

УДК 616-022.6:616.988:578.27

**МОРФОГЕНЕЗ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С И ЦИРРОЗА ПЕЧЕНИ
ИНФЕКЦИОННО-ВИРУСНОГО ГЕНЕЗА****Галина Ивановна НЕПОМНЯЩИХ, Светлана Владимировна АЙДАГУЛОВА, Давид Львович НЕПОМНЯЩИХ,
Жанна Викторовна НОХРИНА, Елена Владимировна ВИНОГРАДОВА, Юлия Юрьевна КАРАВАЕВА***ГУ НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН
630117, Новосибирск, ул. Академика Тимакова, 2*

Исследованы хронический гепатит С и цирроз печени инфекционно-вирусного генеза. Представлена концепция антивирусной защиты гепатоцитов, заключающаяся в снижении биосинтетических реакций гепатоцитов и способности к элиминации вирусных частиц. Установлено, что степень активности хронического гепатита С не определяется ни количеством инфицированных гепатоцитов, ни содержанием РНК вируса гепатита С (*hepatitis C virus*, HCV) в образцах крови и ткани печени. Ведущую роль в развитии цирроза печени играет гибель гепатоцитов. Показана возможность редукции перигепатоцеллюлярного фиброза за счет резорбции коллагеновых фибрилл гепатоцитами.

Ключевые слова: хронический гепатит С, цирроз печени, биопсия печени, патоморфология.

В настоящее время доказана способность большинства возбудителей к длительной, нередко пожизненной персистенции в организме инфицированного. Персистенция бактерий и вирусов рассматривается как закономерное биологическое явление, так как организм остается единственным генератором и хранителем большинства инфекционных агентов вирусной и бактериальной природы [1, 2].

Вирусный гепатит С (HCV-инфекция) занимает особое место среди персистирующих инфекций. Наиболее важной особенностью HCV-инфекции является чрезвычайная способность вируса к длительной персистенции в организме хозяина. Несмотря на наличие вирус-специфического иммунного ответа, у большинства инфицированных лиц он не приводит к элиминации вируса и не защищает от реинфекции.

Значительный прогресс в исследовании хронических вирусных гепатитов и цирроза печени инфекционно-вирусного генеза связан с созданием нескольких крупных научно-клинических коллективов, занимающихся этой чрезвычайно важной проблемой [3 – 9].

Наши данные основаны на анализе результатов комплексного клинико-патоморфологического исследования 285 пациентов с хронической HCV-инфекцией (в том числе

86 случаев — хроническая микст-инфекция HCV+HBV (вирус гепатита В)), проведенных ГУ НИИ региональной патологии и патоморфологии СО РАМН на базе Государственной Новосибирской областной клинической больницы и Муниципальной инфекционной клинической больницы № 1 г. Новосибирска.

В клиническом исследовании кроме детального изучения анамнеза тестировали биохимические показатели крови, серологические маркеры вирусных гепатитов А, В, С и D; с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) выявляли РНК HCV в сыворотке и моноклеарных клетках крови, в нативной ткани печени, в образцах мочи и слюны, а также ДНК HBV в образцах крови и ткани печени. Выполняли генотипирование HCV и оценку уровня виремии.

При исследовании пункционных биопсий печени (410 биоптатов) кроме световой микроскопии парафиновых и полутонких срезов и электронной микроскопии проводили иммуногистохимическое исследование парафиновых срезов на выявление NS3Ag HCV и гладкомышечного α -актина.

При анализе патоморфологических изменений в биоптатах печени использована Лос-Анджелесская классификация хронических гепатитов [10], выделяющая в качестве ведущей характеристики этиологический фактор,

Непомнящих Г.И. — д.м.н., профессор, зам. директора по научной работе, e-mail: pathol@soramn.ru

Айдагулова С.В. — д.б.н., профессор, зав. лаб. функциональной морфологии

Непомнящих Д.Л. — д.м.н., профессор, зав. лаб. клинической морфологии, гастроэнтерологии и гепатологии

Нохрина Ж.В. — канд.м.н., старш.н.с. лаб. клинической морфологии, гастроэнтерологии и гепатологии

Виноградова Е.В. — канд.м.н., старш.н.с. лаб. клинической морфологии, гастроэнтерологии и гепатологии

Караваяева Ю.Ю. — канд.м.н., старш.н.с. лаб. ультраструктурных основ



Рис. 1. Схема морфогенеза хронического вирусного гепатита

а также определение степени активности инфекционного процесса и стадии развития фиброза. Общую степень активности инфекционного процесса оценивали по трем составляющим: клинической, биохимическим тестам с ведущей ролью цитолитического синдрома и структурным изменениям печени.

В результате проведенного нами комплексного клинко-морфологического исследования пациентов с маркерами HCV-инфекции было установлено, что хронический гепатит С характеризуется однородностью клинических проявлений, преимущественно легким малосимптомным или скрытым течением, минимальной или слабо выраженной степенью активности патологического процесса и в большинстве случаев слабо выраженными явлениями фиброза. Хроническая микст-инфекция HCV+HBV отличается более тяжелым течением [11].

Морфогенез хронического гепатита С можно рассматривать по трем взаимосвязанным составляющим (рис. 1): поражение гепатоцитов, реакция непаренхиматозных клеточных популяций печени и ремоделирование соединительной ткани — развитие фиброза. Ведущей и универсальной реакцией паренхиматозных клеток печени при любом повреждающем воздействии является дистрофия, иногда приводящая к некробиозу и некрозу гепатоцитов. В последние годы выделяют апоптотическую гибель клеток, куда относят и тельца Каунсильмена [12]. Необходимо выделить также гибель гепатоцитов в результате накопления в цитоплазме железа, меди, и, что бывает довольно часто, компонентов желчи. Некрозы гепатоцитов в биоптатах при HCV-инфекции обна-

руживаются крайне редко, иногда встречаются постнекротические гранулемы.

Вторая составляющая морфогенеза — клеточная инфильтрация (реакция иммунокомпетентных клеток на вирусную инфекцию), связанная с миграцией и пролиферацией Т-лимфоцитов, формирующих агрегаты в портальных трактах с последующим распространением в паренхиме.

Третий компонент морфогенеза — фиброз печени как результат комплекса деструктивно-пролиферативных реакций в динамике хронического инфекционно-вирусного процесса. Эволюция фиброза при вирусных гепатитах представляется как первичный фиброз портальных трактов с последующим распространением по направлению к центральной вене и соседним портальным трактам с образованием порто-портальных и порто-центральных септ [9]. Второй вариант фиброза — метаболический (при алкогольной болезни, длительном приеме различных лекарственных и наркотических препаратов) — начинается с области центральной печеночной вены — зоны наибольшей метаболической нагрузки, затем распространяется к портальным трактам с последующим формированием порто-центральных септ. В связи с этим преобладание второго варианта является важным морфологическим диагностическим тестом токсического воздействия. И, наконец, третий вариант фиброза — перигепатоцеллюлярный, прогностически наиболее важный, определяющий функционально-метаболическое состояние органа.

Дистрофия гепатоцитов. Дистрофия и сейчас остается одним из наиболее сложных и до конца не понятых феноменов общей патологии. Ранее в серии экспериментальных и клинических исследований с использованием радиоавтографии, оценивающей биосинтетические реакции клетки, нами была выделена новая форма дистрофии — клеточно-инволютивная, суть которой не деструкция цитоплазматических органелл, а их инволюция, недовоспроизводство в связи с дефицитом пластических ресурсов клетки [13]. Этот вид дистрофии оказался доминирующим при HCV-инфекции [4, 11].

Микроскопически клеточно-инволютивная дистрофия проявлялась фокальной или почти тотальной «опустошенностью» цитоплазматического матрикса (рис. 2, а; 3, а) при сохранении ядерного компартмента — интактного ядра и перинуклеарных комплексов цитоплазматических органелл, определяющих возможность последующей внутриклеточной регенерации, что позволяет считать это состояние клетки

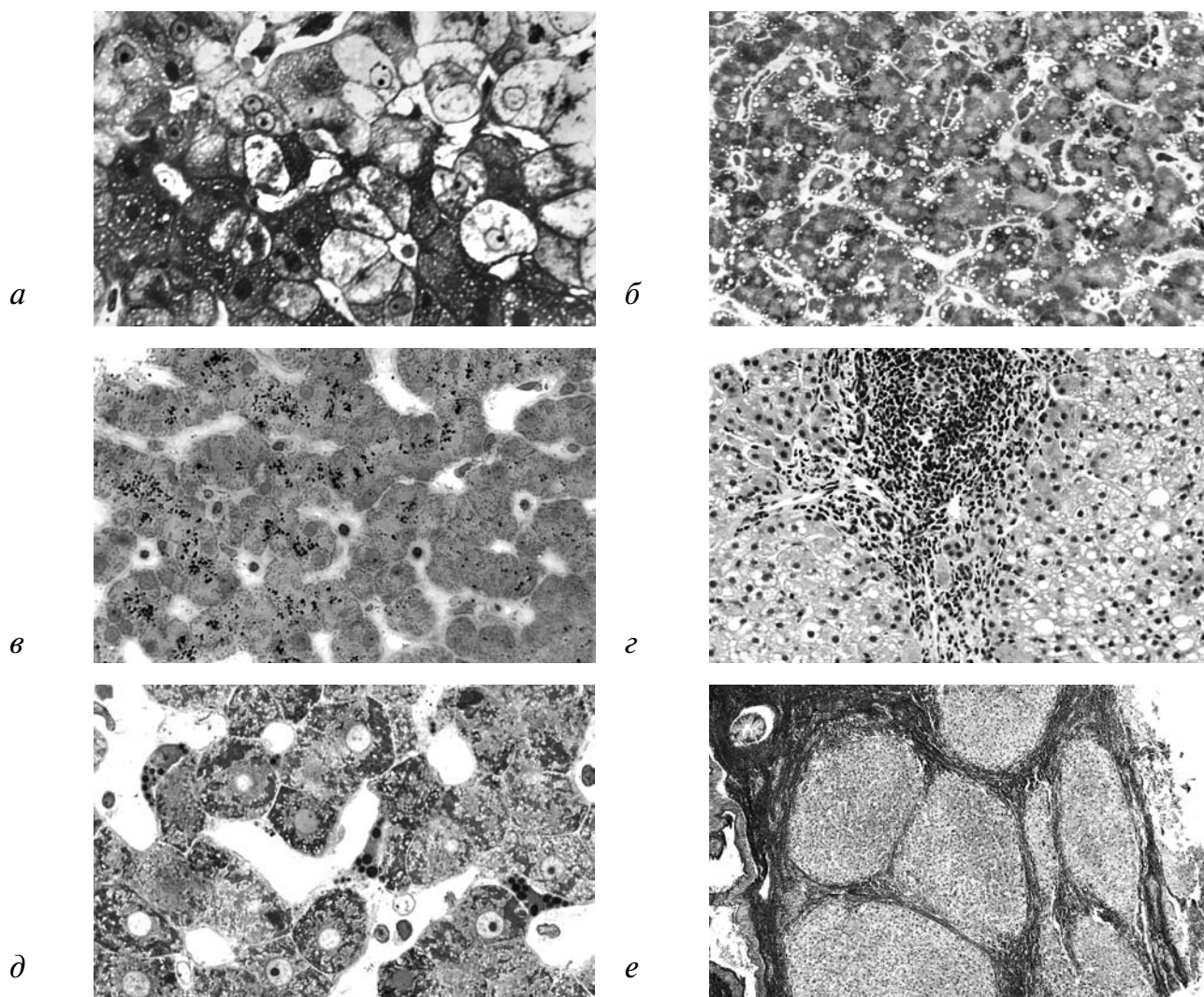


Рис. 2. Хронический гепатит С и С+В. Пункционные биопсии печени. а — клеточно-инволютивная дистрофия: опустошенность цитоплазмы, сохранение ядра, увел. 800; б — мелковезикулярная субцитостомальная липидная инфильтрация гепатоцитов, увел. 400; в — внутриклеточный холестаз, увел. 450; г — лимфоидный агрегат в портальном тракте, полиморфная липидная инфильтрация гепатоцитов, увел. 200; д — липидосодержащие звездчатые клетки печени в пространствах Диссе, увел. 1000; е — гепатит С+В, цирроз печени (аутопсия): ложные дольки, окруженные фиброзной тканью, увел. 150. а, б, в, д — полутонкие срезы, окраска реактивом Шиффа и азуром II; г — окраска гематоксилином и эозином; е — окраска по ван Гизону.

обратимым. В инфицированной клетке возникали фокальные очаги дегенерации мембранных цитоплазматических органелл с последующим формированием гетерогенных резидуальных телец, мигрирующих к васкулярному полюсу гепатоцита и обнаруживаемых в пространстве Диссе.

«Опустошение» цитоплазмы с сохранением ядра и перинуклеарного регенераторного компартмента может рассматриваться в качестве «превентивного клеточного торможения», носящего универсальный защитный характер и, как показано в эксперименте, с большой эффективностью предохраняющего клетки от патогенных факторов — вирусов, токсинов

и др. [14]. С другой стороны, «опустошение» может являться периодом «санации» гепатоцитов от дегенерирующих органелл с последующим восстановлением ультраструктурной организации. Санация гепатоцитов не требует массивного лизиса инфицированных клеток, сохраняя функциональную целостность органа, в отличие от иммуноопосредованной цитодеструкции.

В патоморфологическом анализе биоптатов печени при HCV-инфекции было уделено особое внимание липидной инфильтрации гепатоцитов — одному из главных маркеров гепатита С [8]. Она имела, как правило, диффузный и полиморфный характер и обнаружена в 87%

биоптатов. Мы пришли к выводу, что фазе репликации вируса гепатита С (по сопоставлению с ПЦР) соответствует именно мелко-везикулярная субплазмолеммальная липидная инфильтрация (**рис. 2, б**) [15], отражающая, по-видимому, аварийную репаративную реакцию клетки на прямой цитопатический эффект вируса, проникающего в клетки путем эндоцитоза [16]. Связь вирусных белков с экспрессией фенотипических изменений была исследована на трансгенных линиях мышей, несущих HCV-core-антиген [17], где показана прямая роль этого антигена в развитии стеатоза печени.

Крупновезикулярная липидная инфильтрация гепатоцитов, нередко встречаемая в биоптатах печени при хронических вирусных гепатитах, характерна для токсических воздействий и имеет, вероятно, компенсаторный характер, минимизируя функцию клетки, но сохраняя численность популяции гепатоцитов и возможность последующего восстановления. В большинстве биоптатов печени формируется полиморфная липидная инфильтрация — от минимальной, видимой лишь на полутонких срезах, до гигантских капель, заполняющих целиком всю цитоплазму. Обращает на себя внимание дистрофия, связанная с накоплением в цитоплазме гепатоцитов компонентов желчи, иногда довольно значительная (**рис. 2, в**).

Вторая составляющая морфогенеза — реакция непаренхиматозных клеток. Клеточная инфильтрация при хроническом гепатите С имеет, как правило, мононуклеарный характер, состоит преимущественно из лимфоцитов с небольшим числом макрофагов, в ряде случаев появляются эозинофилы, иногда их достаточно много, что характерно для лекарственного поражения печени, в том числе связанного с приемом наркотических препаратов; нейтрофильная инфильтрация печени является одним из косвенных маркеров алкогольного поражения печени.

Клеточная инфильтрация локализуется в портальных трактах, междольковых перегородках и внутри долек, нередко формируя в портальных трактах лимфоидные фолликулы и агрегаты (**рис. 2, г**). Одним из важных моментов в оценке клеточной инфильтрации печени является распространение ее из портальных трактов через пограничную пластинку в паренхиму путем «растекания» инфильтрата и развития «ступенчатых некрозов». Необходимо обратить внимание на особенности оценки выраженности клеточной инфильтрации печени. В этом аспекте важен тот факт, что при самых

тяжелых формах хронического гепатита, протекающего с выраженным некротическим компонентом («агрессивный гепатит»), клеточная инфильтрация может отсутствовать или быть минимальной. По-видимому, преимущественно лимфоцитарная клеточная инфильтрация характеризует скорее компенсаторную реакцию печени и развитие адекватного иммунного ответа.

Таким образом, при хронической HCV-инфекции развивается особая реакция иммунной системы, которая находит свое выражение в уникальном морфологическом феномене — диффузной гиперплазии лимфоидной ткани с формированием в большинстве (79%) биоптатов печени лимфоидных фолликулов и агрегатов, что позволяет считать этот признак патогномоничным для хронического гепатита С и интерпретировать как ответную реакцию на генетическую гетерогенность и изменчивость HCV.

Третий компонент морфогенеза — фиброз печени, прогностически наиболее важный тест, определяющий темпы фиброзирования и скорость развития цирроза. Фиброз обнаружен во всех изученных нами биоптатах печени: портальный — 100 %, центральный — 45 %, перигепатоцеллюлярный, очаговый или диффузный — 80 % случаев, перилобулярный (врожденный фиброз) — 2 случая. Важное значение имели результаты сопоставления сроков с момента инфицирования вирусом гепатита С и стадией развития фиброза. Проведенный анализ показал, что стадия фиброза не зависит от вероятной длительности инфицирования HCV. Случаи с незначительными признаками фиброза печени составляли большую часть наблюдений, даже при длительности инфицирования, превышающей 10–20 лет.

Таким образом, главными морфологическими маркерами хронической HCV-инфекции являются мелкоvesикулярная липидная инфильтрация гепатоцитов, клеточно-инволютивная дистрофия гепатоцитов и формирование лимфоидных агрегатов и фолликулов в портальных трактах.

Хроническая микст-инфекция HCV+HBV имеет свои особенности. В морфогенезе поражений печени преобладала ацидофильная дегенерация гепатоцитов с формированием единичных «апоптотических» телец (агрегация мембранных органелл, мелкоvesикулярная модификация цитоплазматической сети). Количество липидосодержащих гепатоцитов и клеток в состоянии клеточно-инволютивной дистрофии

было значительно меньшим по сравнению с моноинфекцией HCV. Кроме того, более редко формировались лимфоидные фолликулы в строме (27%). В целом, в биоптатах печени при микст-инфекции в сравнении с моноинфекцией HCV отмечена большая глубина и распространенность дистрофических изменений, а также альтерация гепатоцитов в виде моноцеллюлярных и более крупных очагов некроза.

Очаги некроза паренхимы печени при вирусных гепатитах бывают двух видов. Одни из них возникают в результате инфицирования клетки и последующего развития киллерного эффекта, имеют внутридольковую локализацию, чаще небольшие размеры (занимают территорию 5–10 клеток), округлую форму и более четко определяются в стадии формирования постнекротической гранулемы.

Другие некрозы, называемые «ступенчатыми», возникают перипортально вследствие дезорганизации гепатоцитов клеточным инфильтратом. По сути – это неспецифическое, характерное для многих патологических процессов разрушение предсуществующих структурных компонентов клеточным инфильтратом или грануляционной тканью. По-видимому, фокальные внутридольковые некрозы гепатоцитов имеют большее значение в определении степени активности процесса, так как косвенно отражают патогенность вируса гепатита, их можно считать специфическими вирусогенными. «Ступенчатые» же некрозы гепатоцитов можно отнести к «пассивным» реакциям.

В большинстве биопсий (64%) при микст-инфекции выявлены характерные изменения ядер чаще всего перипортальных гепатоцитов в виде центральных просветлений нуклеоплазмы – перстневидные ядра, являющиеся морфологическим маркером HBsAg (рис. 3, б). Определялись различные этапы формирования перстневидного ядра: маргинальные скопления гетерохроматина и расширение ядерных пор, затем постепенный лизис нуклеолеммы, сопровождающийся дальнейшей конденсацией и дислокацией хроматина; в результате – своеобразная конструкция конденсированного хроматина. Важно подчеркнуть, что при этом цитоплазматический компартмент гепатоцитов может оставаться «индифферентным» к превращениям ядер [18].

Это связано с тем, что ДНК-вирусы млекопитающих крайне редко вызывают лизис клеток, ДНК вируса встраивается в хромосому хозяина и на протяжении многих циклов деления клеток размножается в составе клеточ-

ной ДНК, вызывая латентные формы HBV-инфекции [19]. Цитолизис развивается только в силу возникновения хромосомных повреждений или в результате цитотоксической реакции Т-лимфоцитов.

Таким образом, микст-инфекция HCV+HBV характеризуется фенотипической гетерогенностью популяции гепатоцитов, связанной с разнообразием цитопатических эффектов, вызванных комплексным вирусным воздействием. РНК-вирус гепатита С повреждает преимущественно цитоплазматические органеллы при сохранении ядра, ДНК-вирус гепатита В вызывает в первую очередь деградацию ядерного компартмента с формированием выявляемой светоптически перстневидности ядер гепатоцитов.

Особый интерес представляли наблюдения, в которых имелось *сочетанное воздействие опиатов и вирусной инфекции*. В этих случаях в печени наблюдался комплекс структурных изменений, по светомикроскопической картине существенно не отличающийся от тех, которые описаны при хронических гепатитах С и С+В. Но некоторые тканевые и ультраструктурные изменения имели определенные особенности, связанные, вероятно, с метаболизмом наркотических веществ. В частности, обнаружены крупновезикулярная липидная инфильтрация и специфичность фиброзных изменений печени с преимущественным склерозом центральных вен и централобулярной зоны (метаболический фиброз) даже при минимальном склерозе портальной и перипортальной ткани. К особенностям ультраструктурной реорганизации печени в этих случаях можно отнести гиперплазию агранулярной цитоплазматической сети (как проявление напряжения детоксикационной функции печени), коллагенизацию пространств Диссе (рис. 3, в, г) и гигантские митохондрии в гепатоцитах [20].

Репликация вируса гепатита С в морфогенезе хронической HCV-инфекции. Одно из важнейших свойств HCV – способность к репликации во многих органах – в печени, мононуклеарных клетках крови и костного мозга, почках, сердце, поджелудочной железе, кишечнике, лимфатических узлах, щитовидной железе, селезенке [21].

При HCV-моноинфекции РНК вируса в наших исследованиях обнаружена в сыворотке крови в 77% случаев, в мононуклеарных клетках крови – в 73%; одновременно в сыворотке и мононуклеарах – в 55% наблюдений. Важно отметить наличие РНК HCV в некоторых образцах слюны и мочи. ПЦР на РНК HCV

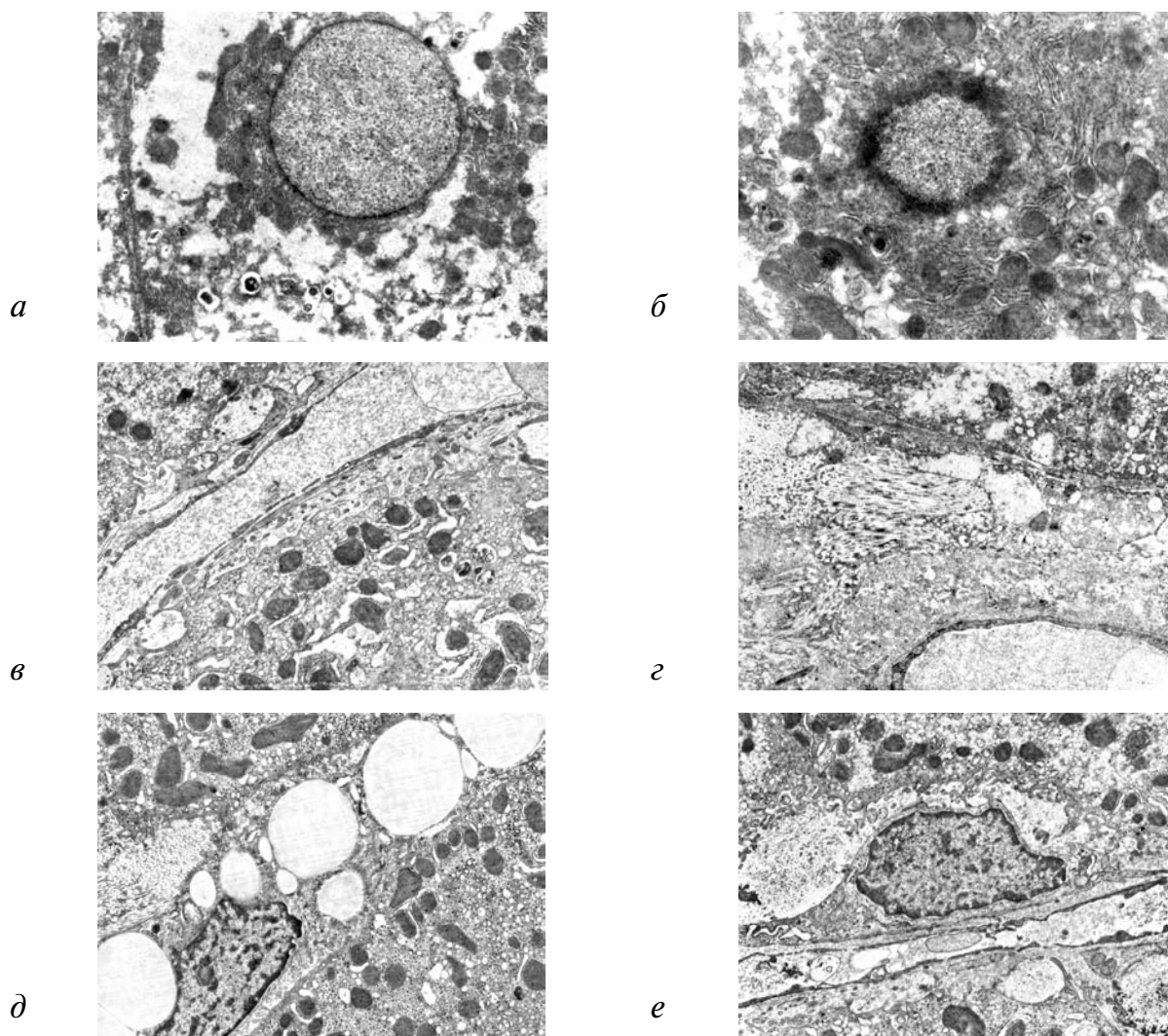


Рис. 3. Хронический гепатит С и С+В. Пункционные биопсии печени. Ультраструктурное исследование. а — опустошенность цитоплазматического матрикса, редукция белоксинтезирующих органелл, сохранение ядерного компартмента, увел. 5000; б — перстневидная трансформация ядра гепатоцита, увел. 3000; в — пространство Диссе в норме, увел. 4000; г — пространство Диссе расширено, заполнено многочисленными коллагеновыми фибриллами, капилляризация синусоида, увел. 4000; д — липидосодержащая звездчатая клетка печени, увел. 4000; е — фиброгенная звездчатая клетка печени в пространстве Диссе, перицеллюлярно — коллагеновые фибриллы, увел. 4000.

в нативной ткани печени была позитивной в 79% случаев. При комплексном анализе (сыворотка, мононуклеарные клетки крови, ткань печени) три положительных результата получены в 52% наблюдений [15].

По нашим данным, распределение по степени активности HCV-инфекции не зависит от репликации вируса — наличие РНК вируса гепатита С в образцах крови и/или ткани печени (по данным ПЦР) и число инфицированных гепатоцитов (по экспрессии NS3Ag HCV) не имеет достоверной связи со степенью активности инфекционного процесса, оцениваемой по структурным изменениям печени и клинико-биохимическим тестам. Кроме того, при доста-

точно высоком уровне виремии (от 10^6 до 10^8 копий РНК HCV в 1 мл плазмы) доминировали минимальные изменения структуры печени; в целом, в 60% случаев ($r = 0,631$, $p < 0,01$) определялась слабо выраженная степень активности хронической HCV-инфекции (рис. 4).

Таким образом, поражение печени при хронической HCV-инфекции не имеет прямого отношения ни к количеству инфицированных гепатоцитов, ни к содержанию РНК HCV в образцах крови и ткани печени. Ведущими моментами в интерпретации этого парадокса могут быть особенности морфогенеза хронического гепатита С. В основе этого феномена, по-видимому, лежит выраженная антивирусная

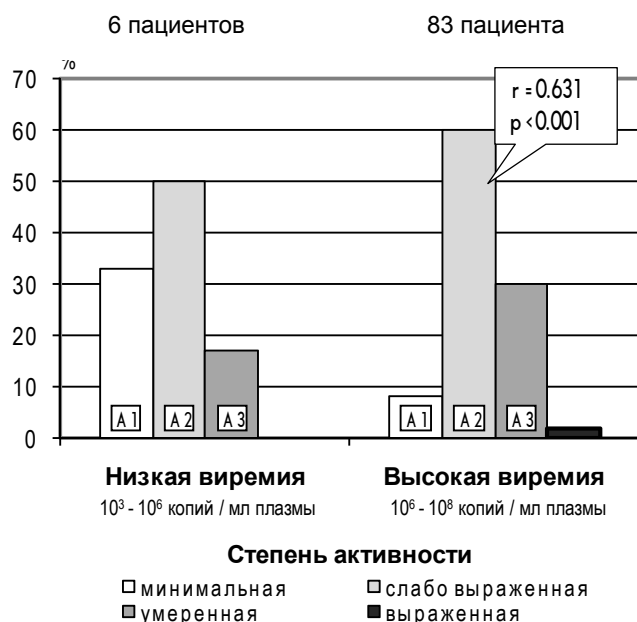


Рис. 4. Уровень виремии HCV и степень активности хронического гепатита С

реакция паренхиматозных клеток печени при HCV-инфекции, обеспечивающая сохранение популяции гепатоцитов и нивелирующая интенсивную репликацию вируса [5].

Морфогенез фиброза и цирроза печени. Фиброз печени — универсальная реакция на хроническое поражение печени, вызванное множеством причин, включая алкоголь, персистирующие вирусные и гельминтные инфекции, наследственные нарушения обмена металлов [22–27]. В настоящее время достигнут значительный прогресс в понимании клеточных и молекулярных механизмов регуляции фиброза печени [28, 29]. Установлено, что накопление экстрацеллюлярного матрикса при развитии фиброза печени — не статичный и/или однонаправленный процесс. Стало очевидно, что фиброз — это динамический процесс с нефиксированной скоростью и нелинейными характеристиками, скорость прогрессирования его может ускоряться и замедляться, и этот процесс не может быть стандартизирован [30, 31].

Проведя исследование трех групп наблюдений пациентов с циррозом печени (моноинфекция HCV, HCV+этанол и микст-инфекция HCV+HBV) и установив условно скорость прогрессирования цирроза, мы обнаружили, что при моноинфекции HCV преобладал медленно прогрессирующий фиброз, в двух других группах — умеренно прогрессирующий. Важно отметить, что эта скорость резко изменялась при воздействии гепатотоксических факторов, и цирроз приобретал характер быстро прогрес-

сирующего. По нашим данным, среди факторов, способствующих быстрому прогрессированию цирроза печени, были этанол (56%), микст-инфекция HCV+HBV (31%), а также микст-инфекция в сочетании с этанолом, прием гепатотоксичных препаратов (преднизолон, метотрексат и антигельминтный препарат бильтрицид) и профессиональные токсиканты.

Достижения в изучении клеток печени привели к пониманию некоторых клеточных основ фиброза печени, в частности, звездчатые клетки печени (липоциты, или клетки Ито) в настоящее время идентифицированы как основной источник компонентов внеклеточного матрикса при хроническом поражении печени [32–34].

Несмотря на то, что большинство данных о клеточных механизмах фиброгенеза получены в исследованиях, выполненных на звездчатых клетках печени, в настоящее время очевидно, что различные матрикс-продуцирующие клетки (каждая с определенной локализацией, иммуногистохимическим и ультраструктурным фенотипом) вносят свой вклад в развитие фиброза печени [7]. Они включают в себя фибробласты и миофибробласты портальных трактов, гладкомышечные клетки сосудов и миофибробласты вокруг центральных вен. Вероятно, все матрикс-продуцирующие клетки активизируются в условиях хронического повреждения печени.

Звездчатая клетка печени — внутридольковая мезенхимная клетка — имеет уникальные особенности происхождения, структуры и функции, главная из которых — накопление витамина А, составляющего более 80% всего витамина А организма, и поддержание гомеостаза по витамину А [34]. Клетки Ито являются доминирующей внутридольковой клеточной популяцией печени, продуцирующей компоненты экстрацеллюлярного матрикса и металлопротеиназы, их деградирующие. Это свидетельствует об их ведущей роли в remodelировании внутридолькового перигепатоцеллюлярного матрикса в физиологических и патологических условиях. Таким образом, центральное событие в развитии перисинусоидального фиброза — активация звездчатых клеток печени, превращение их из «пассивных», накапливающих витамин А (рис. 2, д; 3, д), в клетки контрактильные, пролиферирующие и фиброгенные (рис. 3, е).

Это подтверждается тем, что степень выраженности перигепатоцеллюлярного фиброза при хронической HCV-инфекции, по нашим данным, имела достоверную обратную корре-

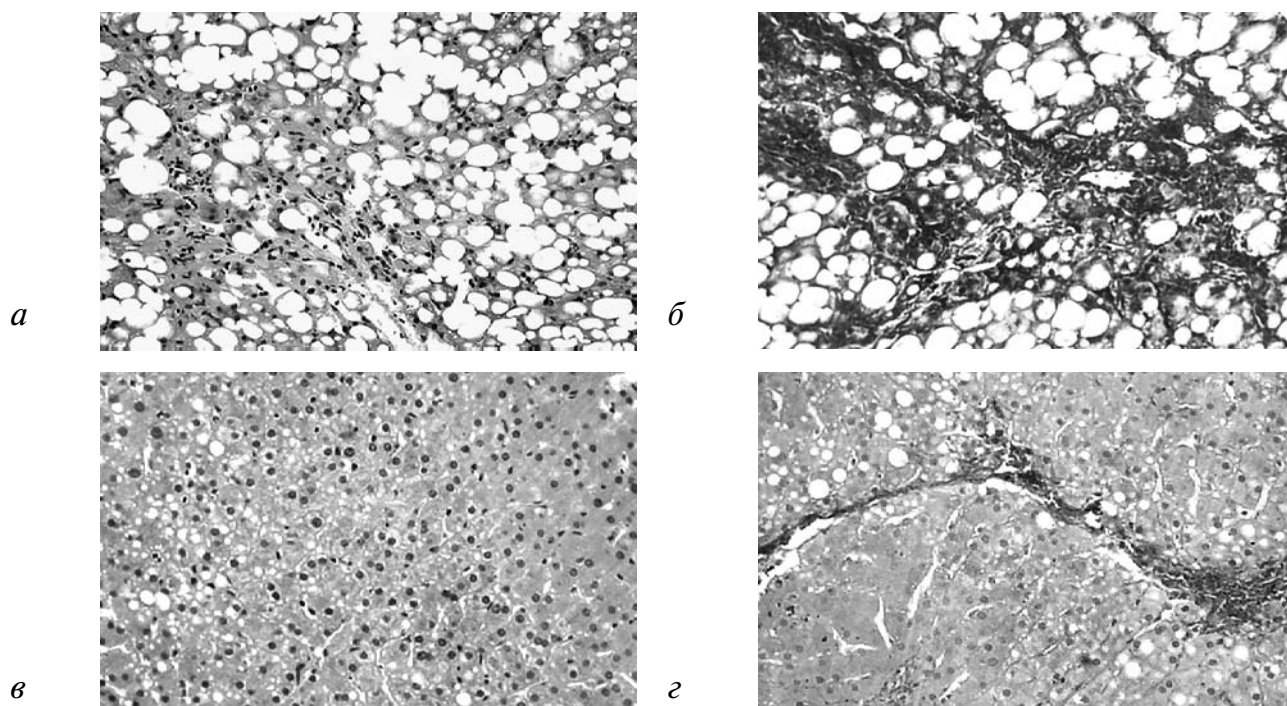


Рис. 5. Хронический гепатит С. Стадия трансформации в цирроз (F III – IV). Алкогольная гепатопатия. а, б – до лечения; в, г – после противовирусной терапии на фоне абстиненции. а – диффузная крупновезикулярная липидная инфильтрация гепатоцитов; б – выраженный фиброз с формированием порто-центральной септы; в – регенерация гепатоцитов, минимальная липидная инфильтрация; г – редукция фиброзных изменений. а, в – окраска гематоксилином и эозином, б, г – окраска по ван Гизону. а – г – увел. 250

ляцию с численной плотностью липидосодержащих звездчатых клеток.

Фиброгенная активность матрикс-продуцирующих клеток печени тестирована нами с помощью иммуногистохимического исследования по экспрессии гладкомышечного α -актина. Продукты иммуногистохимической реакции различной интенсивности обнаруживались в цитоплазме активированных звездчатых клеток, локализующихся внутри печеночных долек. Особенно значительная экспрессия гладкомышечного α -актина отмечалась в цитоплазме фибробластов и миофибробластов портальных зон, гладкомышечных клетках сосудов и миофибробластах вокруг центральных вен.

После длительного периода фатального отношения к прогнозу фиброза и цирроза печени в последние годы появились исследования, результаты которых позволили надеяться на более оптимистическое отношение к этой проблеме [35–37]. Показана регрессия фиброза печени после билиарной декомпрессии [38] и в условиях алкоголь-индуцированного поражения на фоне абстиненции. Эти наблюдения согласуются с данными, полученными на экспериментальных моделях, показавших, что даже распространенный фиброз обратим [39].

Достижения в терапии заболеваний печени делают все более очевидным тот факт, что консервативное лечение может принести пользу даже пациентам с выраженными структурными изменениями печени, включая цирроз. Это не значит, что весь фиброз обратим в равной степени. Вполне возможно, что внутридольковый перисинусоидальный фиброз более динамичен по сравнению с септальным фиброзом [40].

Проведенное нами изучение парных биопсий в динамике противовирусной терапии при HCV-инфекции показало возможность редукции фиброзных изменений печени – уменьшение объема фиброзной ткани в портальной строме, в центролобулярных и, особенно, в перисинусоидальных зонах (**рис. 5**). Путем реконструкции ультратонких срезов нам удалось обнаружить резорбцию гепатоцитами коллагеновых фибрилл, локализующихся в пространствах Диссе [41]. Выявлен уникальный ультраструктурный феномен – перестройка синусоидального полюса гепатоцитов с образованием плазмолеммой многочисленных микроворсинок и складок с концентрацией в этих участках большого количества митохондрий, сопровождающаяся затем фагоцитозом фрагментов коллагеновых фибрилл, иногда обна-

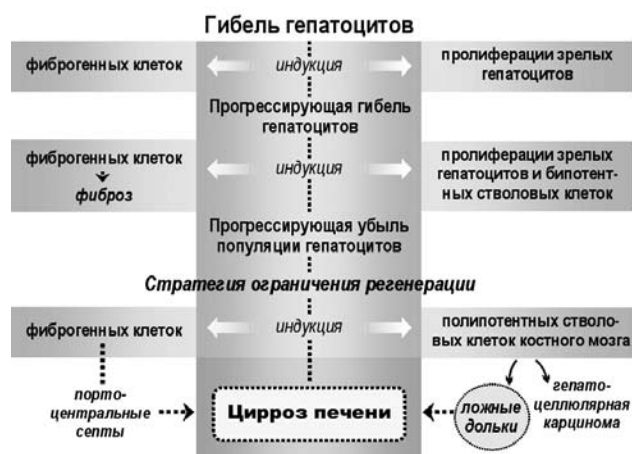


Рис. 6. Схема морфогенеза цирроза печени

руживаемых интрагепатоцеллюлярно. Таким образом, происходит экспрессия макрофагальных свойств гепатоцитов, отражающая пластичность дифференцированных паренхиматозных клеток печени.

В контексте обнаруженного нами феномена резорбции экстрацеллюлярного матрикса в пространствах Диссе необходимо признать роль гепатоцитов в редукции перигепатоцеллюлярного фиброза. Трудно представить, чтобы процесс фиброгенеза происходил без участия паренхиматозных клеток печени, тем более что было показано участие гепатоцитов в резорбции коллагеновых фибрилл экстрацеллюлярного матрикса при перигепатоцеллюлярном фиброзе в эксперименте [42]. Таким образом, не только звездчатые клетки и макрофаги, но и гепатоциты участвуют в ремоделировании экстрацеллюлярного матрикса.

Цирроз печени характеризуется кардинальными особенностями, отличающими его от хронического гепатита на стадии выраженного фиброза, — снижением функции печени, портальной гипертензией, асцитом и тенденцией к прогрессированию. Современная концепция цирроза построена на различии двух морфологических феноменов — фиброза и цирроза. Уникальным для печени в цирротической стадии, кроме диффузного фиброза, является наличие септального фиброза, включающего портально-центральные септы, несущие сосудистые шунты, узелковую регенерацию печени (ложные дольки), приводящие к нарушению архитектуры органа (рис. 2, е).

Ключевым моментом в появлении истинной цирротической стадии является развитие васкуляризированных септ, соединяющих портальные тракты и центральные вены. Портально-центральный фиброз создает прямые ана-

стомозы между афферентными (печеночные артерии, портальные вены) и эфферентными (центролобулярные вены) сосудами печени, «позволяя» крови обходить гепатоциты печеночной долики без функционального контакта с метаболически активной паренхимой.

В этих условиях комплекс факторов усугубляет развитие гипоксии ткани печени, которая способствует дальнейшей прогрессии фиброза, а фиброз и гипоксия, усиливая друг друга, замыкают порочный круг, что нарушает репарацию ткани, и, следовательно, обуславливают прогрессию цирроза.

Цирроз представляет собой не только диффузный септальный фиброз печени. В противовес фиброзу, который, по крайней мере, частично обратим, нарушение архитектоники и тем более сосудистые шунты в портально-центральных септах и в более крупных фиброзных полях на месте мультилобулярного поражения паренхимы являются настолько медленно обратимыми, что с точки зрения ожидаемой продолжительности жизни пациента эти повреждения можно считать необратимыми [40].

Является ли цирроз первичным поражением паренхиматозных клеток с последующим реактивным развитием соединительной ткани, или, наоборот, — это первичное мезенхимальное повреждение, в котором альтерация гепатоцитов вторична? Детальный клиникo-морфологический анализ убедил нас в том, что прогрессирующее накопление фибриллярного экстрацеллюлярного матрикса в печени является следствием персистирующего повреждения печеночной ткани, обусловленного, в первую очередь, токсическими, инфекционными и метаболическими факторами. Следует отметить, что в большинстве случаев именно сочетанные воздействия (особенно вирусные инфекции, ассоциированные с алкоголем) способствовали индукции фиброгенеза и развитию цирроза печени.

Нами предложена схема морфогенеза цирроза печени, доминантой которой является первичное прогрессирующее поражение гепатоцитов (рис. 6), индуцирующее, с одной стороны, фиброгенную трансформацию матрикс-продуцирующих клеток, с другой — компенсаторную регенерацию гепатоцитов. Прогрессирующее уменьшение популяции гепатоцитов достигает того уровня, ниже которого пролиферация зрелых гепатоцитов не происходит, так как метаболическая функция для них является приоритетной — своеобразная

«стратегия ограничения регенерации».

В этой «чрезвычайной» ситуации ограничения пролиферации зрелых гепатоцитов в процесс регенерации последовательно вовлекаются бипотентные (внутрипеченочные) и полипотентные (костно-мозговые) стволовые клетки. В результате пролиферации и дифференцировки последних формируются ложные дольки, или «кластеры аваскулярных гепатоцитов», лишенные полноценной сосудистой системы в связи с диссонансом темпов пролиферации гепатоцитов и эндотелиоцитов.

Структура и функция печеночной дольки слишком сложны: уникальная сосудистая система, уникальная желчевыводящая система, сложный комплекс структурно-функциональных внутридольковых, междольковых и паренхиматозно-стромальных взаимоотношений. В связи с этим создание печеночной дольки de novo маловероятно; формирование васкуляризированных порто-центральных септ в этих условиях — типичная для цирроза компенсаторно-приспособительная реакция.

Заключение

Обоснована концепция антивирусной стратегии популяции паренхиматозных клеток печени при гепатите С, включающая в себя 1) снижение биосинтетических реакций гепатоцита и обусловленное этим торможение репликации вируса, 2) фокальную деградацию цитоплазматического компартмента инфицированных клеток, экзоцитоз («санацию») с элиминацией вирусных частиц и последующую внутриклеточную регенерацию. Инфицированные гепатоциты — активные участники антивирусного ответа, и это является значительным изменением в существующей догме, которая рассматривает гепатоциты в качестве только «жертв» инфекции.

Поражение печени при хронической HCV-инфекции не имеет прямого отношения ни к количеству инфицированных гепатоцитов, ни к содержанию РНК HCV в образцах крови и ткани печени. Ведущий момент в интерпретации этого парадокса — антивирусная реакция паренхиматозных клеток печени при HCV-инфекции, нивелирующая интенсивную репликацию вируса и обеспечивающая сохранение популяции гепатоцитов.

В морфогенезе фиброза и цирроза печени инфекционно-вирусного генеза ведущую роль играют уменьшение численности популяции гепатоцитов и последующая фиброгенная активация матрикс-продуцирующих клеток. Среди ведущих цитопатических воздействий, способ-

ствующих развитию цирроза печени, — алкоголь, микст-инфекция HCV+HBV, некоторые гепатотоксичные лекарственные препараты, профессиональные токсиканты, внутриклеточный холестаз.

Впервые при изучении фиброзных изменений печени при HCV-инфекции показана возможность редукции перигепатоцеллюлярного фиброза и представлен один из механизмов резорбции коллагеновых фибрилл — экспрессия макрофагальных свойств гепатоцитов, их способность участвовать в эндоцитозе экстрацеллюлярного матрикса.

Литература

1. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий. М.: Медицина, 1999. 366.
2. Bukharin O.V. Persistence of pathogenic bacteria. M.: Meditsina, 1999. 366.
3. Черешнев В.А., Морова А.А., Рямзина И.Н. Биологические законы и жизнеспособность человека (метод многофункциональной восстановительной биотерапии). Россия, Чехия, 2000.
4. Chereshev V.A., Morova A.A., Ryamzina I.N. Biological laws and human viability (method of multifunctional rehabilitative bioterapy) Rossiya, Chekhiya, 2000.
5. Ивашкин В.Т. Болезни печени и желчевыводящих путей: Руководство для врачей. М.: М-Вести, 2005. 536.
6. Ivashkin V.T. Liver and biliary diseases: Handbook for physicians. M.: M-Vesti, 2005. 536.
7. Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П., Непомнящих Л.М. и др. Альтерация и внутриклеточная регенерация гепатоцитов при действии РНК-геномного вируса гепатита С // Бюлл. экспер. биол. 1999. 127. 5. 588-592.
8. Nepomnyaschikh G.I., Tolokonskaya N.P., Nepomnyaschikh L.M. etc. Alteration and intracellular regeneration of hepatocytes under effect of RNA-genome hepatitis C virus // Byul. eksper. biol. 1999. 127. 5. 588-592.
9. Покровский В.И., Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П. Хронический гепатит С: Современные представления о пато- и морфогенезе. Концепция антивирусной стратегии гепатоцитов // Бюлл. экспер. биол. 2003. 135. 4. 364-376.
10. Pokrovski V.I., Nepomnyaschikh G.I., Tolokonskaya N.P. Chronic hepatitis C: Modern view of patho- and morphogenesis. Conception of antiviral strategy of hepatocytes // Byul. eksper. biol. 2003. 135. 4. 364-376.
11. Серов В.В., Апросина З.Г. Хронический вирусный гепатит. М.: Медицина, 2002. 384.
12. Serov V.V., Aprosin Z.G. Chronic viral hepatitis. M.: Meditsina, 2002. 384.
13. Desmet V.J. Liver tissue examination // J. Hepatol. 2003. 39. S43-S49.
14. Ishak K.G. Pathologic features of chronic hepatitis: A review and update // Amer. J. Clin. Pathol. 2000. 113. 1. 40-55.

9. Pinzani M., Rombouts K., Colagrande S. Fibrosis in chronic liver diseases: Diagnosis and management // J. Hepatol. 2005. 42. S22-S36.
10. Desmet V.J., Gerber M., Hoofnagle J.H. et al. Classification of chronic hepatitis: Diagnosis, grading and staging // Hepatology. 1994. 19. 6. 1513-1520.
11. Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П. Биомолекулярные маркеры прогрессии персистирующих вирусных инфекций // Бюлл. СО РАМН. 2002. 2. 25-30.
12. Nepomnyaschikh G.I., Tolokonskaya N.P. Biomolecular markers of persistent viral infections progression. // Byul. SO RAMN. 2002. 2. 25-30.
13. Pianko S., Patella S., Ostapowicz G. et al. Fas-mediated hepatocyte apoptosis is increased by hepatitis C virus infection and alcohol consumption, and may be associated with hepatic fibrosis: Mechanisms of liver cell injury in chronic hepatitis C virus infection // J. Viral Hepat. 2001. 8. 406-413.
14. Непомнящих Д.Л. Ультразвуковой анализ биоптатов печени при хронических гепатитах и гепатопатиях // Бюлл. экспер. биол. 1994. 118. 9. 306-310.
15. Nepomnyaschikh D.L. Ultrastructural analysis of liver biopsies at chronic hepatitis and hepatopathies. // Byul. eksper. biol. 1994. 118. 9. 306-310.
16. Шурин С.П. О роли гепарина в обменно-ферментативных процессах в клетке // Вопросы физиологии и патологии гепарина. Новосибирск, 1965. 13-41.
17. Shurin S.P. Role of heparin in exchange-enzyme processes in cell. // Voprosy fiziologii i patologii geparina. Novosibirsk, 1965. 13-41.
18. Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П., Айдагулова С.В. и др. Является ли репликация вируса гепатита С маркером степени активности инфекционного процесса? (по данным полимеразной цепной реакции и морфологического анализа биопсий печени) // Бюлл. экспер. биол. 2003. 135. 3. 343-348.
19. Nepomnyaschikh G.I., Tolokonskaya N.P., Aidagulova S.V. etc. Is replica of hepatitis C virus a marker of infectious process activity extent? (according to data of polymerase chain reaction and morphologic analysis of liver biopsy) // Byul. eksper biol. 2003. 135. 3. 343-348.
20. Agnello V., Abel G., Elfahal M. et al. Hepatitis C virus and other Flaviviridae viruses enter cells via low density lipoprotein receptor // Proc. Natl. Acad. Sci. 1999. 96. 22. 12766-12771.
21. Moriya K., Yotsuyanagi H., Shintani Y. et al. Hepatitis C virus core protein induces hepatic steatosis in transgenic mice // J. Gen. Virol. 1997. 78. 1527-1531.
22. Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П., Айдагулова С.В. и др. Ультразвуковые реакции клеточных популяций печени при действии РНК- и ДНК-геномных вирусов гепатита С+В // Бюлл. экспер. биол. 1999. 128. 7. 101-105.
23. Nepomnyaschikh G.I., Tolokonskaya N.P., Aidagulova S.V. etc. Ultrastructural reactions of cellular population of liver under effect of RNA and DNA-genome viruses of hepatitis C+B // Byul. eksper. biol. 1999. 128. 7. 101-105.
24. Рус Э., Стернберг М. От клеток к атомам: Иллюстрированное введение в молекулярную биологию. М.: Мир, 1988. 144.
25. Ris E., Sternberg M. From cells to atoms. Illustrated introduction to molecular biology. M.: Mir, 1988. 144.
26. Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П., Сахарова Е.Г. и др. Гистопатология и ультраструктура печени при действии наркотических веществ в сочетании с вирусами гепатита С и В // Бюлл. экспер. биол. 1999. 128. 9. 351-355.
27. Nepomnyaschikh G.I., Tolokonskaya N.P., Sakharova E.G. etc. Histopathology and ultrastructure of liver under effect of narcotic drugs in combination with viruses of hepatitis C+B // Byul. eksper. biol. 1999. 128. 9. 351-355.
28. Игнатова Т.М., Серов В.В. Патогенез хронического гепатита С // Арх. патол. 2001. 3. 54-59.
29. Ignatova T.M., Serov V.V. Pathogenesis of chronic hepatitis C // Arkh. patol. 2001. 3. 54-59.
30. Логинов А.С., Аруин Л.И. Клиническая морфология печени. М.: Медицина, 1985. 239.
31. Loginov A.S., Aruin L.I. Clinical morphology of liver. M.: Meditsina, 1985. 239.
32. Маевская М.В. Клинические особенности тяжелых форм алкогольной болезни печени. Роль вирусов гепатита В и С // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. 2006. 2. 25-38.
33. Maevskaya M.V. Clinical peculiarities of severe forms of liver alcohol disease. Role of hepatitis viruses B and C // Ros. zhurn. gastroenterol. gepatol. koloproktol. 2006. 2. 25-38.
34. Серов В.В., Ланиш К. Морфологическая диагностика заболеваний печени. М.: Медицина, 1989. 336.
35. Serov V.V., Lapis K. Morphological diagnostics of liver diseases. M.: Meditsina, 1989. 336.
36. Подымова С.Д. Болезни печени: Руководство для врачей. М.: Медицина, 1998. 544.
37. Podymova S.D. Liver diseases. Handbook for physicians. M.: Meditsina, 1998. 544.
38. Хазанов А.И. Итоги длительного изучения (1946 — 2005) этиологии циррозов печени у стационарных больных // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. 2006. 2. 11-18.
39. Khazanov A.I. Results of long-term study (1946 — 2005) of etiology of liver cirrhosis in hospital patient. // Ros. zhurn. gastroenterol. gepatol. koloproktol. 2006. 2. 11-18.
40. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей. М.: Гэотар Медицина, 1999. 864.
41. Sherlock Sh., Duli D. Diseases of liver and biliary tracts. M.: Geotar. Meditsina, 1999. 864.
42. Arthur M.J.P. Fibrogenesis. II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2000. 279. G245-G249.
43. Gabele E., Brenner D.A., Rippe R.A. Liver fibrosis: Signals leading to the amplification of the fibrogenic hepatic stellate cell // Front. Biosci. 2003. 8. 69-77.
44. Rosenberg W.M.C. Rating fibrosis progression in chronic liver diseases // J. Hepatol. 2003. 38. 3. 357-360.
45. Ryder S.D. Progression of hepatic fibrosis in patients with hepatitis C: a prospective repeat liver biopsy study // Gut. 2004. 53. 451-455.
46. Eng F.J., Friedman S.L. Fibrogenesis. I. New insights into hepatic stellate cell activation: the simple becomes complex // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver

Physiol. 2000. 279. G70G11.

33. Sato M., Suzuki S., Senoo H. Hepatic stellate cells: Unique characteristics in cell biology and phenotype // Cell Struct. Funct. 2003. 28. P.105-112.

34. Senoo H. Structure and function of hepatic stellate cells // Med. Electron. Microsc. 2004. 37. 3-15.

35. Benyon R.C., Iredale J.P. Is liver fibrosis reversible? // Gut. 2000. 46. 443-446.

36. Bonis P.A.L., Friedman S.L., Kaplan M.M. Is liver fibrosis reversible? // N. Engl. J. Med. 2001. 344. 6. 452-454.

37. Friedman S.L. Liver fibrosis — from bench to bedside // J. Hepatol. 2003. 38. S38-S53.

38. Hammel P., Couvelard A., O'Toole D. et al. Regression of liver fibrosis after biliary drainage in patients with chronic pancreatitis and stenosis of the common bile duct // N. Engl. J. Med. 2001. 344. 6. 418-423.

39. Iredale J.P., Benyon R.C., Pickering J. et al. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis: Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic

expression of metalloproteinase inhibitors // J. Clin. Invest. 1998. 102. 3. 538-549.

40. Desmet V.J., Roskams T. Cirrhosis reversal: A duel between dogma and myth // J. Hepatol. 2004. 40. 860-867.

41. Айдагулова С.В., Мигуськина Е.И., Непомнящих Д.Л. Хронический вирусный гепатит с описторхозом: Патоморфология и клинические особенности // Сиб. науч. вестник. 2000. Вып. IV. 3-8.

Aidagulova S.V., Migus'kina E.I., Nepomnyashchikh D.L. Chronic viral hepatitis with opisthorchosis: Pathomorphology and clinical peculiarities // Sib. nauch. vestnik. 2000. Issue IV. 3-8.

42. Калашникова М.М. Ультраструктурная характеристика процесса резорбции коллагена в цирротически измененной печени // Бюлл. экспер. биол. 2000. 129. 1. 4-11.

Kalashnikova M.M. Ultrastructural characteristic of the process of resorption of collagen in liver with cirrhosis // Byul. ekper. biol. 2000. 129. 1. 4-11.

MORPHOGENESIS OF CHRONIC HEPATITIS C AND LIVER CIRRHOSIS OF INFECTIONAL-VIRAL GENESIS

Galina Ivanovna NEPOMNYASHCHIKH, Svetlana Vladimirovna AIDAGULOVA, David L'vovich NEPOMNYASHCHIKH, Zhanna Viktorovna NOKHRINA, Elena Vladimirovna VINOGRADOVA, Juliya Yur'evna KARAVAYEVA

*SI RI for regional pathology and pathomorphology of SB RAMS
2, Ac. Timakov str., Novosibirsk, 630117*

This article contains the original data on morphogenesis of chronic hepatitis C and liver cirrhosis of infectional-viral genesis. Antiviral defense strategy of hepatocytes is presented, which deals with cellular biosynthesis diminishing and function of viral elimination. It was found that chronic hepatitis C activity does not correlate with the number of infected hepatocytes and with RNA HCV levels in blood and native liver tissue samples. The hepatocyte necrosis plays general role in liver cirrhosis development. It was shown the perihepatocellular fibrosis reduction to be the result of collagen fibers resorbition by hepatocytes.

Key words: chronic hepatitis C, liver cirrhosis, liver biopsy, pathomorphology.

Nepomnyashchikh G.I. — doctor of Medical Sciences, professor, deputy director o, e-mail: pathol@soramn.ru

Aidagulova S.V. — doctor of Biological sciences, professor, Head of laboratory of functional morphology

Nepomnyashchikh D.L. — doctor of Medical Sciences, professor, Head of laboratory of clinical morphology, gastroenterology and hepatology

Nokhrina Zh.V. — candidate of Medical Sciences, senior researcher

Vinogradova E.V. — candidate of Medical Sciences, senior researcher

Karavaeva J.Yu. — candidate of Medical Sciences, senior researcher