



УДК 616.36-006.327:616.36-002-036.1]-091.8

М. А. Шишкін

Морфогенез розвитку і прогресії фіброзу печінки при хронічному вірусному гепатиті С

Запорізький державний медичний університет

Ключові слова: вірусний гепатит С хронічний, печінки зірчаста клітина, фібробласти.

З метою вивчення взаємозв'язку між активацією фібробластів у портальних трактах і перисинусоїдальних клітинах Іто вивчили 140 трепанобіоптатів хворих на хронічний вірусний гепатит С. Здійснили патогістологічні, комп'ютерно-морфометричні й імуногістохімічні дослідження. Встановили, що основними структурними одиницями частки печінки, з якими пов'язаний розвиток фіброзу, є венозні синусоїди печінки, центральна вена і портальний тракт. Визначили, що індекс гістологічної активності хронічного гепатиту С не в усіх хворих корелює зі ступенем розвитку фіброзу печінки, який визначили в гістологічних препаратах. Прогностичними ознаками вірогідності розвитку значного фіброзу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит С є гіперплазія активованих А-SMA-позитивних клітин Іто в перисинусоїдальних просторах печінки і сегментарна колагенізація стінок внутрішньочасточкових венозних синусоїдів, наявність А-SMA-позитивних фібробластів в імуноклітинних «ступінчастих некрозах» і в портальних трактах, розвиток тонких фіброзних септ із портальних трактив у часточках печінки, збільшення числа портальних трактив із фіброзом різного ступеня виразності.

Морфогенез развития и прогрессии фиброза печени при хроническом вирусном гепатите С

М. А. Шишкін

С целью изучения взаимосвязи между активацией фибробластов в портальных трактах и перисинусоидальных клетках Ито изучили 140 трепанобиоптатов больных хроническим вирусным гепатитом С. Провели патогистологические, компьютерно-морфометрические и иммуногистохимические исследования. Установлено, что основными структурными единицами печени, с которым связано развитие фиброза, являются синусоиды печени, центральная вена и портальный тракт. Отмечено, что индекс гистологической активности хронического гепатита С не у всех больных коррелирует со степенью развития фиброза печени, который определен в гистологических препаратах. Прогностические признаки вероятности развития выраженного фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С: гиперплазия активированных А-SMA-положительных клеток Ито в перисинусоидальных пространствах печени и сегментарная колагенизация стенок внутридольковых венозных синусоидов, наличие А-SMA-положительных фибробластов в иммуноклеточных «ступенчатых некрозах» и в портальных трактах, развитие тонких фиброзных септ из портальных трактов в дольках печени, увеличение количества портальных трактов с фиброзом разной степени выраженности.

Ключевые слова: вирусный гепатит С хронический, печени звездчатая клетка, фибробласты.

Запорожский медицинский журнал. – 2015. – №2 (89). – С. 63–65

Morphogenesis of the liver fibrosis development and progression in chronic hepatitis C

М. А. Shishkin

Aim. The paper contains the results of pathohistological integrated computer-morphometric and immunohistochemical liver biopates research of the patients with chronic viral hepatitis C to upgrade the most significant microscopic features of the liver fibrosis development and progression.

Methods and results. As a result of the research, histological activity index of chronic viral hepatitis C didn't correlate in all the patients with liver fibrosis, found in histological preparations colored by Masson's trichrome Stain or van Gieson's Stain.

Conclusion. It has been stated that the prognostic signs of probability of liver fibrosis development in patients with chronic viral hepatitis C are hyperplasia of the activated positive A-SMA Ito cells in the liver perisinusoidal spaces and segmental collagenization of the intralobular venous sinusoids walls, availability of A-SMA positive fibroblasts in immunocellular «piecemeal necrosis» and in portal paths.

Key words: Hepatitis C Chronic, Liver Stellate Cells, Fibroblasts.

Zaporozhye medical journal 2015; №2 (89): 63–65

Як відомо, фіброз печінки розвивається в результаті хронічних пошкоджень, найбільш відомими з них є вірусні гепатити (віруси). Вірусне пошкодження печінки супроводжується посиленням фіброгенезу органа, що призводить до глобальних порушень функцій [1,3]. При гострому ураженні тканини печінки цей процес зазвичай обмежується тимчасовим фіброзом, оскільки надлишок сполучної тканини швидко редукується, відновлюється нормальна структура органа. При перманентному пошкодженні, що відбувається при хронічному вірусному гепатиті, посилюються процеси фіброзоутворення, які можуть призвести до незворотних порушень структури і функцій печінки [4,5].

Морфогенез фіброзу та цирозу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит (ХВГ) досліджено недостатньо. Розвиток цирозу печінки традиційно пов'язували з активацією синтезу колагену фібробластами, але останніми роками з'явилися повідомлення про важливу роль у розвитку фіброзу і цирозу у хворих на ХВГ активованих периси-

нусоїдальних зірчастих клітин Іто, які в нормі накопичують ретиноїди та синтезують обмежений спектр молекул міжклітинного матриксу [2]. При розвитку фіброзу печінки також недостатньо вивчені взаємовідносини між активованими зірчастими клітинами Купфера, активованими клітинами Іто і фібробластами, не конкретизовані структурні прояви активації клітин Іто та їхніх колагенсинтезуючих функцій при прогресії фіброзу печінки [6,7].

Мета роботи

Вивчити взаємозв'язок між активацією фібробластів у портальних трактах і перисинусоїдальних клітинах Іто на підставі даних патогістологічних, комп'ютерно-морфометричних та імуногістохімічних досліджень.

Пацієнти і методи дослідження

Дослідження виконали у 140 (41 жінка і 99 чоловіків) хворих на ХВГ С, у групу умовного контролю ввійшли 10 хворих (4 жінки і 6 чоловіків) на транзиторні гепатози без клініко-біохімічних і патогістологічних ознак вірусного



ураження печінки. Загальна кількість пацієнтів – 150 осіб.

Діагностично-патоморфологічні маркери вірусного й імунноклітинного пошкодження печінки, а також морфогенезу важкого фіброзу печінки визначили в трепанобіопсіях печінки у цих хворих.

Голками Uni-Cut і BioCut 14-16G під контролем апарата УЗД Conbizon-320-5 Ultima-Pro-30 із використанням секторального та конвексного датчиків виконали черешкірну трепанобіопсію печінки.

Для патоморфологічного й імуногістохімічного дослідження стовпчики трепанобіоптатів печінки фіксували в забуференому 10% формаліні та заливали в парафін. Досліджували серійні зрізи завтовшки 3 μ .

Для мікроскопічного дослідження парафінові зрізи трепанобіоптатів печінки фарбували гематоксиліном і еозином, а також трибарвним методом Масона і методом ван Гізона.

Ступінь активності та прогресії хронічного вірусного гепатиту в біоптатах печінки хворих оцінювали шляхом розрахунку індексу гістологічної активності (ІГА) за Knodell R.G. і співавт.; виразність фіброзу печінки визначали у градації METAVIR і Desmet V. і співавт. у серійних парафінових зрізах, що забарвлені за ван Гізонам і за Масоном.

Імуногістохімічне дослідження активованих зірчастих клітин Іто виконали в парафінових зрізах із використанням моноклональних антитіл до А-ізоформи гладком'язового актину (А-SMA) та системи візуалізації DAKO EnVision.

Методом прямої комп'ютерної морфометрії в мікроскопі Ахіорпан 2 з відеокамерою DXС-151А та пакетом програм KS 200 оцінювали площі лімфоцитарної інфільтрації й фіброзу портальних трактів.

Кількісні результати опрацювали методом варіаційного статистичного аналізу середніх величин на персональному комп'ютері «Sempron 2800», використовуючи програмний пакет STATISTICA 6.0 for Windows. Обчислювали середню арифметичну величину (M), середнє квадратичне відхилення (SD) і стандартну помилку середньої арифметичної (m). Вірогідність відмінностей величин визначали за допомогою критерію Стюдента (T). Як достовірну мінімальну вірогідність відмінностей брали $p < 0,05$. Виконали кореляційний аналіз із використанням коефіцієнта кореляції Пірсона (r).

Результати та їх обговорення

Вивчення розвитку фіброзу печінки при ХВГ С показало, що основними структурними одиницями часточки печінки, з якими пов'язаний розвиток фіброзу, є венозні синусоїди печінки, центральна частинна вена і портальний тракт. Оцінюючи наявність фіброзу печінки з використанням гістохімічних методів забарвлення зрізів за ван Гізонам і трибарвним методом Масона, встановили, що ці методики дають змогу диференціювати в гістологічних препаратах печінки хворих із мінімальною і слабо вираженою активністю ХВГ С початкові етапи розвитку колагенізації стінок внутрішньочасточкових синусоїдів печінки за відсутності значного фіброзу в портальних трактах.

Важливим морфологічним критерієм розвитку хронічного вірусного гепатиту є детекція ступеня фіброзу печінки, визначеного в гістологічних препаратах, що забарвлені трибарвним методом Масона і методом ван Гізона.

Для визначення ступеня виразності фіброзу аналізували наявність і ступінь виразності фіброзу стінок централобулярних вен, внутрішньочасточкових синусоїдів і портальних трактів, наявність внутрішньочасточкових фіброзних септ

і порто-портальних фіброзних септ.

Відповідно до градацій METAVIR і Desmet V., слабкий фіброз F1 виявлявся початковою сегментарною колагенізацією внутрішньочасточкових синусоїдів печінки та наявністю слабого фіброзу менш ніж 1/3 портальних трактів. Помірно виражений фіброз печінки F2 характеризувався колагенізацією більше ніж 1/3 синусоїдів печінкової часточки, наявністю внутрішньочасточкових і порто-портальних фіброзних септ. Для тяжкого фіброзу печінки F3 характерною була колагенізація більше ніж 50% внутрішньочасточкових синусоїдів, а також наявність у печінці виражених тяжів сполучної тканини з формуванням порто-портальних і порто-центральных септ.

Досліджуючи 140 трепанобіоптатів печінки, встановили: ІГА хронічного гепатиту С не в усіх хворих корелював зі ступенем розвитку фіброзу печінки, визначеного в гістологічних препаратах, що забарвлені трибарвним методом Масона або за ван Гізонам. Відсутність фіброзу печінки визначили у 22,2% хворих, відповідно до градацій METAVIR і Desmet V., слабкий фіброз F1 виявили у 30%, помірно виражений фіброз F2 – у 15%, тяжкий фіброз F3 – у 13,6%, цироз F4 – у 19,2% пацієнтів. Слід відзначити, що найбільшу невідповідність ІГА гепатиту С і ступеня фіброзу печінки спостерігали у хворих із мінімальною і слабо вираженою активністю хвороби, у частини яких фіброз печінки був відсутній або зареєстровано слабкий (F1) і помірно виражений фіброз (F2).

Здійснили імуногістохімічне дослідження біоптатів печінки хворих на ХВГ С із різним ступенем гістологічної активності щодо виявлення А-SMA-позитивних клітин. Визначили, що в печінці здорових людей нечисленні А-SMA-позитивні зірчасті клітини Іто виявляються в просторах Діссе, між ендотелієм синусоїдів і гепатоцитами, А-SMA-позитивними є гладком'язові клітини кровеносних судин. У хворих на хронічний вірусний гепатит перисинусоїдальні А-SMA-позитивні клітини в часточках печінки за гістологічною будовою відповідали клітинам Іто: мали витягнуту форму, невелике овальне ядро і відростки, що надають клітинам зірчастої форми. А-SMA-позитивні клітини переважно локалізувались у зонах пошкоджених гепатоцитів і в ділянці лімфоцитарних інфільтратів. У хворих із слабо вираженою та вираженою активністю ХВГ С нечисленні А-SMA-позитивні клітини виявили в часточках і портальних трактах печінки.

Для встановлення зв'язку між ІГА і площею активованих А-SMA-позитивних клітин Іто здійснили морфометричне дослідження з використанням методу комп'ютерного аналізу цифрового зображення. У результаті встановили, що наростання ІГА ХВГ С супроводжувалося збільшенням площі, яка зайнята активованими клітинами Іто в частках печінки. У хворих на хронічний гепатит С із мінімальною активністю патологічного процесу та в пацієнтів зі слабо вираженим хронічним гепатитом середня площа, що зайнята клітинами Іто, становила $110,64 \pm 1,5$ і $232,04 \pm 3,2$ μm^2 відповідно. У хворих із помірною активністю хронічного гепатиту та пацієнтів із вираженою активністю гепатиту середня площа, що зайнята клітинами Іто, становила $246,86 \pm 3,4$ і $251,5 \pm 3,5$ μm^2 відповідно.

Під час імуногістохімічного дослідження з використанням антитіл до А-ізоформи гладком'язового актину виявили, що в портальних трактах також наявні А-SMA-позитивні клітини, що мали типову структуру фіброblastів



(веретеноподібну форму, невелике подовжене ядро і нечисленні тонкі відростки).

У портальних трактах разом з А-SMA-позитивними клітинами наявні також фібробласти, що не експресують А-ізоформу гладком'язового актину. Крім того, А-SMA-позитивні клітини визначили не в усіх портальних трактах. У хворих із мінімальною активністю хронічного вірусного гепатиту С А-SMA-позитивні фібробласти в портальних трактах були одиничними або їх не було зовсім, однак їх виявили у 83% хворих зі слабкою і помірною активністю гепатиту, а також у всіх хворих із вираженою активністю хвороби. При слабкій і помірній активності гепатиту А-SMA-позитивні фібробласти в лімфоцитарних інфільтратах портальних трактів і ступінчастих некрозів становили 30–50% площі інфільтрату, а при вираженій активності хронічного гепатиту А-SMA-позитивні фібробласти становили до 70–80% площі інфільтрату.

Отже, вивчення розвитку фіброзу печінки при ХВГ С засвідчило, що основними структурними одиницями частки печінки, з якими пов'язаний розвиток фіброзу, є венозні синусоїди печінки, центральна вена та портальний тракт. Встановили, що метод ван Гісона і трибарвний метод Масона дають можливість диференціювати в гістологічних препаратах печінки хворих із мінімальною і слабо вираженою активністю ХВГ С початкові етапи розвитку колагенізації

стінок внутрішньочасточкових синусоїдів печінки за відсутності значного фіброзу в портальних трактах. Виявили, що ІГА хронічного вірусного гепатиту С не в усіх хворих корелює зі ступенем розвитку фіброзу печінки, визначеного в гістологічних препаратах, які забарвлені трибарвним методом Масона або за ван Гізоном. Найбільшу невідповідність ІГА гепатиту С і ступеня фіброзу печінки спостерігали у хворих із мінімальною і слабо вираженою активністю хвороби, у частини не виявили або зареєстрували слабкий і помірно виражений фіброз печінки.

Висновки

Прогностичні ознаки вірогідності розвитку значного фіброзу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит С: гіперплазія активованих А-SMA-позитивних клітин Іто в перисинусоїдальних просторах печінки і сегментарна колагенізація стінок внутрішньочасточкових венозних синусоїдів, наявність А-SMA-позитивних фібробластів в імуноклітинних «ступінчастих некрозах» і портальних трактах, розвиток тонких фіброзних септ із портальних трактів у часточках печінки, збільшення числа портальних трактів із фіброзом різного ступеня виразності.

Перспективи подальших досліджень. Враховуючи результати дослідження, планується удосконалити та встановити нові патогістологічні та імуногістохімічні ознаки прогресії фіброзу при ХВГ С.

Список літератури

1. Сторожаков Г.И. Патогенетические аспекты фиброгенеза при хронических заболеваниях печени / Г.И. Сторожаков, А.Н. Ивкова // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. – 2009. – №2. – С. 3–10.
2. Значение MMP-9 в диагностике фиброза печени у больных хроническими моно- и микст-вирусными гепатитами / В.А. Иванис, Е.А. Путилова, И.С. Горелова и др. // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2012. – №4. – С. 74–77.
3. Скляр Л.Ф. Цитокиновый профиль и фиброзрегулирующая активность ронколейкина при хроническом вирусном гепатите С / Л.Ф. Скляр, Е.В. Маркелова, И.С. Горелова // Цитокины и воспаление. – 2014. – Т.13. – №1. – С. 44–50.
4. Активность эластазо-, коллагеназоподобных протеиназ и их ингибиторов в плазме крови при метаболизме коллагена в условиях хронического течения заболеваний печени вирусной и токсической этиологии / Е.В. Белобородова, Э.И. Белобородова, О.Е. Акбашева и др. // Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2010. – №2. – С. 94–100.
5. Механизмы прогрессирования фиброза в печени при хроническом течении заболеваний вирусной и токсической этиологии / Е.В. Белобородова, Э.И. Белобородова, О.Е. Акбашева и др. // Медицинский вестник Северного Кавказа. – 2009. – Т. 14. – №2. – С. 19–24.
6. Friedman S. L. Hepatic fibrosis 2006: report of the third AASLD Single Topic Conference / S.L. Friedman, D.C. Rockey, D.M. Bissell // Hepatology. – 2007. – №45. – P. 242–249.
7. Parsons C.J. Molecular mechanisms of hepatic fibrogenesis / C.J. Parsons, M. Takashima, R.A. Rippe // J. Gastroenterol. Hepatol. – 2007. – Vol. 22(1). – P. 79–84.

References

1. Storozhakov, G. I., & Ivkova, A. N. (2009). Patogeneticheskie aspekty fibrogezeza pri khronicheskikh zabolevaniyakh pecheni. [Pathogenetic aspects of fibrogenesis in chronic liver diseases]. *Klinicheskie perspektivy gastroenterologii, gepatologii*, 2, 3–10. [in Russian].

Відомості про автора:

Шишкін М.А., к. мед. н., доцент каф. патологічної анатомії і судової медицини, Запорізький державний медичний університет, E-mail: masiles@mail.ru.

Сведения об авторе:

Шишкин М.А., к. мед. н., доцент каф. патологической анатомии и судебной медицины, Запорожский государственный медицинский университет, E-mail: masiles@mail.ru.

Information about author:

Shishkin M.A., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine, Zaporizhzhia State Medical University, E-mail: masiles@mail.ru.

Поступила в редакцию 28.01.2015 г.