

В.А. Туманский¹, Ю.А. Шебеко¹, Е.А. Громенко², С.В. Фень¹

Морфогенез перичеллюлярного фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С, ассоциированным со стеатозом печени

¹Запорожский государственный медицинский университет,²Запорожское областное патологоанатомическое бюро**Ключевые слова:** хронический вирусный гепатит С, стеатоз печени, фиброз, цирроз печени.

Изучение патоморфологических особенностей фиброза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С, ассоциированным со стеатозом печени, показало, что, в отличие от перисинусоидально-центролобулярного и портально-септального фиброза печени, характерного для вирусного гепатита С без стеатоза, у больных хроническим вирусным гепатитом С со стеатозом печени в зонах максимального стеатоза гепатоцитов и стеатокист вначале развивается очаговый перичеллюлярно-дольковый фиброз, который в дальнейшем прогрессирует в перичеллюлярный внутридольковый тяжелый фиброз печени.

Морфогенез перичеллюлярного фиброза печени у больных на хронический вирусный гепатит С, ассоциированный со стеатозом печени

В.О. Туманський, Ю.О. Шебеко, О.О. Громенко, С.В. Фень

Вивчення патоморфологічних особливостей фіброзу печінки у хворих на хронічний вірусний гепатит, асоційований зі стеатозом печінки показало, що, на відміну від перисинусоїдально-центролобулярного і портально-септального фіброзу, притаманного хронічному вірусному гепатиту С без стеатозу, у хворих на хронічний вірусний гепатит С зі стеатозом печінки в зонах максимального стеатозу гепатоцитів і стеатокіст спочатку розвивається вогнищевий перичелюлярно-дольковий фіброз, який у подальшому прогресує в перичелюлярний внутрішньодольковий тяжкий фіброз печінки.

Ключові слова: хронічний вірусний гепатит С, стеатоз печінки, фіброз, цирроз печінки.

Патологія. – 2012. – №2 (25). – С. 33–35

Morphogenesis of pericellular liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis C associated with hepatic steatosis

V.A. Tumanskiy, Yu.A. Shebeko, E.A. Gromenko, S.V. Fen'

The research of pathomorphological features of liver fibrosis in patients with chronic viral hepatitis C associated with hepatic steatosis has shown that as opposed to cases of perisinusoidal-central-lobular and portal-septal fibrosis, typical for chronic viral hepatitis C without steatosis, in patients with chronic viral hepatitis C with steatosis in areas of maximal hepatocyte steatosis and steatic cysts firstly focal pericellular-lobular fibrosis develops which then progresses into pericellular intralobular severe liver fibrosis.

Key words: chronic viral hepatitis C, hepatic steatosis, fibrosis, liver cirrhosis.

Pathologia. 2012; №2 (25): 33–35

В настоящее время большинство исследователей избегают применения термина «стеатогепатоз» (жировой гепатоз), основанного на концепции гепатоза Р. Рессле (1930), как обменно-метаболическом повреждении гепатоцитов без воспалительных изменений в печени, так как в динамике жирового гепатоза выделяется три микроскопически идентифицируемые стадии: простой жировой инфильтрации печени (раннего стеатоза), жировой дистрофии и некроза гепатоцитов с лимфоцитарно-лейкоцитарной инфильтрацией печени (стадии стеатогепатита), стадия фиброза печени (В.В. Серов, М.А. Пальцев и др., 1998). По совокупности клинических и патоморфологических данных в последние годы выделяется неалкогольная жировая болезнь печени (первичный и вторичный неалкогольный стеатогепатит), алкогольный стеатогепатит и стеатоз печени, ассоциированный с ХВГ С (И. Дамианов, 2006; A. Steven et al., 2009; B. Joung et al., 2011).

Хронический вирусный гепатит С (ХВГ С) вместе с алкогольным и неалкогольным стеатогепатитом являются основными причинами развития фиброза печени и его прогрессирования в цирроз с такими смертельными осложнениями, как печеночно-клеточная недостаточность, кровотечение, гепатоцеллюлярная карцинома

(M. Duvnjak et al., 2007; М.А. Андрейчин и соавт., 2010).

Особый интерес с этиопатогенетических и клинических позиций представляет ХВГ С, ассоциированный со стеатозом печени, который гистологически диагностируется у 30–70% больных ХВГ С [7]. Доказано, что 3 генотип вируса гепатита С ассоциирован с развитием стеатогепатита, инсулинорезистентности и нарушением липидного обмена в печени [8,9], в свою очередь, прогрессирующий стеатоз печени в 50% случаев усугубляет течение вирусного гепатита [10,11], способствует развитию тяжелого фиброза и цирроза печени [12,13], повышает риск возникновения гепатоцеллюлярной карциномы, а также снижает эффективность антивирусной терапии [13,14].

В последние годы активно изучают патогенетические механизмы воздействия разных генотипов вируса гепатита С на прогрессию стеатоза печени, тяжелого фиброза и цирроза печени, гепатоцеллюлярной карциномы [8,9,14,15]. Тем не менее, проблема развития тяжелого фиброза и цирроза печени со смертельными осложнениями у больных ХВГ С, ассоциированным со стеатозом печени, требует дальнейшего глубокого изучения.

Цель работы

Изучить патоморфологические особенности фиброза

печени у больных хроническим вирусным гепатитом С, ассоциированным со стеатозом печени.

Материалы и методы исследования

Проведено комплексное гистологическое, гистохимическое, иммуногистохимическое исследование трепанобиоптатов печени 20 больных ХВГ С 23–68 лет, у которых при микроскопии диагностирован стеатоз печени и по клиническим данным исключено чрезмерное употребление алкоголя. Условным контролем были трепанобиоптаты печени 25 больных вирусным гепатитом С без стеатоза печени и трепанобиоптаты печени 5 пациентов, не страдавших ХВГ С и стеатозом печени. Ткань печени фиксировали в забуференном 10% формалине, заливали в парафин, на ротационном микротоме HM 3600 изготавливали серийные гистологические срезы толщиной 3–4 мкм. В срезах ткани печени, окрашенных гематоксилином и эозином, по количеству внутридольковых очагов иммуноклеточного киллинга, количеству и протяженности перипортальных иммуноклеточных ступенчатых некрозов оценивали иммуноклеточную активность, а также диагностировали стеатоз печени по наличию стеатокист, гепатоцитов с мелко- и крупновакуольной жировой дистрофией. Степень стеатоза печени определяли по системе D.E. Kleiner (2005): S0 – жировая инфильтрация <5% гепатоцитов в поле зрения, стеатоз отсутствует; S1 – жировая инфильтрация =5–33% гепатоцитов в поле зрения, слабый стеатоз; S2 – жировая инфильтрация =33–66% гепатоцитов в поле зрения, умеренный стеатоз; S3 – жировая инфильтрация >66% гепатоцитов в поле зрения, тяжелый стеатоз [16]. Локализацию и распространенность фиброза печени оценивали в срезах гепатобиоптатов, окрашенных по методу Ван Гизон и трихром-Массон. В парафиновых срезах печени непрямым иммунопероксидазным методом с применением моноклональных антител и системы визуализации DAKO En Vision+ с диаминобензидином изучена экспрессия α -гладкомышечного актина (α -SMA) в активированных перисинусоидальных звездчатых клетках печени (ЗКП), коллагенов I и IV типа и CD68+ активированных макрофагов Купфера.

Результаты и их обсуждение

Проведенные исследования показали, что стеатоз печени при ХВГ С характеризуется значительной мелко-крупновакуольной дистрофией гепатоцитов в разных зонах печеночных долек, а также формированием мелких стеатокист в зонах максимального мелко-крупновезикулярного стеатоза гепатоцитов.

Известно, что вирус гепатита С способствует развитию стеатоза гепатоцитов, участвуя в регуляции липидного обмена печени на различных уровнях (A. Gordon et al., 2005; C.Y. Dai et al., 2008; T.J. Cross et al., 2009), однако пока не удается разграничить стеатоз, вызванный непосредственно вирусом гепатита С, и метаболический стеатоз, которым могут одновременно страдать больные ХВГ С, так как в таких ситуациях чаще всего у больных регистрируют инсулинорезистентность, гипергликемию, гиперлипидемию и другие метаболические нарушения. Все в совокупности приводит к увеличению уровня липополисахаридов в крови, к избыточному накоплению свободных жирных кислот в гепатоцитах и к развитию оксидативного стресса [17]. Развитию оксидативного стресса также способствует вирус гепатита С, нарушая

опосредованный HLA-II иммунный ответ [18]. Таким образом, нарастает мелко-крупновакуольный стеатоз гепатоцитов.

Установлено, что по мере нарастания от слабого (S1) до умеренного (S2) мелко-крупновакуольного стеатоза печеночных клеток в дольках печени у больных ХВГ С появляются конгломератные очаги иммуноклеточного киллинга нескольких гепатоцитов со значительным стеатозом, а также возрастает количество мелких стеатокист (рис. 1, цв. вкладка 1). Наиболее вероятно, что тяжелый стеатоз гепатоцитов инициирует иммуноклеточный киллинг этих клеток. В ранее опубликованных работах [19,20] показано, что в очаге иммуноклеточного киллинга гепатоцит окружается CD8+ Т-лимфоцитами-киллерами, одиночными NK-клетками и CD68+ макрофагами, осуществляющими киллинг (уничтожение) гепатоцитов, погибающих путем апоптоза или некроза. Результаты гистохимических исследований доказали, что в участках конгломератного киллинга гепатоцитов в дольках формируются мелкие локусы фиброза (рис. 2, цв. вкладка 1).

Высокий уровень липополисахаридов в крови, стеатоз и усиление перекисного окисления липидов в гепатоцитах активируют макрофаги Купфера. При иммуногистохимическом анализе установлено, что к гепатоцитам со значительным мелко- и крупновакуольным стеатозом мигрируют перисинусоидальные CD68+ макрофаги. Окружая поврежденные гепатоциты, макрофаги Купфера приобретают отростчатую форму, увеличивают объем цитоплазмы и отростков, что свидетельствует об их высокой фагоцитарной активности. Наиболее ярко этот процесс выражен в очагах формирования стеатокист (рис. 3, цв. вкладка 1).

Известно, что CD68+ активированные макрофаги Купфера являются основными продуцентами тромбоцитарного фактора роста (PDGF)-предоминантного митогена для активированных α -SMA+ перисинусоидальных ЗКП и мощного фиброгенного цитокина TGF- β 1 [21,22]. Усиление стеатоза гепатоцитов и активация секреции фиброгенных цитокинов (TGF- β , PDGF, ангиотензин-II, лептин, IL1 α , IL1 β , TNF- α и др.) гепатоцитами, лимфоцитами и новыми популяциями фиброгенных клеток печени приводит к увеличению общего количества активированных α -SMA+ перисинусоидальных ЗКП в дольках печени у больных ХВГ С, которые локализуются вокруг гепатоцитов со значительным стеатозом, а также вокруг стеатокист (рис. 4, цв. вкладка 1) [21–24]. Параллельные гистохимические и иммуногистохимические исследования показали, что на этапе умеренного (S2) мелко-крупновакуольного стеатоза печеночных клеток именно вокруг стеатокист увеличивается число фиброгенных α -SMA+ перисинусоидальных звездчатых клеток Ито, синтезирующих избыток коллагена и других молекул межклеточного матрикса, а также формируются очаги внутридолькового неравномерного фиброза с накоплением коллагена I и IV типа, идентифицируемого в микропрепаратах, окрашенных по Ван-Гизон и трехцветным методом Массона (рис. 5, цв. вкладка 2).

Результаты параллельного микроскопического и иммуногистохимического анализа экспрессии α -SMA и коллагена IV типа показали, что при тяжелом стеатозе гепатоцитов (S3) у больных ХВГ С в биоптатах печени регистрируется значительное увеличение количества

активированных α -SMA+ перисинусоидальных звездчатых клеток вокруг гепатоцитов с выраженным стеатозом, что приводит к развитию тяжелого внутридолюлярного перидолюлярного фиброза с избыточным накоплением вокруг пораженных клеток печени коллагена IV типа (рис. 6, цв. вкладка 2). Активация синтеза α -SMA+ звездчатыми клетками коллагена и других молекул межклеточного матрикса приводит к развитию тяжелого и распространенного внутридолюлярного перидолюлярно-перисинусоидального фиброза печени.

Проведенные ранее гистохимические и иммуногистохимические исследования [25] показали, что у больных ХВГ С без стеатоза печени активируются иные механизмы фиброгенеза и развивается портально-септальный или перисинусоидально-центролобулярный фиброз печени.

Таким образом, у больных хроническим вирусным гепатитом С, ассоциированным со стеатозом печени, развивается вначале очаговый перидолюлярно-долюлярный фиброз печени в очагах максимального стеатоза гепатоцитов и появления мелких стеатокист, который в дальнейшем прогрессирует в субтотальный тяжелый внутридолюлярный перидолюлярно-перисинусоидальный фиброз печени с портальной гипертензией.

Выводы

У больных хроническим вирусным гепатитом С, ассоциированным с умеренным стеатозом печени (S2), формируется внутридолюлярный очаговый фиброз в участках конгломератного киллинга гепатоцитов, а также в локусах максимального стеатоза гепатоцитов и образования мелких стеатокист.

На этапе тяжелого стеатоза гепатоцитов (S3) у больных ХВГ С регистрируется значительное увеличение количества активированных α -SMA+ перисинусоидальных звездчатых клеток вокруг гепатоцитов с выраженным стеатозом, и формируется субтотальный тяжелый внутридолюлярный перидолюлярно-перисинусоидальный фиброз печени с портальной гипертензией.

Список литературы

1. Патологическая анатомия: курс лекций / [В.В. Серов, М.А. Пальцев, В.А. Варшавский и др.]; под ред. В.В. Серова, М.А. Пальцева. – М.: Медицина, 1998. – 640 с.
2. Дамианов И. Секреты патологии [пер. с англ.] / И. Дамианов. – М.: ООО «Мед. информ. агентство», 2006. – 816 с.
3. Steven A. Core pathology / A. Steven, J. Love, I. Scott. – Third Ed. – MOSBY Elsevier, 2009. – 632 p.
4. Joun B. Wheaters Basic Pathology / B. Joun, W. Stevart, G. O'Dowd. – Fifth Ed. – CHURCHILL LIVINGSTONE Elsevier, 2011. – 337 p.
5. Вірусні гепатити і рак печінки / [М.А. Андрейчин, В.І. Дрижак, О.В. Рябоконт, В.С. Копча]. – Тернопіль: ТДМУ, 2010. – 188 с.
6. Duvnjak L. The metabolic syndrome – an ongoing story / L. Duvnjak, M. Duvnjak // J. Physiol. Pharmacol. – 2009. – Vol. 60, suppl. 7. – P. 19–24.
7. Perumalswami P. Steatosis and progression of fibrosis in untreated patients with chronic hepatitis C infection / P. Perumalswami, D.E. Kleiner, G. Lutchman [et al.] // Hepatology. – 2006. – Vol. 43, №4. – P. 780–787.
8. Enjoi M. Metabolic Disorders and Steatosis in Patients with Chronic Hepatitis C: Metabolic Strategies for Antiviral

- Treatments / M. Enjoi, M. Kohjima, K. Kotoh [et al.] // Int J Hepatol. – 2012. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC337124/>
9. Qiang G. Lipid Droplet Binding of Hepatitis C Virus Core Protein Genotype 3 / G. Qiang, R. Jhaveri // ISRN Gastroenterol. – 2012. – Режим доступу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22844606>
 10. Lonardo A. Steatosis and hepatitis C virus: mechanisms and significance for hepatic and extrahepatic disease / A. Lonardo, L.E. Adinolfi, P. Loria [et al.] // Gastroenterology. – 2004. – Vol. 126, №2. – P. 586–597.
 11. Powell E.E. Steatosis: co-factor in other liver diseases. / E.E. Powell, J.R. Jonsson, A.D. Clouston // Hepatology. – 2005. – Vol. 42, № 1. – P. 5–13.
 12. Cross T.J. The impact of hepatic steatosis on the natural history of chronic hepatitis C infection / T.J. Cross, A. Quaglia, S. Hughes [et al.] // J Viral Hepat. – 2009. – Vol. 16, №7. – P. 492–499.
 13. Ripoli M. Impact of HCV genetic differences on pathobiology of disease / M. Ripoli, V. Paziienza // Expert Rev Anti Infect Ther. – 2011. – Vol. 9, №9. – P. 747–759.
 14. Hui J.M. Insulin resistance is associated with chronic hepatitis C virus infection and fibrosis progression / J.M. Hui, A. Sud, G.C. Farrell [et al.] // Gastroenterology. – 2003. – Vol. 125, №6. – P. 1695–1704.
 15. Jhaveri R. Domain 3 of hepatitis C virus core protein is sufficient for intracellular lipid accumulation // R. Jhaveri, G. Qiang, A.M. Diehl // J Infect Dis. – 2009. – Vol. 200, №11. – P. 1781–1788.
 16. Kleiner D.E. Decision and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease / D.E. Kleiner, E.M. Brunt, M. van Natta [et al.] // Hepatology. – 2005. – Vol. 41. – P. 1313–1321.
 17. Степанов Ю.М. Стеатоз печени и неалкогольный стеатогепатит: современный взгляд на патогенез, диагностику и лечение / Ю.М. Степанов, А.Ю. Филиппова // Здоров'я України. – 2004. – №103. – Режим доступу: <http://health-ua.com/articles/977.html>
 18. Hepatitis C virus core and nonstructural proteins induce fibrogenic effects in hepatic stellate cells / R. Bataller, Y.H. Paik, J.N. Lindquist [et al.] // Gastroenterology. – 2004. – №126. – P. 529–540.
 19. Туманский В.А. Иммуноклеточный киллинг: морфогенез и последствия для больных хроническим вирусным гепатитом / В.А. Туманский, М.А. Шишкин, Ю.А. Шебеко // Патологія. – 2008. – Т. 5, №3 – С. 110–112.
 20. Туманский В.А. Патогенно индуцированный апоптоз гепатоцитов при хроническом вирусном гепатите: молекулярные механизмы и микроскопическая диагностика / В.А. Туманский, Ю.А. Шебеко // Патологія. – 2008. – Т. 5, №3 – С. 29–34.
 21. Bonner J.C. Regulation of PDGF and its receptors in fibrotic diseases / J.C. Bonner // Cytokine Growth Factor Rev. – 2004. – Vol. 15, №4. – P. 255–273.
 22. Ghatak S. Oxidative stress and hepatic stellate cell activation are key events in arsenic induced liver fibrosis in mice / S. Ghatak, A. Biswas, G.K. Dhali [et al.] // Toxicol. Appl. Pharmacol. – 2010. – Vol. 251, №1. – P. 59–69.
 23. Gieling R.G. Fibrosis and cirrhosis reversibility - molecular mechanisms / R.G. Gieling, A.D. Burt, D.A. Mann // Clin. Liver Dis. – 2008. – Vol. 12, Iss. 4. – P. 915–937.
 24. Fibroblasts derive from hepatocytes in liver fibrosis via epithelial to mesenchymal transition / M. Zeisberg, C. Yang, M. Martino [et al.] // J. Biol. Chem. – 2007. – Vol. 282. – P. 23337–23347.
 25. Шебеко Ю.А. Особенности морфогенеза и прогрессии фиброза и цирроза печени у больных хроническим вирусным гепатитом С: автореф. дис. ... к. мед. наук: спец. 14.03.02 «Патологическая анатомия» / Ю.А. Шебеко – 3, 2011. – 22 с.

Сведения об авторах:

Туманский В.А., д. мед. н., профессор, зав. каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ.
Шебеко Ю.А., к. мед. н., ассистент каф. патологической анатомии и судебной медицины с основами права ЗГМУ.
Громенко Е.А., зав. патологоанатомическим отделением №3 Запорожского областного патологоанатомического бюро.
Фень С.В., студент 6 курса 1 медицинского факультета ЗГМУ.

Надійшла в редакцію 29.08.2012 р.