پاسخ التهابی این سلول‌ها فعال شده و تبدیل به سلول‌های میوفیبروبلاستمانندی می‌شوند که خاصیت تقسیم‌پذیری بالایی دارند و نقش به‌سزایی در بیان ژن‌های ماتریکس خارج سلولی، سنتز بالای کلاژن تایپ I و III و اکتین آلفای ماهیچه صاف (α -SMA) ایفا می‌کنند. لازم به ذکر است که این سلول‌ها پس از آسیب ایجاد شده به کبد اقدام به کاهش قطرات لیپیدی حاوی ویتامین A خود می‌کند (۷،۸). شروع فرآیند آسیب با تحریک سیگنال‌های فیبروزنیک پاراکرین کوپفرسل‌ها، سلول‌های اندوتلیال، پلاکت‌ها، سلول‌های ایمنی و هپاتوسیت‌ها و همچنین در مراحل پایانی با تکثیر، فیبروزنیز، انقباض پذیری، عدم تعادل در ماتریکس متالوپروتئینازها^۷ و اختلال در بیان مهارکننده آن‌ها و سیگنال‌های التهابی که موجب فنوتیپ پایدار در HSC فعال می‌شود، همراه است (۹).

- 5- Disse
- 6- Alpha Smooth Actin Muscle
- 7- Metalloproteinase Matrix

□ ماکروفاژها

ماکروفاژها به فراوانی در کبد یافت می‌شود، گرچه از نظر بافت شناسی بسیار شبیه یکدیگر هستند اما دارای فعالیت‌های عملکردی متفاوتی در زمینه بیماری‌های کبدی هستند (۱۱).

کوپفر سل ها: در سال ۱۸۷۶، سلول‌های کوپفر از نام یک کالبد شناس آلمانی به نام کارل ویلهلم فن کوپفر^۸ گرفته شده است. این سلول‌ها، خاصیت بیگانه خواری دارند و همچنین دارای خاصیت نوزایی^۹ هستند. این ماکروفاژهای مستقر در کبد دارای مارکرهای سطحی CD11b⁺ F4/80 و CD68 هستند. آسیب‌های کبدی منجر به فعال شدن این سلول‌ها و به دنبال آن ایجاد التهاب و ترشح سایتوکاین‌ها^{۱۰} و کموکاین‌های^{۱۱} التهابی شده که با تأثیر بر سلول‌های ستاره مانند کبدی در روند فیبروز مؤثر است (۱۲،۱۳).

ماکروفاژهای مشتق شده از منوسیت‌ها: رده بندی ماکروفاژها می‌تواند براساس میزان بیان فاکتور سطح سلولی لنفوسیت آنتی ژن ۶ کمپلکس (Ly6C) باشد. دو جمعیت عمده لنفوسیت‌ها در موش که شامل LY6C high که منبع اصلی آن در مغز استخوان و LY6 Clow در طحال و احتمالاً حفره صفاقی است. منوسیت‌های مغز استخوان (LY6C high) به سرعت به سیگنال‌های التهابی واکنش نشان می‌دهند و به کبد ملتهب مهاجرت می‌کنند، در نتیجه، وجود ماکروفاژهای التهابی مانند LY6C high در شرایط التهابی گسترش می‌یابد. بسته به شرایط کبد (شرایط غیر التهابی)، شاهد تغییر فنوتیپ و عملکرد این ماکروفاژهای التهابی به ماکروفاژهای ضد التهابی LY6 Clow خواهیم بود.

□ کموکاین‌ها

ویژگی قابل ذکر بیماری‌های کبدی، التهاب است و کموکاین‌ها نقش اصلی تعیین کننده در پیشرفت و یا

بازگشت بیماری‌های کبدی و همچنین نقش کلیدی در فیبروز و سیروز کبدی دارند. گیرنده‌های پاسخ دهنده به این کموکاین‌ها بر روی سطح سلول‌های ایمنی و هم سلول‌های غیر ایمنی بیان می‌شوند. نفوذ متوالی سلول‌های ایمنی به داخل بافت کبد که توسط تنظیم کننده‌های اصلی همچون کموکاین‌ها و گیرنده‌های آن‌ها ایجاد می‌شود موجب ایجاد زخم می‌شود (۱۴). کموکاین از ادغام دو واژه کموتاکتیک و سایتوکاین آمده است، یعنی کمو از اول کموتاکسی و کین از آخر سایتوکاین گرفته شده است. کموکاین‌ها در بسیاری از گونه‌ها یافت می‌شوند و همولوژی سکانس‌های اسید آمینه‌ای آن‌ها در سراسر گونه‌ها حفظ شده است. این مولکول‌ها، توسط انواع مختلفی از سلول‌ها، تولید می‌شوند. کموکاین‌ها به عنوان عامل حیاتی برای مهاجرت و فعال سازی سلول‌های التهابی مثل ماکروفاژها و سلول‌های غیر التهابی همانند سلول‌های ستاره مانند کبدی، شناخته می‌شوند (۱۵).

□ ساختار کموکاین‌ها

کموکاین‌ها مولکول‌های پروتئینی کوچک با وزن مولکولی حدود ۱۳-۸ دالتون هستند و بر اساس شباهت در اسید آمینه‌های سازنده آن‌ها (الگوهای تکرار شونده جفت‌های سیستئینی و پل‌های داخلی دی سولفیدی) به ۴ گروه C، CC، CXC و CX3C تقسیم می‌شوند (۱۶).

□ گیرنده‌های کموکاین‌ها

بدون در نظر گرفتن عامل کموتاکتیک، تمام اعمال کموکاین‌ها در نتیجه اتصال به گیرنده‌های غشای پلاسمایی صورت می‌پذیرد. این دسته کموکاین‌ها اعمال خود را با اتصال به گیرنده‌های غشایی مرتبط با G پروتئین‌ها انجام می‌دهند. اتصال عوامل کموتاکتیک به گیرنده، آشناری از وقایع داخل سلولی را آغاز می‌کند که در زمان ظهور اثرات

8- Karl Wilhelm von Kupffer

9- Regeneration property

10- Cytokine

11- Chemokine



بیولوژیک به اوج می‌رسند (۱۷).

□ کموکاین التهابی CCL2 و اثر آن بر فیبروز کبدی

کموکاین‌ها نقش اساسی در فراخوانی سلول‌های التهابی از مغز استخوان به محل التهاب (آسیب) را دارند. یکی از این کموکاین‌های التهابی، CCL2 که به آن پروتئین جاذب منوسیت ۱ (MCP1) نیز می‌گویند (گیرنده آن CCR2 است). این کموکاین‌ها از دسته کموکاین‌های دارای موتیف CC است که توسط گروهی از سلول‌ها، مانند ماکروفاژها، کوپفرسل‌ها و سلول‌های ستاره مانند کبدی ترشح می‌شوند که در جذب سلول‌های التهابی مانند مونوسیت‌ها به کبد نقش دارد (۱۸).

□ کموکاین ضد التهابی CX3CL1 و اثر آن بر فیبروز کبدی

کموکاین ضد التهابی CX3CL1 یا فراکتالکین که متعلق به زیر گروه CX3X است (گیرنده آن CX3CR1). محور CX3CL1 - CX3CR1 به عنوان تنظیم کننده منفی، باعث جلوگیری از نفوذ مونوسیت‌ها به کبد آسیب دیده می‌شود و این تعامل به عنوان جوهر اساسی پاسخ‌های ضد التهابی در فیبروز کبد استنباط می‌شود که در نهایت منجر به بازگشت پذیری فیبروز کبدی می‌شود. کموکاین‌های CX3CR1 که بر روی سطح هر دو نوع ماکروفاژهای LY6C high و LY6C low بیان می‌شوند. در حالی که بیان این گیرنده بر روی سطح ماکروفاژهای LY6C low غالب است (۱۸).

□ عوامل رشد دخیل در فعال سازی سلول‌های ستاره مانند کبدی

مسیرهای سیگنالیتهی مختلفی در ایجاد فیبروز

کبدی نقش دارد که فاکتور رشد ترشح شده از پلاکت‌ها^{۱۲} (PDGF)، عاملی مؤثر در تحریک و تکثیر HSC‌ها هستند. بیان رسپتورهای این فاکتور (PDGFR)، که یک رسپتور تیروزین کینازی^{۱۳} است، بر روی غشای سلول‌های فیبروبلاست بیان می‌شوند.

□ مدل‌های حیوانی

به منظور القای فیبروز کبد در حیوانات آزمایشگاهی، دو روش کارآمد است. روش اول، مدل‌هایی که در نتیجه آسیب‌های توکسیک کبدی (القای سموم، مانند تتراکلرید کربن) ایجاد شده‌اند، که روشی بسیار کارآمد به منظور القای فیبروز به بافت کبد است. زیرا از لحاظ علمی کار با این مدل‌ها آسان‌تر است و ارتباط نزدیک‌تری با مسائل کلینیکی دارد؛ همچنین می‌توان از دُزهای بالا برای ایجاد آسیب حاد و از دُزهای پایین همان توکسین و تکرار دوزها جهت ایجاد آسیب مزمن استفاده نمود. روش دیگر با کمک مدل‌هایی است که در آن‌ها اعمال جراحی انجام می‌شود (همانند بستن مجرای صفراوی) (۱۹).

□ اثر سلول‌ها و کموکاین‌های CCL2 و CX3CL1 در روند فیبروز کبد

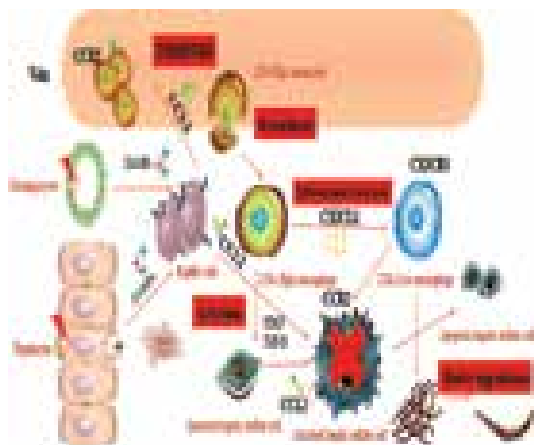
در هنگام التهاب و آسیب کبدی، هپاتوسیت‌ها و کلانژیوسیت‌ها دچار آسیب شده و یکسری الگوهای مولکولی مرتبط با پاتوژن‌ها (PAMPs) و الگوهای مولکولی مرتبط با آسیب (DAMPs) تولید می‌کنند. این الگوها بر روی گیرنده‌های خود به نام TLR4 که بر روی سطح سلول‌های کوپفر و سلول‌های ستاره مانند کبدی است قرار گرفته که موجب ترشح کموکاین‌های التهابی مانند CCL2 از این سلول‌ها می‌شود. کموکاین CCL2 تولید شده از ۲ طریق موجب التهاب می‌شود:

۱- این کموکاین به صورت مستقیم به رسپتور خود

12- Platelet-derived growth factor

13- Receptor tyrosine kinase

(CCR2) که بر روی سطح سلول‌های HSC قرار دارد؛ متصل شده و باعث فعال شدن این سلول‌ها می‌شود. این کموکاین‌ها موجب فراخوانی منوسیت‌های التهابی LY6C high از مغز استخوان به بافت کبد آسیب دیده شده و تبدیل به ماکروفاژ می‌شوند. سپس این سلول‌ها با ترشح فاکتورهای رشد PDGF و $TGF-\beta$ و اثر بر روی HSC ها (گیرنده این فاکتورها بر روی سطح سلول‌های HSC بیان می‌شود) موجب تکثیر این سلول‌ها و تمایز آن‌ها به میوفیبروبلاست می‌شوند. در صورتی که شرایط التهابی به ضد التهابی تغییر یابد، با افزایش بیان کموکاین CX3CL1 توسط این ماکروفاژها موجب شده که ماکروفاژهای LY6C high به ماکروفاژهای LY6C low تمایز یابند که رسپتور آن را (CX3CR1) روی سطح خود دارد. این سلول‌ها با آپوپتوز HSC ها، همچنین با تجزیه ماتریکس خارج سلولی باعث مهار فیبروز می‌شوند.



شکل ۳. نمایی از سلول‌های درگیر در روند فیبروز کبدی و تأثیر کموکاین‌ها و مواد مترشحه از این سلول‌ها در روند فیبروز

□ روش‌های درمانی

هدف قرار دادن رسپتورها از طریق داروها: با توجه به

نقش برجسته HSC ها در روند فیبروز کبد، مسدود کردن مسیرهایی که باعث فعال شدن آن‌ها می‌شود، می‌تواند بسیار مفید باشد. تعدادی از داروهای ضد فیبروتیک که در مدل‌های حیوانی و برخی آزمایش‌های بالینی که در حال انجام است در جدول ۱ و ۲ زیر مشاهده می‌کنید. مکانیسم‌های درمانی این داروها در توانایی آن‌ها در مهار مسیره‌های سیگنالینگ پروفیبروتیک، مسدود کردن گیرنده‌های مهم در فرآیند فعال سازی HSC ها و یا جلوگیری از تجمع گسترده ماتریکس خارج سلولی می‌باشد. گرچه این راهکارها روش‌هایی امیدوار کننده درمانی محسوب می‌شوند اما تاکنون هیچ روش درمانی موثری در درمان فیبروز کبد تأکید نشده است.

سلول درمانی: علاوه بر مکانیسم‌ها و داروها، تعدادی از مسیره‌های حیاتی و سلول‌های مشارکت کننده باید مورد بررسی قرار گیرد. تأثیر عملکرد سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSC) ^{۱۴} و آگزوم‌های مترشحه از آن‌ها، توانسته است در پیشبرد اهداف درمانی بسیار کارآمد باشد. سلول‌های بنیادی مزانشیمی از مغز استخوان و خون بندناف جداسازی می‌شوند. این سلول‌ها قابلیت تقسیم به چندین رده سلولی را دارند و به اصطلاح چند توان هستند. همچنین دسترسی آسان به این سلول‌ها برای پیوندهای اتولوگ و سینرژیک، حداقل رد پیوند، نداشتن مشکلات اخلاقی، تنظیم کننده سیستم ایمنی و توانایی گسترش در محیط آزمایشگاهی دامنه کاربرد آن‌ها را برای درمان‌های سلولی گسترش داده است. اثرات سلول‌های بنیادی مزانشیمی بر کاهش التهاب کبدی را می‌توان بدین شرح عنوان نمود (۲۲-۲۰).

- ۱- تمایز به هپاتوسیت‌ها و تکثیر آن‌ها
- ۲- تحریک ترمیمی سلول‌های پارانشیمی اندوژن
- ۳- افزایش تجزیه ماتریکس خارج سلولی
- ۴- مهار تکثیر سلول‌های HSC
- ۵- تحریک آپوپتوز در سلول‌های HSC

14- Mesenchymal Stem Cell

جدول ۱

داروهای آنتی فیبروتیک به طور بالقوه مؤثر در HSC فعال در مطالعات پیش بالینی		
اسامی داروها		
Candesartan	Sunitinib	Roseotoxin B
Ramipril	Bevacizumab	Carvedilol
Praziquantel	Brivanib	Pegbelfermin
Cilostazol	Celecoxib and octreotide	Cenicriviroc
Thiazolidinedione	Hydronidone	Hesperidin
Sorafenib	Silymarin	Emricasan
Imatinib	Metformin	Elafibranor
Nilotinib	Selonsertib	Obeticholic acid

جدول ۲

آزمایش‌های بالینی در حال انجام با تمرکز بر اختلالات کبدی: پتانسیل تداخل در فعال سازی HSC		
اسامی داروها		
Candesartan	Silymarin	Pegbelfermin
Ramipril	Metformin	Cenicriviroc
Hydronidone	Selonsertib	Hesperidin
Emricasan	Elafibranor	Obeticholic acid
Carvedilol	-----	-----

References:

- 1- Marcellin P, Kutala BK (2018) Liver diseases: A major, neglected global public health problem requiring urgent actions and large-scale screening. *Liver Int* 38:2–6.
- 2- Sacchi P, Cima S, Corbella M, et al (2015) Liver fibrosis, microbial translocation and immune activation markers in HIV and HCV infections and in HIV/HCV co-infection. *Dig Liver Dis* 47:218–225.
- 3- Khomich O, Ivanov AV, Bartosch B (2019) Metabolic hallmarks of hepatic stellate cells in liver fibrosis. *Cells* 9:24
- 4- Schuppan D, Ashfaq-Khan M, Yang AT, Kim YO (2018) Liver fibrosis: Direct antifibrotic agents and targeted therapies. *Matrix Biol* 68:435–451.
- 5- Karlmark KR, Weiskirchen R, Zimmermann HW, et al (2009) Hepatic recruitment of the inflammatory Gr1+ monocyte subset upon liver injury promotes hepatic fibrosis. *Hepatology* 50:261–274.
- 6- Iredale JP (2007) Models of liver fibrosis: exploring the dynamic nature of inflammation and repair in a solid organ. *J Clin Invest* 117:539–548.
- 7- Senoo H, Mezaki Y, Fujiwara M (2017) The stellate cell system (vitamin A-storing cell system). *Anat Sci Int* 92:387–455.
- 8- Sun X, He Y, Ma T-T, et al (2014) Participation of miR-200a in TGF- β 1-mediated hepatic stellate cell activation. *Mol Cell Biochem* 388:11–23.
- 9- Tsuchida T, Friedman SL (2017) Mechanisms of hepatic stellate cell activation. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 14:397–411.
- 10- Huang DQ, El-Serag HB, Loomba R (2021) Global epidemiology of NAFLD-related HCC: trends, predictions, risk factors and prevention. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 18:223–238.
- 11- Smedsrod B, De Bleser PJ, Braet F, et al (1994) Cell biology of liver endothelial and Kupffer cells. *Gut* 35:1509.
- 12- Tacke F (2017) Targeting hepatic macrophages to treat liver diseases. *J Hepatol* 66:1300–1312.
- 13- Scott CL, Zheng F, De Baetselier P, et al (2016) Bone marrow-derived monocytes give rise to self-renewing and fully differentiated Kupffer cells. *Nat Commun* 7:1–10.
- 14- Ungvári I, Tölgyesi G, Semsei ÁF, et al (2007) CCR5A32 mutation, mycoplasma pneumoniae infection, and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 119:1545–1547.
- 15- Mantovani A (1999) Chemokines. Karger Medical and Scientific Publishers.
- 16- Wuyts A, Haelens A, Proost P, et al (1996) Identification of mouse granulocyte chemoattractant protein-2 from fibroblasts and epithelial cells. Functional comparison with natural KC and macrophage inflammatory protein-2. *J Immunol* 157:1736–1743.
- 17- Nessler M, Puchala J, Wood FM, et al (2013) Changes in the plasma cytokine and growth factor profile are associated with impaired healing in pediatric patients treated with INTEGRA® for reconstructive procedures. *Burns* 39:667–673.
- 18- Seki E, Schwabe RF (2015) Hepatic inflammation and fibrosis: functional links and key pathways. *Hepatology* 61:1066–1079.
- 19- Abraldes JG, Pasarín M, García-Pagán JC (2006) Animal models of portal hypertension. *World J Gastroenterol WJG* 12:6577.
- 20- Zhang Z, Wang F-S (2013) Stem cell therapies for liver failure and cirrhosis. *J Hepatol* 59:183–185.
- 21- Parekkadan B, Van Poll D, Suganuma K, et al (2007) Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2:e941.
- 22- Baghaei K, Mazhari S, Tokhanbigli S, et al (2021) Therapeutic potential of targeting regulatory mechanisms of hepatic stellate cell activation in liver fibrosis. *Drug Discov Today*.