

**УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»**

**УДК 616.36 – 002 – 004 – 036.12 (043.3/.5)**

**МАРТЕМБЯНОВА Людмила Александровна**

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ  
ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С  
НА СТАДИИ ПЕРЕХОДА В ЦИРРОЗ**

14.00.15 — патологическая анатомия

Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

**Минск 2006**

Работа выполнена в учреждении образования «Гомельский государственный медицинский университет»

**Научные руководители:** **Голубев Олег Анатольевич**, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой патологической анатомии с курсом судебной медицины, учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», кафедра патологической анатомии с курсом судебной медицины.

**Жаворонок Сергей Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, ректор учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет».

**Официальные оппоненты:** **Недзьведь Михаил Константинович**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры патологической анатомии учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет», кафедра патологической анатомии.

**Клецкий Семен Кивович**, кандидат медицинских наук, заведующий отделением детской патологии УЗ «Городское клиническое патологоанатомическое бюро» г. Минска, отделение детской патологии

**Оппонирующая организация:** УО «Гродненский государственный медицинский университет»

Защита состоится 01 декабря 2006 года в 13<sup>00</sup> часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.02 при УО «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220116, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, тел. 227-55-98.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке УО «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан «27» октября 2006 г.

Ученый секретарь совета  
по защите диссертаций  
кандидат медицинских наук, доцент

**А. И. Герасимович**

## **ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ**

### **Актуальность темы диссертации**

Хроническая вирусная С инфекция печени (НСV) — актуальная проблема для отечественной системы здравоохранения, так как приводит к значительным клиническим и финансовым последствиям. Выбор специфической терапии с учетом содержания вируса и его генотипа, тщательный отбор больных и использование комбинированной терапии могут повысить вероятность элиминации организма от вируса и обеспечить длительную биохимическую и морфологическую ремиссию. Более глубокое понимание основ морфогенеза гепатита С, точных механизмов устойчивости вируса и тканевого повреждения позволит выработать будущую стратегию лечения и профилактики этого тяжелого заболевания (С.Д. Подымова, 1998). За последние десятилетия накопился, и подвергнут клинико-морфологическому анализу большой фактический материал позволяющий решать не только теоретические, но и практические вопросы гепатологии (А.И. Герасимович, 2000), в частности по дифференциальной диагностике различных зоологических форм патологии печени. Биопсия печени в большинстве случаев позволяет установить диагноз заболевания, то есть верифицировать этиологический вид гепатита; определить активность (тяжесть) процесса; определить стадию болезни (степень ее хронизации); оценить эффективность терапии (В.В. Серов и др., 2004). Сегодня во всем мире НСV-инфекция является наиболее частой причиной так называемых циррозов «неясного генеза» и гепатитов, вызванных переливанием крови, парентеральным введением препаратов, возможны трансплацентарный и половой пути заражения. Наличие вируса гепатита С в крови тесно связано с развитием гепатоцеллюлярной карциномы. Все вышесказанное диктует необходимость уточнения имеющихся, и изыскания новых критериев возможных вариантов развития НСV-инфекции, которыми могут являться кооперированные данные о морфологических характеристиках паренхиматозного и стромального компонентов печени при данном заболевании, экспрессии факторов роста, исходах и длительности жизни больных после терапевтического лечения.

### **Связь работы с научными программами**

Настоящая работа выполнена в рамках Республиканской научно-технической программы «Исследование патогенетических механизмов соматических заболеваний инфекционной природы и разработка новых методов диагностики и лечения. Регуляция и патогенез» № 20031602 от 01.07 2003 г. Сроки выполнения 2003–2005 гг.

### **Цель и задачи исследования**

Цель настоящего исследования: выявить взаимосвязи патоморфологических характеристик паренхиматозного и стромального компонентов ткани печени, экспрессии факторов пролиферации как критериев особенностей морфогенеза хронического вирусного гепатита С.

В соответствии с поставленной целью решали следующие задачи:

1. Выявить с помощью морфометрического исследования (полуколичественные методики) изменения в паренхиматозном и стромальном компонентах ткани печени относительно здоровых лиц и больных хроническим вирусным гепатитом С слабой и умеренной степени активности.

2. Определить экспрессию фактора пролиферации Ki-67 и проколлагена, CD4<sup>+</sup> лимфоцитов с помощью иммуногистохимического исследования (ИГХ) тканей печени больных хроническим вирусным гепатитом С слабой и умеренной степени активности.

3. Выявить патоморфологические критерии перехода воспалительных изменений при хроническом вирусном гепатите С в цирроз печени.

4. Дать статистическую оценку полученным данным и построить модель тканевых процессов, происходящих в различных формах хронического вирусного гепатита С.

### **Объект и предмет исследования**

Объектом исследования послужил хронический вирусный гепатит С разной степени активности (100 больных), а также биопсийный материал из печени 30 относительно здоровых лиц, у которых отмечались периодические боли в правом подреберье.

Предметом исследования явился биопсийный материал ткани печени при хроническом вирусном гепатите С и тканей печени, интактных от воспалительного процесса.

### **Гипотеза**

Имеется взаимосвязь экспрессии факторов пролиферации, морфометрических и иммуногистохимических показателей паренхимы и стромы как критериев особенностей морфогенеза хронического вирусного гепатита С на стадии перехода в цирроз, которые могут быть использованы для диагностики и индивидуального прогнозирования заболевания.

### **Методология и методы проведенного исследования**

В основе работы лежит комплексное исследование, включающее в себя гистологический, морфометрический (с использованием полуколичественных методик) и иммуногистохимический методы (ИГХ), а также количественный и качественный анализ взаимоотношений элементов системы «паренхима-строма».

### **Научная новизна и значимость полученных результатов**

1. Впервые выявлено, что фиброгенез при ХГС зависит от взаимосвязанных изменений структурных элементов системы «паренхима-строма» и факторов пролиферации, при этом по мере увеличения пролиферативной активности гепатоцитов происходит избыточное коллагенообразование не только в прослойках междольковой соединительной ткани вокруг печеночных триад, но и в перисинусоидных пространствах на периферии печеночных долек.

2. Впервые показано, что развитие фиброза в ткани печени при ХГС определяется тетрадой сопряженных патоморфологических признаков: распространенность некроза, вид дистрофии гепатоцитов, пролиферативная активность гепатоцитов, наличие иммунокомпетентных клеток.

3. Впервые с помощью полученных патоморфологических и статистических данных (корреляционные взаимосвязи показателей, характеризующих фиброз, дистрофию, воспалительный инфильтрат) показано, что ХГС слабой степени активности может являться базисом для раннего фиброзирования органа.

### **Практическая значимость полученных результатов**

1. Выявленные взаимосвязи между морфометрическими параметрами паренхимы и стромы печени при хроническом вирусном гепатите С, показателями функциональной активности клеток системы «паренхима-строма», в том числе иммуногистохимическое исследование, уточняют роль нарушений этих взаимоотношений в фиброзировании органа. Комплексное (морфометрическое и ИГХ) исследование биоптатов печени целесообразно использовать при диагностике и оценке последствий лечения ХГС в клинике.

2. Количественный анализ морфометрических и корреляционных показателей, дополненный иммуногистохимическими данными является надежным критерием оценки степени фиброзирования печени.

3. Использование тетрады сопряженных патоморфологических признаков (распространенность некроза, вид дистрофии гепатоцитов, пролиферативная активность гепатоцитов, наличие иммунокомпетентных клеток) в совокупности с оценкой степени фиброза позволяет провести адекватную оценку возможных исходов ХГС.

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Минимальные патоморфологические изменения при ХГС слабой степени активности являются базисом для фиброзирования органа.

2. Звенья морфогенеза ХГС на стадии перехода в цирроз обусловлены сложной паренхиматозно-стромальной тканевой реакцией тесно связанной

с пролиферативной активностью гепатоцитов и процессами коллагенообразования не только в портальных трактах, но и перисинусоидных пространствах периферических зон печеночных долек.

3. При ХГС патоморфологические изменения в большей степени являются отражением иммунной реакции гиперчувствительности замедленного типа.

#### **Личный вклад соискателя**

Автором выполнен весь комплекс (гистологических, гистохимических, морфометрических, иммуногистохимических) исследований тканей печени у больных ХГС, написаны соответствующие разделы в совместных статьях.

#### **Апробация результатов диссертации**

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на:

— заседаниях Гомельского областного общества патологоанатомов (Гомель, 2002, 2003, 2004, 2005 г.);

— конференции молодых ученых Гомельского государственного медицинского университета (Гомель, 2004);

— Республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины», 15-й научной сессии Гомельского государственного медицинского университета, посвященных 60-летию Победы в Великой Отечественной войне (Гомель, 18–20 мая 2005 г.);

— Республиканской научно-практической конференции «Актуальные вопросы теоретической и практической медицины», посвященной 15-летию образования Гомельского государственного медицинского университета (Гомель, 1–2 декабря 2005 г.).

#### **Опубликованность результатов**

В ходе выполнения диссертации опубликовано 12 научных работ, из них: 6 статей в рецензируемых журналах и 6 статей в рецензируемых сборниках научных работ в соавторстве. Общее количество опубликованных материалов — 35 страниц.

#### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 120 страницах машинописного текста, состоит из введения, общей характеристики работы с гипотезой; основной части с обзором литературы по теме диссертации; описания основных методов исследования, а также изложения результатов собственного исследования; заключения с выводами и приложение.

Список использованных источников содержит 240 источников, из них 33 отечественных и 207 зарубежных. Текст диссертации иллюстрирован 9 таблицами, 8 схемами и 29 рисунками.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

Использовался биопсийный материал 50 больных хроническим вирусным гепатитом С слабой степени активности; 50 пациентов, страдающих хроническим вирусным гепатитом С умеренной степени активности, а также 30 наблюдений биопсийного материала ткани печени, в которых патогистологические изменения не выявлялись, либо носили минимальный характер.

Всем пациентам проводилась лабораторная диагностика вирусного гепатита С, основанная на выявлении специфических маркеров инфицирования вирусом гепатита С (анти-ВГС-IgM/G, РНК ВГС) диагностическими препаратами отечественных или зарубежных производителей, разрешённых Министерством здравоохранения Республики Беларусь, строго по инструкции, прилагаемой к набору, в лабораториях, имеющих лицензию на проведение данного вида лабораторных исследований. При получении положительного результата в иммуноферментном анализе использовались дополнительные подтверждающие диагностические препараты отечественного или зарубежного производства, заключения были ориентированы на результаты исследования сывороток в указанных тестах. Результаты проведенных исследований трактовались как: «позитивный», «негативный» и «неопределенный». При «неопределенном» результате через два и более месяцев проводилось дополнительное исследование на наличие маркеров инфицирования вирусом гепатита С. В качестве подтверждающего метода в ряде случаев использовалась полимеразная цепная реакция с целью выявления РНК вируса. При постановке диагноза руководствовались классическими представлениями, а именно: обнаружение РНК вируса гепатита С (ВГС) в сыворотках крови с анти-ВГС указывает на текущую инфекцию, отсутствие РНК ВГС в анти-ВГС позитивных образцах крови не может быть использовано для разграничения прошедшего гепатита С и «ложнопозитивного» результата лабораторного исследования.

Конкретное количество пациентов и распределение их по характеру патологического процесса представлено в таблице 1.

**Таблица 1**

### Общая характеристика групп исследования

Клинические группы	Общее количество наблюдений	Стадия процесса по традиционной клинической классификации
Хронический гепатит С, слабая активность	50	Хронический персистирующий гепатит, хронический активный мягкий гепатит
Хронический гепатит С, умеренная активность	50	Хронический активный умеренный гепатит
Относительная норма, минимальные изменения	30	

Пункция печени с проведением тонкоигольной биопсии производилась в условиях клинического стационара, под местной анестезией. В намеченном для проведения пункционной биопсии месте, по верхнему краю ребра между средней и передней подмышечными линиями на уровне 7–9 межреберья справа в зоне абсолютной печеночной тупости, для лучшего прохождения пункционной иглы производился предварительный прокол кожных покровов и апоневроза скальпелем, а затем на фоне задержки больным дыхания на выдохе с максимальной скоростью производилась сама биопсия. Пунктирование проводилось с помощью автоматического приспособления PRO-MAG 2.2 фирмы MANAN MEDICAL PRODUCTS, USA и игл 14 GA.SP 20 см с внутренним диаметром 1,9 мм под контролем ультразвука.

В дальнейшем, полученные в результате биопсии ткани фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина и подвергали стандартной проводке с заливкой в парафин. Из данных блоков готовили срезы толщиной 5 мкм., окрашивали гематоксилином и эозином и использовали для обзорной микроскопии. Для детализации отдельных структур срезы выборочно окрашивали пикрофуксином по ван Гизону, по Гомори, реактивом Шиффа. После изучения серийных срезов, окрашенных по дополнительным методикам в препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, проводилась оценка патоморфологических изменений с использованием полуколичественной системы учитывающей: число некрозов в периферических зонах печеночных долек и мостовидных некрозов, воспалительную инфильтрацию портальных трактов, изменения желчных протоков, фиброз разной степени выраженности.

Материал 20 больных с вирусным гепатитом С (слабой и умеренной активности) был подвергнут иммуногистохимическому исследованию с помощью непрямого иммунопероксидазного-антипероксидазного метода, при котором изучали экспрессию Ki-67 в структурных элементах паренхимы, проколлагена и CD4<sup>+</sup> лимфоцитов. Использовали мышинные антитела к антигену Ki-67 (Ki-67 Antigen, Clone: Ki-67 серия M 7187, «DAKO», Denmark), меченные HRP. Эти моноклональные антитела связываются с ядерным белком Ki-67, который экспрессируется в пролиферирующих клетках, находящихся в G1, S, G2 и M-фазах клеточного цикла. Выявление антигена осуществляли хромогеном 3,3-диаминобензидином, докраску ядер непролиферирующих клеток осуществляли гематоксилином. Материал больных ХГС также подвергнут ИГХ с применением моноклональных антител к субпопуляции Т-лимфоцитов CD4<sup>+</sup>. При морфометрическом исследовании в каждом случае подсчету подвергали 100 клеток при увеличе-



нии микроскопа  $\times 400$ , не используя морфометрическую сетку, численность гепатоцитов, дающих экспрессию Ki-67 и лимфоцитов CD4<sup>+</sup>, выражали в процентах. Кроме того, материал этих же 20 больных подвергнут ИГХ с использованием моноклональных антител к проколлагену, «ДАКО». Детекцию коллагена оценивали по степени окрашиваемости ткани органа, применяя балльную систему, а именно: 1 балл — отсутствие окраски; 2 — балла отсутствие окраски одних и окрашиваемость других зон стромы в желто-коричневый цвет; 3 балла — окрашиваемость различных структур от светло-желтого до желтого цвета; 4 балла — окрашиваемость всех структур в желтый цвет; 5 баллов — окрашиваемость разных зон стромы от желтого до коричневого цветов; 6 баллов — окрашиваемость в коричневый цвет различных структур тканей. Для того, чтобы убедиться в достоверности положительных результатов, полученных при проведении иммуногистохимического исследования, исключалась возможность неспецифических реакций с помощью контрольных анализов.

Во всех группах наблюдения проводился учет данных о поле, возрасте больных, тяжести процесса, результатах терапии интерфероном. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета статистических программ «STATISTICA» 6.0.

### **Результаты собственных исследований и их обсуждение**

В результате исследования биопсийного материала 100 больных хроническим вирусным гепатитом С и биопсийного материала от лиц контрольной группы получены следующие результаты. В группе контрольного исследования не обнаружено значительных структурных изменений, могущих свидетельствовать о заболевании печени, а имеющиеся минимальные маркеры альтерации печени, более вероятно, связаны с алиментарными погрешностями или другими состояниями у исследованных лиц. При ХГС слабой степени активности в ткани печени наблюдаются единичные перипортальные сегментарные некрозы гепатоцитов части портальных трактов, а также внутريدольковые фокальные некрозы в части долек. Наиболее характерным признаком процесса является слабо и умеренно выраженные гидропическая и жировая дистрофия гепатоцитов и воспалительный лимфоцитарно-гистиоцитарный инфильтрат в части портальных трактов. Среди изменений синусоидов преобладает накопление в последних лимфоцитов с формированием «цепочек». Важно, что отсутствует деструкция желчных протоков при наличии слабо выраженной их пролиферации (см. таблицу 2).

Таблица 2

**Морфологические характеристики изменений в ткани печени  
при хроническом гепатите С слабой степени активности**

Морфологические проявления	Характеристика проявлений	Баллы оценки по шкале
Некроз гепатоцитов	А. Сегментарные некрозы гепатоцитов в периферических зонах части печеночных долек	0,17±0,10
	Б. Сегментарные некрозы гепатоцитов в периферических зонах всех печеночных долек	0
	В. Массивные некрозы гепатоцитов вплоть до мостовидных	0
	Г. Внутридольковые фокальные некрозы в части долек	1,69±0,24
	Д. Внутридольковые фокальные некрозы в большинстве долек	0,17±0,17
Дистрофия	А. Гидропическая и (или) жировая дистрофия гепатоцитов (слабая, умеренная, выраженная)	2,95±0,23
	Б. Баллонная дистрофия гепатоцитов	0,86±0,24
Воспалительный инфильтрат	А. В портальных трактах (в зависимости от числа пораженных портальных трактов)	2,61±0,26
	Б. В периферических зонах печеночных долек (слабый, умеренный, выраженный)	1,04±0,24
	В. Внутри долек	0,43±0,16
	Г. Лимфоидные фолликулы в портальных трактах и (или) внутри долек (в зависимости от числа пораженных трактов или долек)	0,95±0,28
Изменения синусоидов	А. Гиперплазия звездчатых ретикулоэндотелиоцитов и эндотелия	0,47±0,15
	Б. Цепочки лимфоцитов в перисинусоидных пространствах	1,04±0,18
Поражение желчных протоков	А. Деструктивные изменения желчных протоков	0
	Б. Пролиферация эпителия желчных протоков (слабая, умеренная, выраженная)	0,78±0,23
Фиброз	А. Фиброз большинства портальных трактов, их расширение	0,17±0,10
	Б. Фиброз большинства портальных трактов с их расширением и сегментарный перипортальный фиброз	0,65±0,30
	В. Явления фиброза в перисинусоидном пространстве большинства долек	0,04±0,04
	Г. Фиброз с образованием портоцентральных септ (более 1) и нарушением строения печени	0,39±0,39
	Д. Фиброз с образованием септ и ложных долек	0
Цирроз		0

При ХГС слабой степени активности явления фиброза являются минимальными и представлены в основном фиброзом портальных трактов с их расширением и сегментарным перипортальным фиброзом. По итогам статистической обработки полученных данных отмечаются прямые корреляционные взаимосвязи показателей, характеризующих фиброз с образованием портоцентральных септ с количественными показателями внутридольковых фокальных некрозов, гидропической, жировой и баллонной дистрофии гепатоцитов, воспалительного инфильтрата в портальных трактах и перипортальной зоне, а также количества лимфоцитов в синусоидах. Морфологический анализ с использованием полуколичественных показателей и корреляционный анализ изменений при ХГС умеренной степени активности показывает (см. таблицу 3), что в тканях печени больных ХГС умеренной степени активности достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличиваются количественные показатели характеризующие перипортальные сегментарные некрозы портальных трактов, гидропическую и жировую дистрофию гепатоцитов, воспалительный инфильтрат в перипортальной зоне и внутри долек, гиперплазию звездчатых ретикулоэндотелиоцитов и эндотелия, фиброз с образованием портоцентральных септ и нарушением строения печени по сравнению с ХГС слабой степени активности. При этом в тканях печени больных ХГС умеренной степени активности отмечается деструкция желчных протоков, чего не наблюдается при ХГС слабой степени активности.

По данным корреляционного анализа количественные показатели, характеризующие фиброз с образованием портоцентральных септ прямо взаимосвязаны с показателями, отражающими внутридольковые некрозы в большинстве долек, баллонную дистрофию гепатоцитов, воспалительный инфильтрат в перипортальной зоне. Кроме того, по данным корреляционного анализа количественные показатели, характеризующие фиброз с образованием портоцентральных септ связями обратного характера взаимосвязаны с показателями, характеризующими количество лимфоцитов в синусоидах, гиперплазию звездчатых ретикулоэндотелиоцитов и эндотелия, фиброз портальных трактов с их расширением.

При ИГХ исследовании тканей печени при ХГС умеренной степени активности экспрессия Ki-67 отмечается в виде однородного коричневого прокрашивания ядер гепатоцитов или скопления глыбок бурого цвета в области ядерных мембран. При этом экспрессия Ki-67 определяется в большей степени в периферических зонах печеночных долек, а также отмечается изменение тинкториальных свойств тканей и пролиферация клеток в области перисинусоидных пространств.

Таблица 3

**Морфологические характеристики изменений в ткани печени  
при хроническом гепатите С умеренной степени активности**

Морфологические проявления	Характеристика проявлений	Баллы оценки по шкале
Некроз гепатоцитов	А. Сегментарные некрозы гепатоцитов в периферических зонах части печеночных долек	0,93±0,32
	Б. Сегментарные некрозы гепатоцитов в периферических зонах всех печеночных долек	1,14±0,61
	В. Массивные некрозы гепатоцитов вплоть до мостовидных	0
	Г. Внутридольковые фокальные некрозы в части долек	1,71±0,38
	Д. Внутридольковые фокальные некрозы в большинстве долек	0,50±0,37
Дистрофия	А. Гидропическая и (или) жировая дистрофия гепатоцитов (слабая, умеренная, выраженная)	4,00±0,46
	Б. Баллонная дистрофия гепатоцитов	1,28±0,39
Воспалительный инфильтрат	А. В портальных трактах (в зависимости от числа пораженных портальных трактов)	3,00±0,42
	Б. В периферических зонах печеночных долек (слабый, умеренный, выраженный)	2,36±0,49
	В. Внутри долек	1,00±0,25
	Г. Лимфоидные фолликулы в портальных трактах и (или) внутри долек (в зависимости от числа пораженных трактов или долек)	0,78±0,39
Изменения синусоидов	А. Гиперплазия звездчатых ретикулоэндотелиоцитов и эндотелия	1,21±0,33
	Б. Цепочки лимфоцитов в перисинусоидных пространствах	1,28±0,26
Поражение желчных протоков	А. Деструктивные изменения желчных протоков	0,43±0,31
	Б. Пролиферация эпителия желчных протоков (слабая, умеренная, выраженная)	1,07±0,38
Фиброз	А. Фиброз большинства портальных трактов, их расширение	0,64±0,29
	Б. Фиброз большинства портальных трактов с их расширением и сегментарный перипортальный фиброз	0,92±0,41
	В. Явления фиброза в перисинусоидном пространстве большинства долек	0
	Г. Фиброз с образованием портоцентральных септ (более 1) и нарушением строения печени	1,07±0,74
	Д. Фиброз с образованием септ и ложных долек	0
Цирроз		0

Сравнительный анализ выявления Ki-67 в центральных и периферических отделах классических печеночных долек при ХГС показал меньшее содержание гепатоцитов, экспрессирующих фактор пролиферации Ki-67 в центральных отделах долек по сравнению с периферическими, независимо от степени активности процесса (см. таблицу 4). При этом, достоверные различия отмечены между показателями гепатоцитов, дающих детекцию Ki-67 в центре и на периферии долек при слабой активности процесса и в центре долек при слабой и умеренной активности процесса ( $p < 0,05$ ). Достоверных отличий в экспрессии Ki-67 в центре и на периферии долек при умеренной активности ХГС не отмечено ( $p > 0,05$ ). Возможно, в какой-то степени данный факт связан с наличием более выраженных перипортальных некрозов при умеренной активности ХГС.

Таблица 4

**Сравнительный анализ выявления Ki-67  
в центральных и периферических зонах долек печени  
при хроническом вирусном гепатите С (%)**

Активность гепатита	Центр дольки	Периферия дольки
Слабая	10	20
Умеренная	22	27

При определении коллагена показано, что депозиты его выявляются в портальных трактах и местами в перисинусоидных пространствах перипортальных зон. Экспрессия определялась в виде желтого, желто-коричневого и коричневого окрашивания. Анализ по медианам показал, что при ХГС умеренной степени активности окрашивание определяется по полуколичественной шкале на 4,5 балла. Кроме того, при умеренной степени активности ХГС отмечено вовлечение в процесс перисинусоидных пространств на периферии печеночных долек.

ИГХ исследование лимфоцитов CD4<sup>+</sup> при ХГС умеренной степени активности показало наличие рецепторов CD4<sup>+</sup> у части лимфоцитов (см. таблицу 5). При этом, количество CD4<sup>+</sup> клеток в центральных и периферических отделах паренхимы долек в перисинусоидных пространствах является минимальным. В портальных трактах при ХГС умеренной степени активности определяются CD4<sup>+</sup> лимфоциты в виде групп, состоящих из 2–4 клеток.

Таблица 5

**Сравнительный анализ выявления CD4<sup>+</sup> лимфоцитов  
в центральных и периферических зонах долек печени  
при хроническом вирусном гепатите С (%)**

Активность гепатита	Центр дольки	Периферия дольки (портальные тракты)
Слабая	0	0
Умеренная	2	7

Активация CD4<sup>+</sup> лимфоцитов, как известно, происходит в основном в паракортикальных зонах лимфатических узлов, а сами эти клетки могут участвовать в местных тканевых реакциях путем осуществления межклеточных взаимодействий, прежде всего с макрофагами и эндотелием. Участие CD4<sup>+</sup> лимфоцитов в тканевых реакциях обычно расценивается как проявление клеточного иммунного ответа в виде реакции гиперчувствительности замедленного типа.

Таким образом, морфологический и корреляционный анализ, результаты ИГХ исследования при ХГС умеренной степени активности показали, что в тканях печени больных ХГС умеренной степени активности достоверно ( $p < 0,05$ ) увеличиваются количественные показатели характеризующие перипортальные сегментарные некрозы портальных трактов, гидропическую и жировую дистрофию гепатоцитов, воспалительный инфильтрат в перипортальной зоне и внутри долек, гиперплазию звездчатых ретикулоэндотелиоцитов и эндотелия, фиброз с образованием портоцентральных септ и нарушением строения печени по сравнению с ХГС слабой степени активности. В тканях печени больных ХГС умеренной степени активности отмечается деструкция желчных протоков, чего не наблюдается при ХГС слабой степени активности. По данным корреляционного анализа количественные показатели, характеризующие фиброз с образованием портоцентральных септ прямо взаимосвязаны с показателями, отражающими внутридольковые некрозы в большинстве долек, баллонную дистрофию гепатоцитов, воспалительный инфильтрат в перипортальной зоне. Количественные показатели, характеризующие фиброз с образованием портоцентральных септ связями обратного характера взаимосвязаны с показателями, характеризующими количество лимфоцитов в синусоидах, гиперплазию звездчатых ретикулоэндотелиоцитов и эндотелия, фиброз портальных трактов с их расширением. Влияние пролиферативной активности гепато-

цитов (паренхиматозный компонент) на фиброзирование не является доминирующим: наличие перипортальных некрозов при ХГС умеренной активности приводит к некоторому уменьшению пула Ki-67-позитивных гепатоцитов, в то же время возрастает значение звездчатых клеток, воспалительного инфильтрата внутри портальных трактов (стромальный компонент). Участие CD4<sup>+</sup> лимфоцитов в местных тканевых реакциях при ХГС свидетельствует о наличии иммунного ответа в виде реакции гиперчувствительности замедленного типа.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Прямые корреляционные взаимосвязи показателей, характеризующих фиброз с образованием портоцентральных септ с показателями внутридольковых фокальных некрозов, гидропической, жировой и баллонной дистрофии гепатоцитов, воспалительного инфильтрата в портальных трактах и периферических зонах печеночных долек, а также лимфоцитов в перисинусоидных пространствах при ХГС слабой степени активности свидетельствуют, что минимальные патоморфологические проявления заболевания являются базисом для фиброзирования органа [3, 4, 9, 10, 11, 12].

2. Фиброзирование ткани печени при ХГС определяется тетрадой сопряженных патоморфологических признаков: распространенность некроза, вид дистрофии гепатоцитов, пролиферативная активность гепатоцитов, наличие иммунокомпетентных клеток [1, 2, 6, 7].

3. По мере увеличения пролиферативной активности гепатоцитов (прирост числа Ki-67-позитивных гепатоцитов) при ХГС нарастают изменения, указывающие на усиление коллагенообразования [3, 8].

4. Влияние пролиферативной активности гепатоцитов (паренхиматозный компонент) на фиброзирование не является доминирующим: наличие некрозов в периферических зонах печеночных долек при ХГС умеренной активности приводит к некоторому уменьшению пула Ki-67-позитивных гепатоцитов, в то же время возрастает значение звездчатых клеток, воспалительного инфильтрата внутри портальных трактов (стромальный компонент) [4, 5, 9].

5. Участие CD4<sup>+</sup> лимфоцитов в местных тканевых реакциях при ХГС свидетельствует о наличии иммунного ответа организма в виде реакции гиперчувствительности замедленного типа [2].

## Список работ опубликованных по теме диссертации

### Статьи в журналах

1. Красавцев Е.Л., Мартемьянова Л.А. Морфологические проявления хронического гепатита С у больных различного возраста // Медицина. — 2005. — № 3 (50). — С. 36–38.

2. Красавцев Е.Л., Мартемьянова Л.А., Голубев О.А. Морфологические изменения печени при хроническом вирусном гепатите С // Медицинские новости. — 2005. — № 7 (121). — С. 66–68.

3. Красавцев Е.Л., Мартемьянова Л.А., Жаворонок С.В., Романова А.В. Распространенность и выраженность фиброза печени у больных хроническим гепатитом С. // Проблемы здоровья и экологии. — 2005. — №2 (4). — С. 31–35.

4. Красавцев Е.Л., Мартемьянова Л.А. Распространенность и выраженность гистологических изменений печени у больных хроническим гепатитом С. // Проблемы здоровья и экологии. — Гомель: ГГМУ, 2005. — № 1 (3). — С. 95–99.

5. Красавцев Е.Л., Жаворонок С.В., Павлович И.Л., Красавцева Л.М., Мицура В.М., Мартемьянова Л.А. Эффективность лечения хронического гепатита С у больных с различными морфологическими изменениями в печени. // «Рецепт» № 4 (36), 2004. — С. 86–90.

6. Красавцев Е.Л., Ермолицкий Н.М., Перминова М.Н., Мартемьянова Л.А. Сопоставление результатов биопсии и УЗИ-диагностики при хроническом вирусном гепатите С // «Медицинской панораме». — 2004. — С. 18–20.

### Статьи в рецензируемых сборниках

7. Мартемьянова Л.А., Голубев О.А. Диагностика хронического вирусного гепатита и цирроза печени по данным патологоанатомической экспертизы // Актуальные проблемы медицины // Сборник научных трудов. — Гомель: ГГМУ, 2002. — С. 137–139.

8. Мартемьянова Л.А., Артамонова Н.Н., Егорова Л.В. О перспективах разработки современного алгоритма клинико-морфологической диагностики вирусного гепатита // Актуальные проблемы медицины / Сборник научных трудов. — Гомель: ГГМУ, 2002. — С. 139–141.

9. Мартемьянова Л.А., Голубев О.А. Патологоанатомическая диагностика хронического гепатита В и С по материалам пункционных биопсий печени // Актуальные проблемы медицины / Сборник научных трудов. — Гомель: ГГМУ, 2002. — С. 141–143.



10. Мицура В.М., Жаворонок С.В., Красавцев Е.Л., Карпенко Е.И., Мартемьянова Л.А. Сравнение биохимической и гистологической активности хронического гепатита С. // Актуальные вопросы гепатологии: Материалы V международного симпозиума гепатологов Беларуси / Под. ред. В.М. Цыркунова. — Гродно, 2002. — С. 27–28.

11. Красавцев Е.Л., Крупа С.К., Мартемьянова Л.А. Распространенность хронических поражений печени по данным патологоанатомических вскрытий // Гепатиты в практике терапевта, семейного врача и инфекциониста. Современные методы диагностики и терапии / Материалы научно-практической конференции. — Харьков, 2003. — С. 124–125.

12. Красавцев Е.Л., Крупа С.К., Мартемьянова Л.А. Сравнение биохимической и гистологической активности у лиц призывного возраста. // Актуальные вопросы гепатологии / Под ред. член.-корр. Бел. АМН, проф. В.М. Цыркунова. — Материалы Белорусской гепатологической школы и 6 Международного симпозиума гепатологов Беларуси. — Минск 2004. — С. 75–77.

## РЭЗЮМЕ

**МАРЦЯМ'ЯНАВА Людміла Аляксандраўна**  
**«МАРФАЛАГІЧНЫЯ АСАБЛІВАСЦІ ХРАНІЧНАГА ГЕПАТЫТА С**  
**У ЧАС ПЕРАХОДА У ЦЫРОЗ»**

**Ключавыя словы:** Гепатыт С, морфагенез, марфалагічныя асаблівасці, фіброз.

**Аб'ект і прадмет даследавання:** фрагменты тканкі печані, пашкоджаная гепатытам С і інтактнай ад запаленчага працэса.

**Мэта працы:** высвятліць узаімасувязі характарыстык парэнхіматычнага і стромальнага кампанентаў тканкі печані экспрэсіі фактараў праліферацыі, як крытэрыю асаблівасцей морфагенеза хранічнага гепатыту С у час пераходу у цыроз.

**Метады даследавання:** гісталагічны, морфаметрычны, (з выкарыстаннем полуколькасных метадаў) і імунагістахімічны метады, а таксама колькасны і якасны аналіз узаімаадносін элементаў сістэмы «парэнхіма – строма».

**Атрыманыя вынікі і іх навізна:** новымі з'яўляюцца знойдзеныя канкрэтныя узаемаадносіны структурных элементаў сістэмы «парэнхіма-строма» і фактараў праліферацыі у фібрагенэзе пры хранічным гепатыце С. Упершыню паказана, што развіццё фіброза у тканцы печані пры хранічным гепатыце С залежыць ад ступені актыўнасці працэсу, распаўсюджаннасці некрозу і віду дыстрафіі гепатацытаў. Пры слабай і умеранай ступені актыўнасці гепатыту паказаныя змяненні маюць розную морфагенетычную накіраванасць. Упершыню з марфалагічных пазіцый паказана, што хранічны гепатыт С слабай ступені актыўнасці павінен разглядацца як цяжкае захворванне, абавязкова выклікаючае фіброз з фарміраваннем портацэнтральных сэпт і дэфармацыю органаў, што звязана з асаблівасцямі тканкавых рэакцый у органе.

**Ступень выкарыстання:** У выніку праведзенага даследавання паказана, што узаемасувязь паміж морфаметрычнымі параметрамі парэнхімы і стромы печані пры хранічным гепатыце С, сведчанні функцыянальнай актыўнасці клетак сістэмы «парэнхіма-строма» (імунагістахімічнае даследаванне) удакладняе ролю парушэння гэтых узаімаадносін у фібразіраванні органа, што неабходна выкарыстоўваць пры дыягностыке і ацэнкі вынікаў лячэння хранічнага гепатыту С у клініцы. Колькасны аналіз морфаметрычных і карэляцыйных сведчанняў, дапоўнены імунагістахімічнымі данымі, з'яўляецца надзейным крытэрыем ацэнкі фібразіравання печані. Урачамі-паталагаанатамамі рэкамендавана ўлічваць атрыманыя даныя, якія у акрэсленай меры павышаюць аб'ектыўнасць і інфармаванасць даследавання біапсійнага матэрыяла, так як грунтуюцца на існуючых у тканцы печані узаемасувязях элементаў парэнхімы і стромы.

**Галіна выкарыстання:** у навучальным працэсе на кафедрах паталагічнай анатоміі, у практычнай дзейнасці паталагаанатамічных бюро.

## РЕЗЮМЕ

### МАРТЕМЬЯНОВА Людмила Александровна «МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С НА СТАДИИ ПЕРЕХОДА В ЦИРРОЗ»

**Ключевые слова:** гепатит С, морфогенез, морфологические особенности, фиброз.

**Объект и предмет исследования:** фрагменты ткани печени, пораженной вирусным гепатитом С и интактной от воспалительного процесса.

**Цель работы:** Выявить взаимосвязи морфологических характеристик паренхиматозного и стромального компонентов ткани печени, экспрессии факторов пролиферации как критериев особенностей морфогенеза хронического вирусного гепатита С на стадии перехода в цирроз.

**Методы исследования:** гистологический, морфометрический (с использованием полуколичественных методик) и иммуногистохимический методы, а также количественный и качественный анализ взаимоотношений элементов системы «паренхима-строма».

**Полученные результаты и их новизна:** новыми являются выявленные конкретные взаимодействия структурных элементов системы «паренхима-строма» и факторов пролиферации в фиброгенезе при хроническом вирусном гепатите С. Впервые показано, что развитие фиброза в ткани печени при хроническом вирусном гепатите С зависит от степени активности процесса, распространенности некроза и вида дистрофии гепатоцитов. При слабой и умеренной степени активности гепатита указанные изменения имеют различную морфогенетическую направленность. Впервые с морфологических позиций показано, что хронический гепатит С слабой степени активности должен рассматриваться как тяжелое страдание, обязательно вызывающее фиброз с формированием портоцентральных септ и деформацию органа, что связано с особенностями тканевых реакций в органе.

**Степень использования:** в результате проведенного исследования показано, что взаимосвязь между морфометрическими параметрами паренхимы и стромы печени при хроническом вирусном гепатите С, показателями функциональной активности клеток системы «паренхима-строма» (иммуногистохимическое исследование) уточняет роль нарушений этих взаимоотношений в фиброзировании органа, что необходимо использовать при диагностике и оценке последствий лечения хронического вирусного гепатита С в клинике. Количественный анализ морфометрических и корреляционных показателей, дополненный иммуногистохимическими данными является надежным критерием оценки фиброзирования печени. Врачам-патологоанатомам рекомендовано учитывать полученные данные, которые в определенной мере повышают объективность и информативность исследования биопсийного материала, так как базируются на существующих в ткани печени взаимосвязях элементов паренхимы и стромы.

**Область применения:** в учебном процессе на кафедрах патологической анатомии, в практической деятельности патологоанатомических бюро.

**RESUME****MARTEMJANOVA Lyudmila Alexandrovna  
«MORPHOLOGICAL FEATURES OF CHRONIC VIRAL HEPATITIS C  
AT THE STAGE OF CIRRHOSIS FORMATION»**

**Key words:** hepatitis C, morphogenesis, morphological features, fibrosis.

**Object and subject of research:** fragments of liver tissue with viral hepatitis C infection and without of inflammatory process.

**The purpose of work:** To reveal interrelations of morphological characteristics in the parenchymatous and stromal components of liver tissue together with an expression of proliferative factors as the criteria of morphological features of chronic viral hepatitis C at the stage of cirrhosis formation.

**Methods of research:** histological, morphometry (with use of semiquantitative expression analysis) and immunohistochemical methods, and also the quantitative and qualitative analysis of mutual relations of elements in system "parenchyma-stroma".

**The received results and their novelty:**

The revealed concrete interactions between structural elements of system "parenchyma-stroma" and proliferative factors in fibrogenesis at chronic viral hepatitis C are new. For the first time it is shown that fibrosis formation in the liver tissue at chronic viral hepatitis C depends on a degree of process activity, prevalence of necrosis and a kind of hepatocytes' dystrophy. At the mild and moderate degree of hepatitis activity these changes have a various morphogenetic orientation. For the first time from morphological positions it is shown that the chronic hepatitis C with mild degree of process activity should be considered as the serious suffering necessarily causing the fibrous changes with the portocentral septa's formation and deformation of liver.

**Degree of use:** As a result of the carried out research it is shown that the interrelation between morphometric parameters in the liver parenchyma and stroma and functional activity of cells at chronic viral hepatitis C (immunohistochemical research) specifies a great role of infringements of these mutual relations in fibrous transformation of liver. These data are necessary to be used at diagnostics and an estimation of consequences of treatment of a chronic viral hepatitis C in clinic. The quantitative analysis of the morphometric and correlation parameters with immunohistochemistry's data addition are the reliable criteria of the liver's fibrosis stage estimation. It is recommended to doctors - pathologists to take into account the received data which can in the certain measure raise objectivity and information density of biopsy material because of these data are based on existing interrelations between parenchyma and stroma in liver tissue.

**Field of application:** in educational process on faculties of pathological anatomy and in practical activities of pathoanatomical bureau.

Научное издание

**МАРТЕМЬЯНОВА Людмила Александровна**

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ  
ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА С  
НА СТАДИИ ПЕРЕХОДА В ЦИРРОЗ**

**14.00.15 — патологическая анатомия**

Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Подписано в печать 29.11.2006.  
Формат 60×84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная. Гарнитура «Таймс»  
Усл. печ. л. 1,16. Тираж 25 экз. Заказ № 238

Издатель и полиграфическое исполнение  
Учреждение образования  
«Гомельский государственный медицинский университет»  
246000, г. Гомель, ул. Ланге, 5.  
ЛИ № 02330/0133072 от 30.04.2004.

