

**КЛИНИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ: ФИБРОЗ**

**В. М. Цыркунов (tvm111@mail.ru), Н. И. Прокопчик (prokopni@mail.ru),  
В. П. Андреев (vpandreev@mail.ru), Р. И. Кравчук (kravchuk@mail.ru),  
С. А. Черняк (chernyak.s@bk.ru)**

*УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь*

*Введение. Диагностические возможности верификации фиброза печени варьируют от биомаркеров крови до геномики, однако морфологический метод исследования в руках опытного специалиста является определяющим.*

*Цель исследования – представить морфологические характеристики разных стадий фиброза печени.*

*Материалы и методы. Для диагностики разных стадий фиброза печени использовался комплексный метод морфологической диагностики, основанный на исследовании биоптата у одного и того же пациента одновременно несколькими методами: классической световой микроскопии, дополненной оригинальными методиками визуализации ультратонких срезов и электронной микроскопии.*

*Результаты. Комплексный метод морфологической диагностики фиброза печени позволил диагностировать самые ранние стадии фиброобразования, связанные с активацией перисинусоидальных липоцитов (stellate cells), расположенных в перисинусоидальном пространстве и тесно контактирующих с гепатоцитами и другими клетками. Продемонстрированы разная активность и стадии трансформации stellate cells в миофибробласты. Использованные методики позволили представить на фотографиях разные стадии и виды фиброза в печени, описать их морфологические признаки.*

*В работе представлены морфологические характеристики IV стадии фиброза, соответствующей развитию цирроза печени, приведены основные признаки разных вариантов цирроза печени (неполный септальный, мелкоузловой, крупноузловой, смешанный).*

*Завершающим разделом статьи стали результаты оценки эффективности бактериальных липополисахаридов в лечении фиброза печени, которые продемонстрировали положительный эффект в снижении скорости прогрессии фиброза печени у пациентов с рецидивом гепатита С после неудачной интерферонотерапии.*

*Заключение. На современном этапе развития гепатологии требуется разработка более совершенных критериев оценки стадий фиброза печени для клинической практики. В классификационную систему оценки фиброза печени должен быть включен комплекс гистологических и морфологических показателей, оцениваемых методами световой микроскопии полутонких срезов и электронной микроскопии одновременно у одного пациента. Необходима разработка морфологических критериев ранних этапов активации stellate cells, их дифференцировки, оценки синтеза экстрацеллюлярных матриксных протеинов, а также других этапов, когда компенсаторные возможности самой печени не исчерпаны.*

**Ключевые слова:** болезни печени, морфологическая диагностика, фиброз.

**CLINICAL MORPHOLOGY OF THE LIVER: FIBROSIS**

**V. M. Tsyркunov, N. I. Prokopchik, V. P. Andreev, R. I. Kravchuk, S. A. Chernyak**  
*Educational Institution "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus*

*Background. The diagnostic capabilities for verification of liver fibrosis vary from blood biomarkers to genomics, however, the morphological method of investigation in the hands of an experienced specialist is decisive.*

*The objective of the study is to present the morphological characteristics of different stages of liver fibrosis.*

*Materials and methods. To diagnose different stages of liver fibrosis we used a complex method of morphological diagnostics based on the study of the biopsy specimen in the same patient simultaneously by several methods: classical light microscopy supplemented with original techniques for visualization of ultrathin sections and electron microscopy.*

*Results. The complex method of morphological diagnosis of liver fibrosis made it possible to diagnose the earliest stages of fibrosis associated with the activation of perisinusoidal lipocytes (stellate cells) located in perisinusoidal space and in close contact with hepatocytes and other cells. Different activity and stages of transformation of stellate cells into myofibroblasts were demonstrated. The used techniques allowed us to present in the photographs different stages and types of fibrosis in the liver as well as to describe their morphological features.*

*Morphological characteristics of stage IV fibrosis corresponding to the development of liver cirrhosis are presented in the paper, the main signs of various variants of liver cirrhosis (incomplete septal, small-node, coarse-nodular, mixed) are described.*

*The final section of the article presents the results of an evaluation of the effectiveness of bacterial lipopolysaccharides in the treatment of liver fibrosis, which have shown positive effects in reducing the rate of progression of liver fibrosis in patients with relapse of hepatitis C after unsuccessful interferon therapy.*

*Conclusion. At the present stage of development of hepatology, it is required to develop more advanced criteria for assessing the stages of liver fibrosis in clinical practice. A complex of histological and morphological indices, estimated by light microscopy of semithin sections and electron microscopy simultaneously in one patient, should be included in the classification system of assessing liver fibrosis. It is necessary to develop morphological criteria for the early stages*

*of stellate cells activation, their differentiation, evaluation of the synthesis of extracellular matrix proteins, as well as for other stages, when the compensatory abilities of the liver itself are not exhausted.*

**Keywords:** liver disease, morphological diagnosis, fibrosis.

### **Введение**

Отложение избыточного экстрацеллюлярного матрикса (ЕСМ), богатого фибриллообразующими коллагенами – типичный признак фиброза печени (ФП) [1]. Образование ЕСМ приводит к изменению нормальной структуры печени, нарушению печеночной сосудистой сети и формированию цирроза печени (ЦП) [2, 3].

В настоящее время диагностические возможности верификации ФП варьируют от биомаркеров крови до геномики, а также до более совершенных методов визуализации (эластография, другие) [4, 5].

Световая (классическая) микроскопия не всегда информативна для описания начальных стадий формирования и прогрессирования ФП в силу недостаточности визуализации изменений на клеточном и субклеточном уровнях. К субъективным причинам различий в определении стадии ФП в одном и том же биоптате относят и квалификацию морфолога. При оценке разными специалистами-морфологами различия в диагностике стадии ФП могут наблюдаться в 20% случаев [6].

В связи с этим для диагностики разных стадий ФП нами используется комплексный метод морфологической диагностики, основанный на исследовании биоптата у одного и того же пациента одновременно несколькими методами: классической световой микроскопии, дополненной оригинальными методиками, и электронной микроскопии.

**Цель исследования** – представить морфологические характеристики разных стадий ФП.

### **Материалы и методы**

Биоптаты печени были получены путем проведения аспирационной биопсии печени у пациентов с хроническими вирусными, алкогольными, сочетанными поражениями печени, от которых имелось письменное информированное согласие.

Для световой микроскопии биоптат фиксировали 10% раствором формалина. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону, Массону, MSB, а также по Перлсу – на железо и конго-красным – на амилоид. Кусочки печени, предназначенные для окраски на гликоген по Бесту, фиксировали в абсолютном спирте. Для окраски суданом-3 на жир использовались криостатные срезы.

Для световой микроскопии полутонких срезов образцы биоптата печени пациентов размером 0,5×2 мм фиксировали методом двойной фик-

сации: вначале – по методике Sato Taizan [7]; затем образцы ткани в течение 1 часа дополнительно фиксировали в 1% осмиевом фиксаторе, приготовленном на 0,1 М фосфатном буфере Зёренсена pH 7,4. Для лучшего выявления внутриклеточных структур и межклеточного вещества на полутонких срезах в 1% четырехокиси осмия добавляли дихромат калия (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) или кристаллы хромового ангидрида (1 мг/мл). После дегидратации образцов в серии спиртовых растворов возрастающей концентрации и в ацетоне они помещались в преполимеризованную смесь бутилового метакрилата и стирола и полимеризовались при 550С. Полутонкие срезы (толщиной 1 мкм) последовательно окрашивали азур II, основным фуксином. Микрофотографии получали с использованием цифровой видеокамеры (Leica FC 320, Германия).

Электронную микроскопию проводили в биоптатах печени (0,5×1,0 мм), фиксированных 1% раствором четырехокиси осмия на 0,1М буфере Миллоница, pH 7,4, при +40С в течение двух часов [8]. После дегидратации в спиртах восходящей концентрации и ацетоне образцы заливали в аралдит [9, 10]. Из полученных блоков на ультрамикротоме Leica EM VC7 (Германия) готовили полутонкие срезы (400 нм) и окрашивали метиленовым синим. Препараты просматривали в световом микроскопе и выбирали однотипный участок для дальнейшего изучения ультраструктурных изменений. Ультратонкие срезы (35 нм) контрастировали 2% раствором уранилацетата на 50% метаноле [11] и цитратом свинца по E. S. Reynolds [12]. Препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония) при увеличениях 10000-60000 при ускоряющем напряжении 80 кВт. Для получения снимков использовалась цифровая камера Olympus Mega View III с программой для обработки изображений iTEM (Olympus, Германия).

### **Результаты и обсуждение**

В норме внеклеточный матрикс представлен коллагенами разных типов и неколлагеновыми компонентами (ламинином, эластином, протеогликанами, фибронектином и др.). При развитии ФП нарастает преимущественно содержание коллагенов I, V, VI типов, ламинина, эластина, протеогликанов [13, 14].

Основную роль в продукции соединительной ткани в печени играют перисинусоидальные липоциты (Hepatic Stellate Cell, HSC, ПСЛ), расположенные в перисинусоидальном пространстве и тесно контактирующие с гепатоцитами и макрофагами печени (рис. 1, 2) [15].

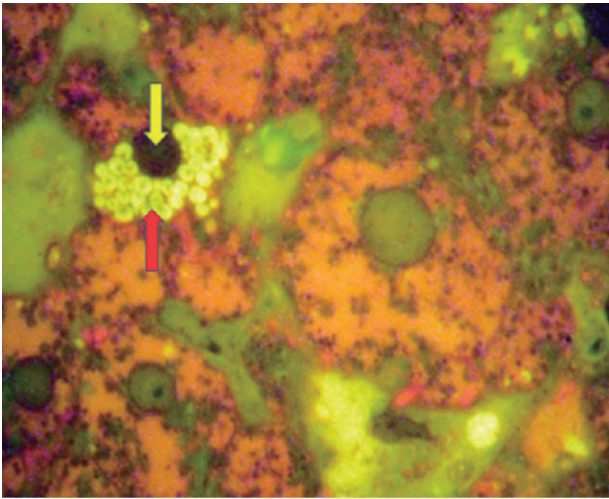


Рисунок 1. – ПСЛ: неактивное состояние, эксцентрично расположенное ядро (желтая стрелка) и многочисленные липидные включения (красная стрелка). Окр.: азуром II и фуксином.  $\times 1000$

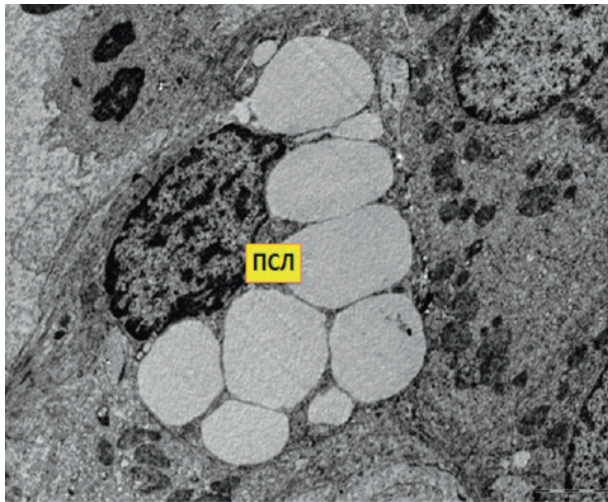


Рисунок 2. – ПСЛ имеет круглую форму и содержит многочисленные крупные липидные включения (пассивное состояние). Электронограмма. Масштабный отрезок равен 2 мкм.  $\times 8000$

В исследуемых нами препаратах пациентов с хроническим гепатитом С (ХГС) в перикапиллярном пространстве ПСЛ выявлялись в 86,7% случаев, чаще в умеренном (42,9%) или небольшом (28,6%) количестве [16].

ПСЛ содержали разное количество либо крупных, либо мелких липидных включений, являющихся показателем их функциональной активности, имели полигональной формы компактное ядро, сдавленное липидными каплями (рис. 3, 4, 5).

В результате повреждения из разрушенных гепатоцитов выделяются ИЛ-1, ФНО-альфа, перекиси, оксид азота, эндотелин и другие цитокины.

Главная роль в активации ПСЛ принадлежит тромбоцитарному фактору (PDGF), активатору плазминогена, трансформирующему фактору роста  $\beta 1$  (TGF $\beta 1$ ). Под их воздействием ПСЛ выходят из состояния покоя и претерпевают ряд превращений [17].

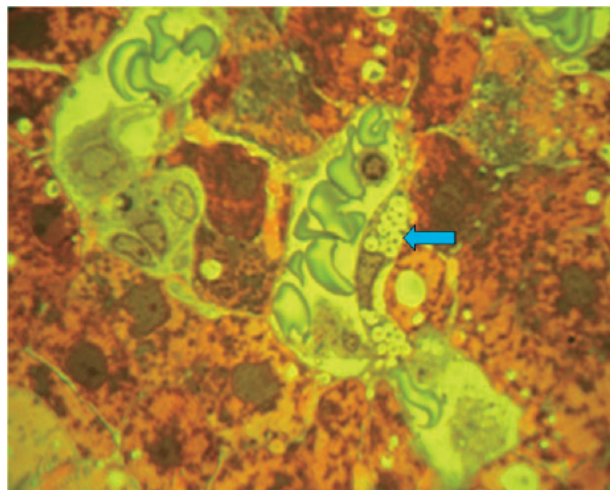
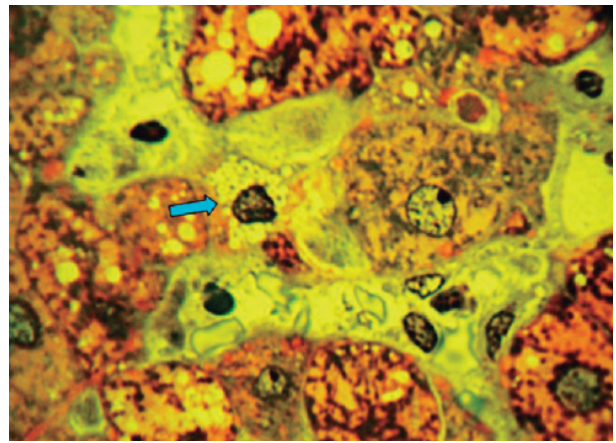


Рисунок 3. – Неактивированные ПСЛ (синие стрелки) в перисинусоидальном пространстве с многочисленными ретиноидсодержащими каплями. Окр.: азуром II и фуксином.  $\times 1000$

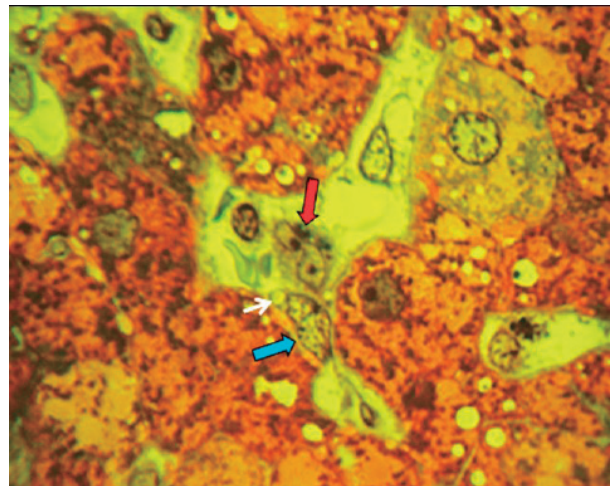


Рисунок 4. – Активированный ПСЛ (синяя стрелка), начало синтеза ЕСМ, контакт с макрофагом (красная стрелка). В цитоплазме ПСЛ липидная капля (белая стрелка). Окр.: азуром II и фуксином.  $\times 1000$

Одновременно с этим происходит активация клеток Купфера и эндотелия синусоидов, которые в свою очередь секретируют биологически активные вещества, вызывающие активацию ПСЛ.

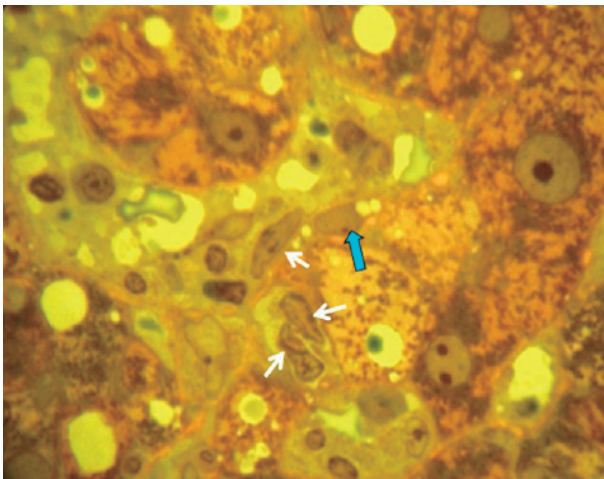


Рисунок 5. – Активированный ПСЛ с несколькими липидными каплями (синяя стрелка); мигрирующие миофибробласты (белые стрелки). Окр.: азуром II и фуксином.  $\times 1000$

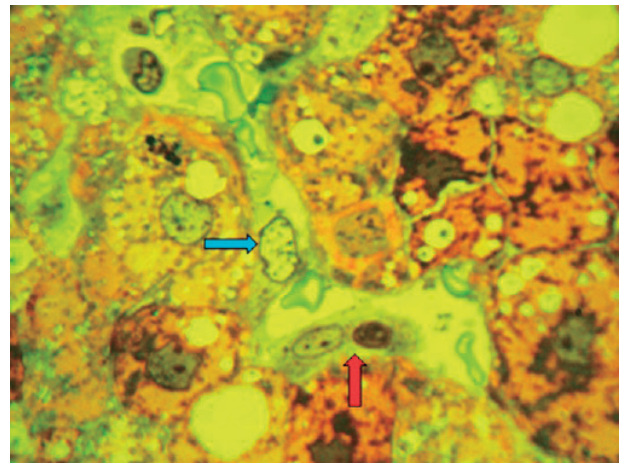


Рисунок 6. – ПСЛ (клетка Ито – К) с признаками трансформации в миофибробласт. Электронограмма. Масштабный отрезок равен 2 мкм.  $\times 10\ 000$

На 1 этапе (этап инициации) покоящаяся ПСЛ под действием перечисленных выше продуктов макрофагов и эндотелия утрачивает депо ретиноидов и начинает секретировать TGF $\beta$ 1, который играет важную роль в последующей аутоактивации ПСЛ. Под его воздействием ПСЛ не только активируют сами себя, но и мигрируют в участки воспаления.

2 этап – закрепления, или превращения ПСЛ в миофибробласты, – клетки вытянутой формы, содержащие фибриллы  $\alpha$ -актина (рис. 6, 7). Эти клетки продолжают секретировать TGF $\beta$ 1, способны к выработке внеклеточного матрикса печени и к активному делению в зоне воспаления. Миофибробласты накапливаются вдоль синусоидов, что приводит к нарастанию давления в синусоидах и развитию портальной гипертензии.

По современным представлениям, процесс развития ФП связан не столько с избыточной продукцией компонентов ECM, сколько с нарушением равновесия процессов образования и деградации компонентов ECM.

Непосредственно ПСЛ вырабатывают вещества разнонаправленного действия, обладающие способностью как стимулировать рассасывание ECM, так и подавлять этот процесс. Основными ферментами, вызывающими деградацию ECM, являются матриксные металлопротеиназы (ММП). Главный активатор ММП – белок плазмин. Тканевый ингибитор матриксных металлопротеиназ (ТИМП) подавляет активность ММП. Как ММП, так и ТИМП вырабатывают ПСЛ (рис. 8).

Кроме того, ПСЛ способны тормозить активацию ММП путем подавления активности плазмина [18, 19].

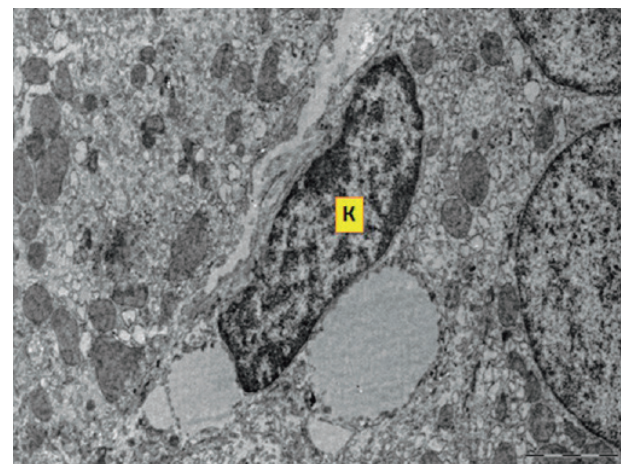


Рисунок 7. – Миофибробласт, мигрировавший в просвете синусоида (синяя стрелка). Макрофаг с разрушающимся эритроцитом в цитоплазме (красная стрелка). Окр.: азуром II и фуксином.  $\times 1000$

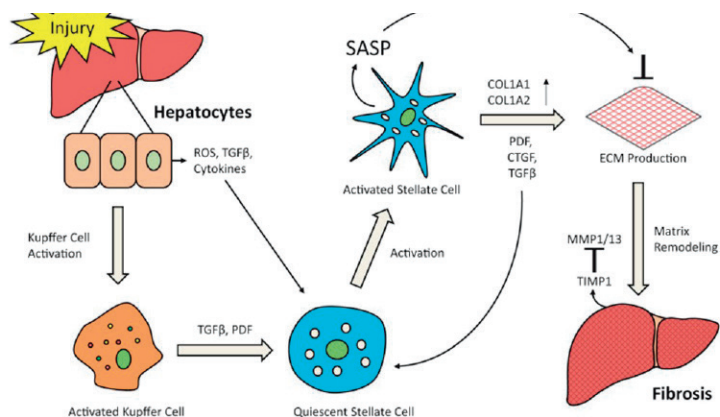


Рисунок 8. – COL1A1 – коллаген типа I; COL1A2 – коллаген 1, цепь типа II; CTGF – фактор роста соединительной ткани; ММП – матриксные металлопротеиназы; PDF – коэффициент диспергирования пигмента; ROS – реактивные виды кислорода; TGF – трансформирующий фактор роста; TIMP – тканевый ингибитор металлопротеиназ [20]

Активация процессов фиброгенеза сопровождается уменьшением признаков воспаления и приводит к нарушению структуры соединительнотканного матрикса печени, что во многом определяет несостоятельность последующих процессов регенерации паренхимы с развитием ложных долек и ЦП (рис. 9, 10).

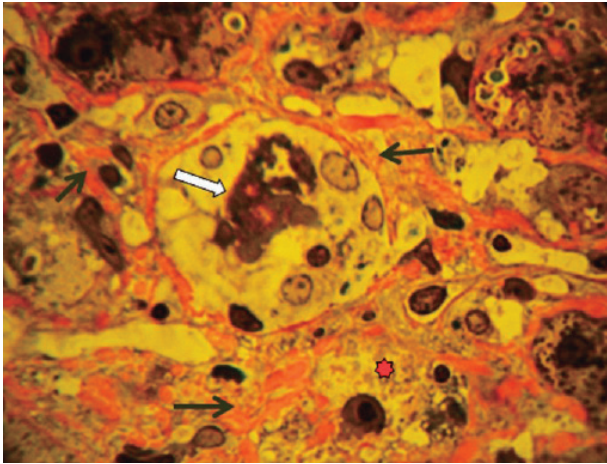


Рисунок 9. – Диффузный фиброз (черные стрелки) и лизис гепатоцита, окруженного соединительной тканью, с участком мононуклеарных клеток (белая стрелка). Окр.: азуром II и фуксином. ×1000

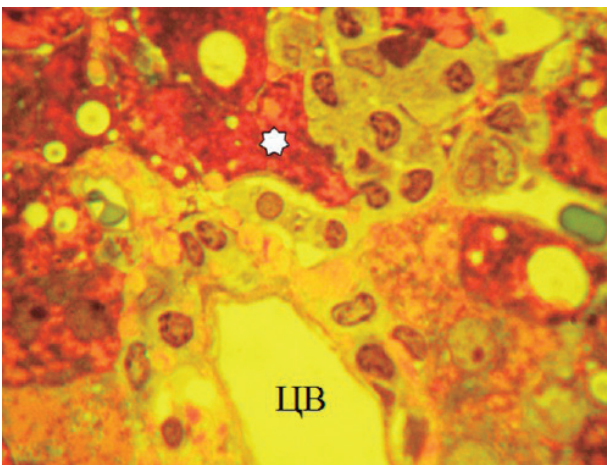


Рисунок 10. – Лизис гепатоцитов (звездочка) и активный фиброгенез вокруг центральной вены (ЦВ). Окр.: азуром II и фуксином. ×1000

В перипортальной соединительной ткани выявляется большое количество тонкостенных сосудов, рассматриваемых в качестве грануляционной ткани, развивающейся в перипортальной соединительной ткани при уменьшении воспаления. При этом изменяются стенки синусоидов и пространства Диссе, в котором откладывается избыточное количество ЕСМ с последующим его расширением и снижением проницаемости (рис. 11, 12).

ФП при разных типах повреждения развивается не по одному и тому же пути. При вирусных гепатитах ФП вначале захватывает портальные

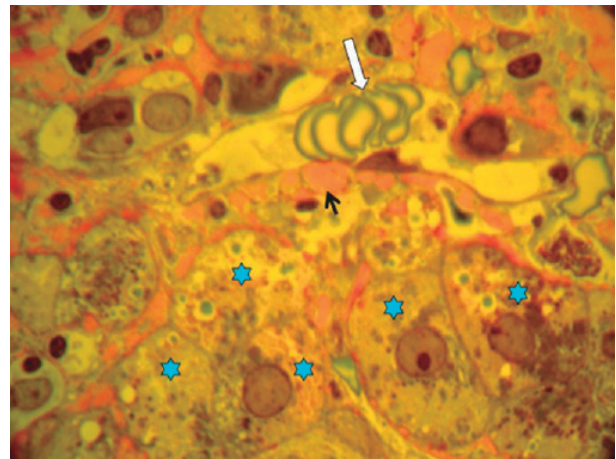


Рисунок 11. – Пучки коллагеновых волокон в пространстве Диссе (черная стрелка). В синусоиде – сладж эритроцитов (белая стрелка). Рядом с капилляром гепатоциты в состоянии дистрофии (звездочки). Окр.: азуром II и фуксином. ×1000

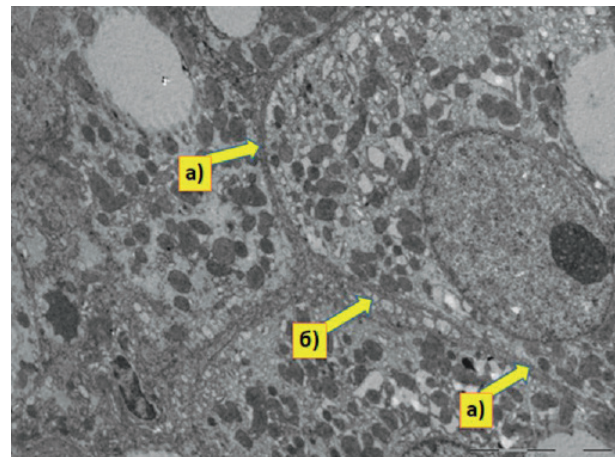


Рисунок 12. – Отложение ЕСМ в области цитолеммы гепатоцитов по всему периметру клетки (а); локальное расширение межклеточных щелей (б). Электронограмма. Масштабный отрезок равен 5 мкм. ×6 000

тракты (зону I печеночного ацинуса), из-за чего соединительная ткань распространяется к зонам II и III. При этом портальный тракт приобретает звездчатый вид, расширен, имеет многоугольную форму (рис. 13).

ФП может сопровождать течение ХГС любой активности, включая бессимптомное течение с нормальным уровнем аминотрансфераз. Прогрессивность процесса при ХГС может быть связана как с агрессивностью самого вируса и гетерогенностью его генотипов, так и с наличием других заболеваний: алкоголизма, сахарного диабета и т. д. Предполагается, что при инфицировании генотипом 1b развиваются более тяжелые изменения в печени, чем при других генотипах. Ряд исследователей указывают на отсутствие корреляции между наличием в ткани печени плюс и минус цепей РНК HCV и степенью ФП. В то же время у всех наблюдаемых пациентов при III

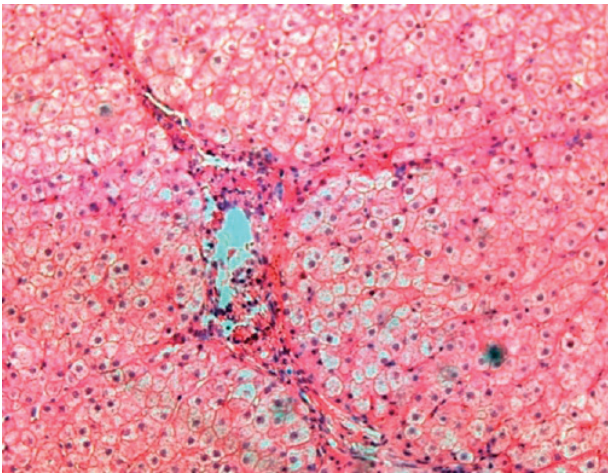
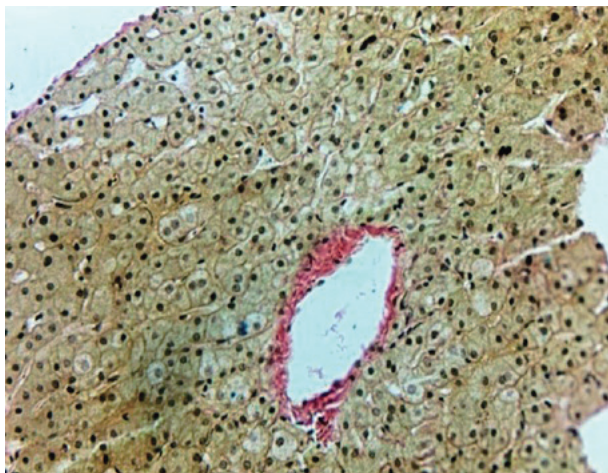


Рисунок 13. – Портальный тракт расширен, имеет многоугольную форму за счет слабо выраженного фиброза. Окр.: гематоксилином и эозином. ×200

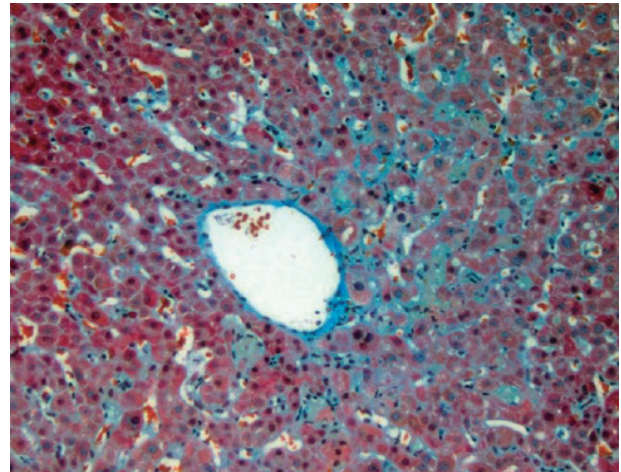
стадии ФП в сыворотке крови обнаруживалась РНК HCV. Установлены также индивидуальные факторы, способствующие прогрессированию (возраст, пол, особенность строения молекулы TGFβ и его рецепторов). Существенное значение имеет повышенное накопление железа в ткани печени, приводящее к активации ПОЛ, продукты которого способствуют фиброгенезу. Наличие патологического ожирения также повышает риск развития ФП.

В зависимости от локализации и распространенности фибротического процесса различают следующие формы ФП:

- венулярный и перивенулярный: развивается в центре долек и стенках центральных вен (рис. 14);
- перипортальный: синтез коллагена осуществляется ПСЛ при их активации и трансформации в фибробласты; в результате отложения коллагеновых волокон нарушается обмен между гепатоцитами и плазмой крови в синусоидах (рис. 15-22);



а



б

Рисунок 14 (а, б). – Венулярный и перивенулярный фиброз: стенка центральной вены утолщена за счет фиброза, распространяющегося на окружающие ткани. Окр.: пикрофуксином по Ван-Гизону (а) и MSB (б). ×200

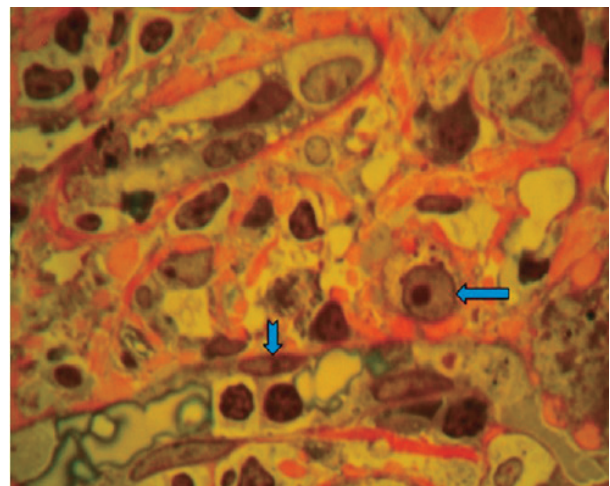


Рисунок 15. – Перипортальный и перисинусоидальный фиброз (ядро дегенерирующего гепатоцита обозначено синей стрелкой, эндотелиальная клетка – фигурной стрелкой). Окр.: азуром II и фуксином. ×1000

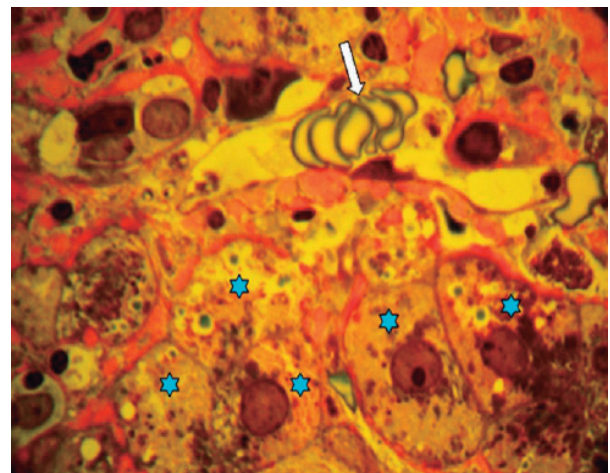


Рисунок 16. – Перипортальный и перисинусоидальный фиброз (красный цвет); сладж эритроцитов в просвете синусоида (стрелка), дистрофически измененные гепатоциты (звездочки). Окр.: азуром II и фуксином. ×1000

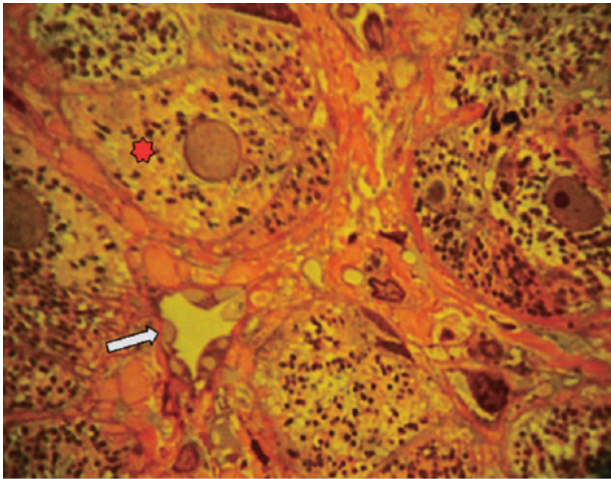


Рисунок 17. – Перицеллюлярный фиброз без лимфоцитарной инфильтрации. Просвет синусоида сужен (стрелка). Количество митохондрий в гепатоците уменьшено (звездочка). Окр.: азуром II и фуксином.  $\times 1000$

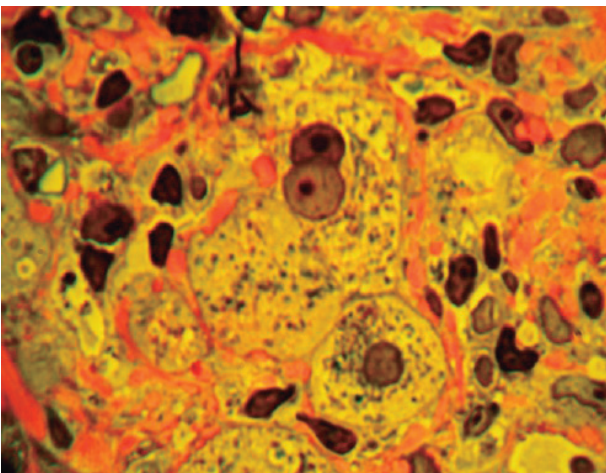


Рисунок 18. – Перицеллюлярный фиброз с выраженной лимфоцитарной инфильтрацией. Окр.: азуром II и фуксином.  $\times 1000$

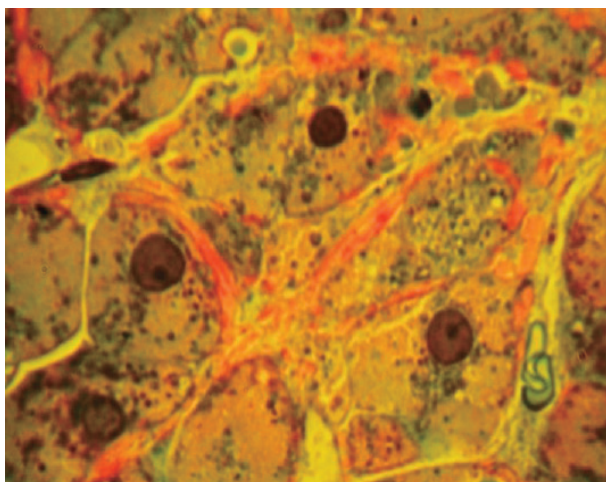
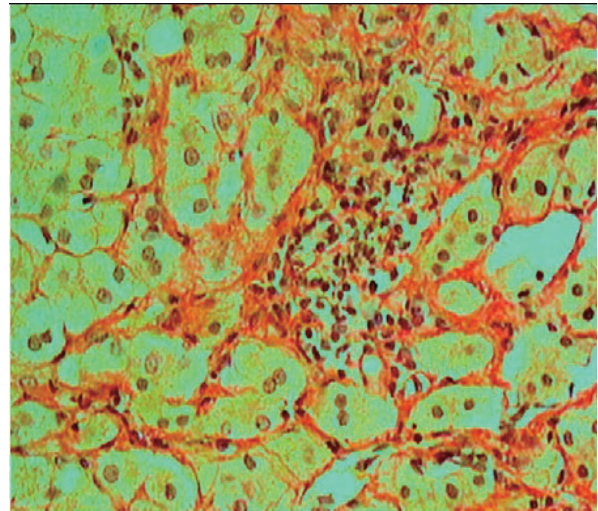
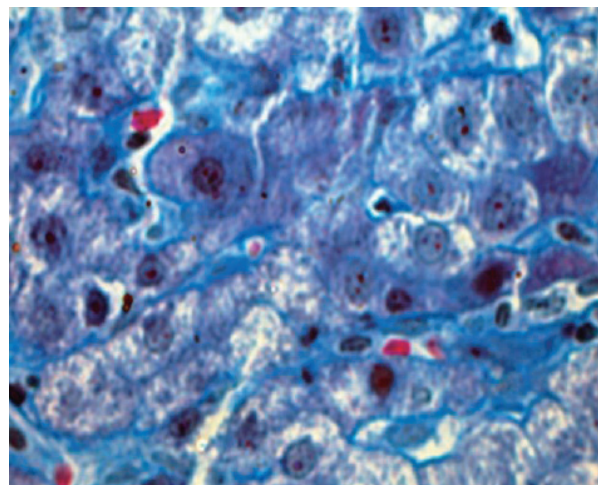


Рисунок 19. – Внутривольковый перицеллюлярный фиброз в виде «куриной лапы» – косвенный морфологический признак алкогольного гепатита с исходом в цирроз. Окр.: азуром II и фуксином.  $\times 1000$



а



б

Рисунок 20 (а, б). – Перицеллюлярный фиброз с капилляризацией синусоидов. Окр.: а – пикрофуксином по Ван-Гизону,  $\times 200$ ; б – по Массону.  $\times 400$

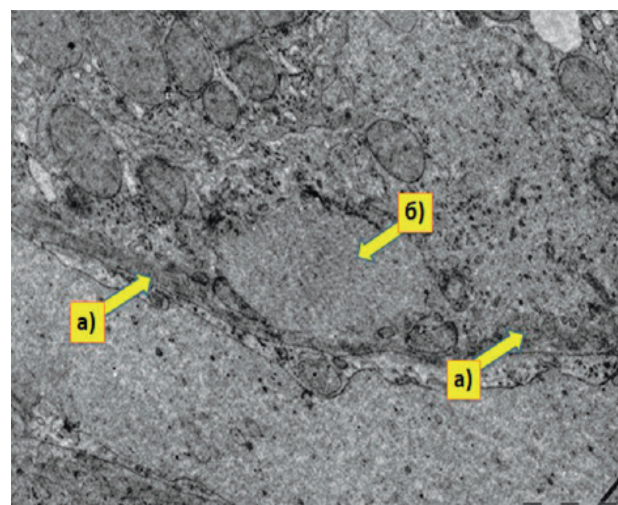


Рисунок 21. – Перикапиллярный фиброз (а); капилляризация синусоидного капилляра (б). Электронограмма. Масштабный отрезок равен 1 мкм.  $\times 20\ 000$

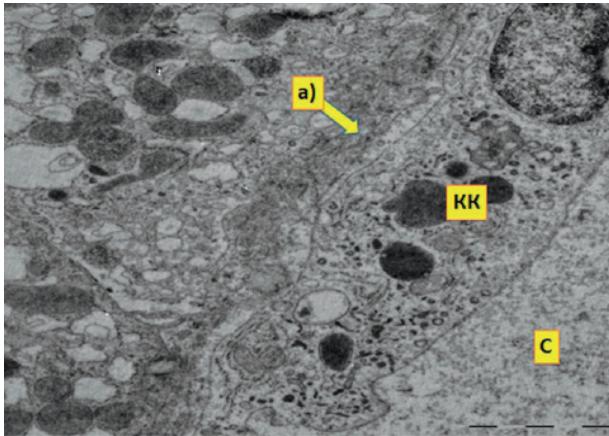


Рисунок 22. – Капилляризация синусоида, субэндотелиальное отложение материала повышенной электронной плотности (а). Клетка Кулфера (КК) встроенная в эндотелиальную выстилку. С – синусоид. Электронограмма. Масштабный отрезок равен 2 мкм. ×15 000

- септальный – возникает на месте мостовидных некрозов (рис. 23, 24): образующиеся фиброзные септы соединяют соседние портальные тракты и центральные вены или портальные тракты и центральные вены, что приводит к нарушению долькового строения печени.

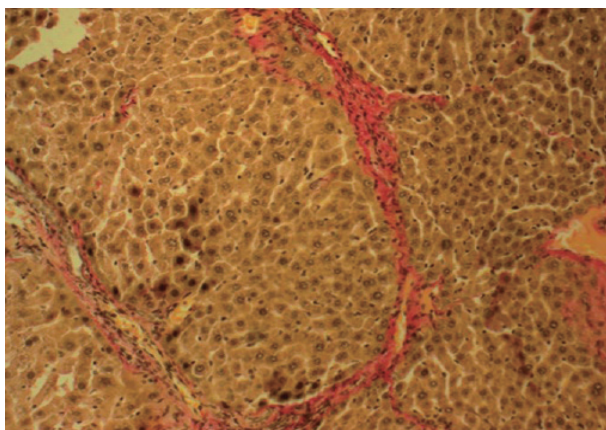


Рисунок 23. – Соединительнотканые септы: порто-портальная (справа) и центрo-портальная (слева). Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону. ×200

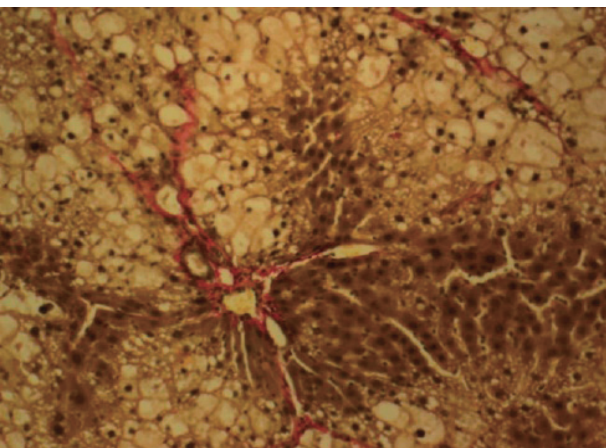


Рисунок 24. – Начальная стадия формирования порто-портальной септы; жировая дистрофия гепатоцитов. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону. ×200

В септах можно увидеть сосуды-анастомозы (шунты), по которым кровь из ветвей воротной вены и печеночной артерии напрямую поступает в центральные вены в обход активной паренхимы печени, что приводит к развитию тканевой гипоксии и портальной гипертензии (рис. 25, 26);

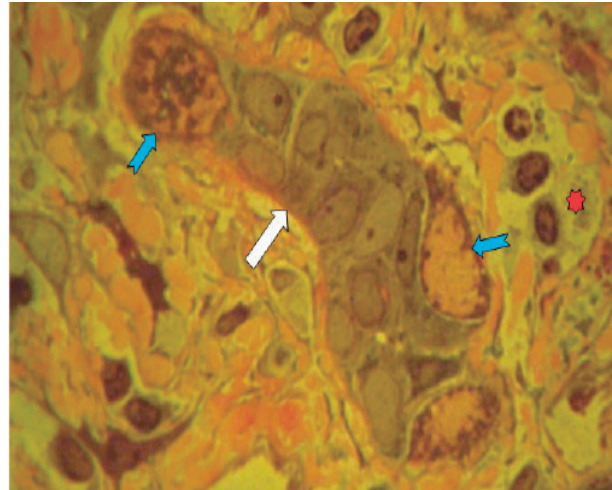


Рисунок 25. – Септальный фиброз. Дегенерирующие гепатоциты (синие стрелки) примыкают к протоку (белая стрелка). Шс – сосуды-анастомозы (шунт). Окр.: азуром II и фуксином. ×1000

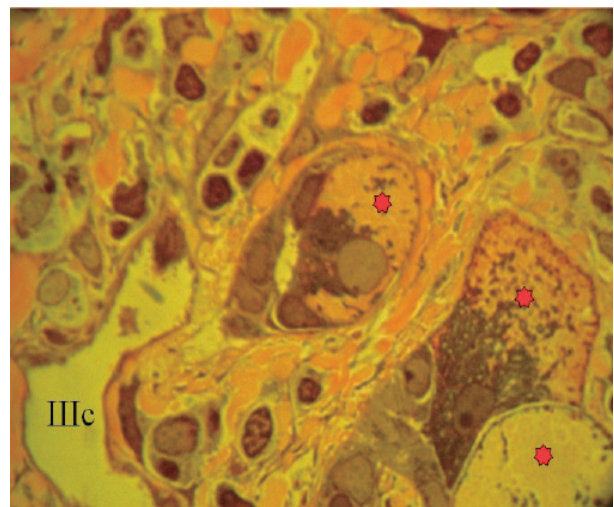


Рисунок 26. – Дегенерирующие гепатоциты (звездочки) в области септы. Шунтирующий сосуд (Шс). Окр.: азуром II и фуксином. ×1000

- портальный и перипортальный фиброз: клетки воспалительного инфильтрата, локализованные в портальных трактах, выделяют цитокины (ИЛ-1,2,6, ФНО-альфа), которые активируют фибробласты и выработку ими коллагена (рис. 27-30);



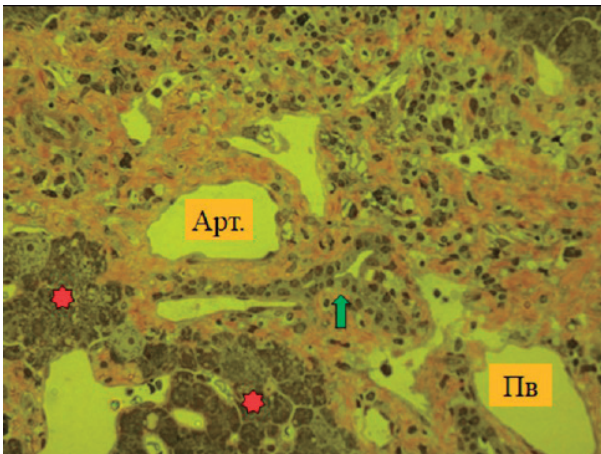


Рисунок 27. – Резко выраженный портальный и перипортальный фиброз с наличием лейкоцитарной инфильтрации. Гепатоциты в состоянии дистрофии (звездочки). Проплиферация эпителия желчного протока (стрелка). Пв – портальная вена, Арт. – артерия. Окр.: азуром II и фуксином. ×200

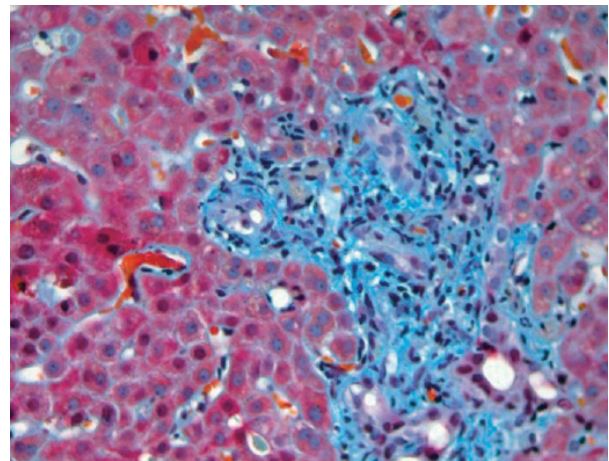


Рисунок 30. – Резко выраженный фиброз портального тракта и перипортальной зоны. Окр.: MSB. ×400

- перидуктальный фиброз (рис. 29, 31, 32);

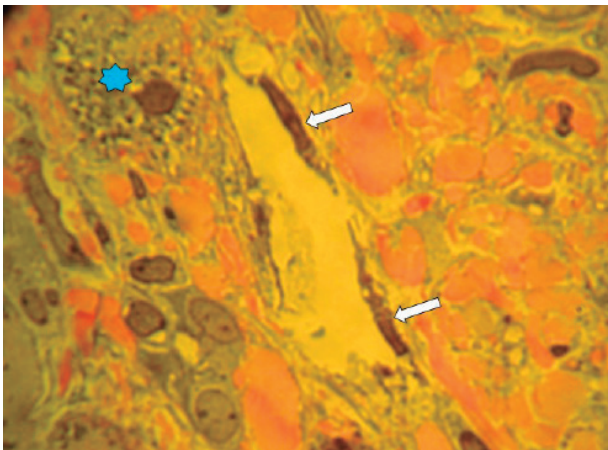
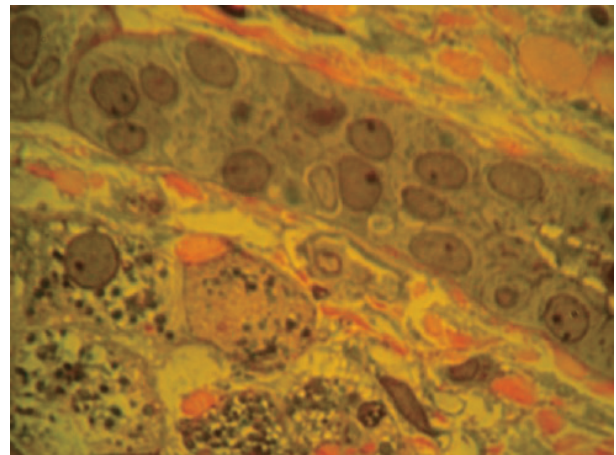
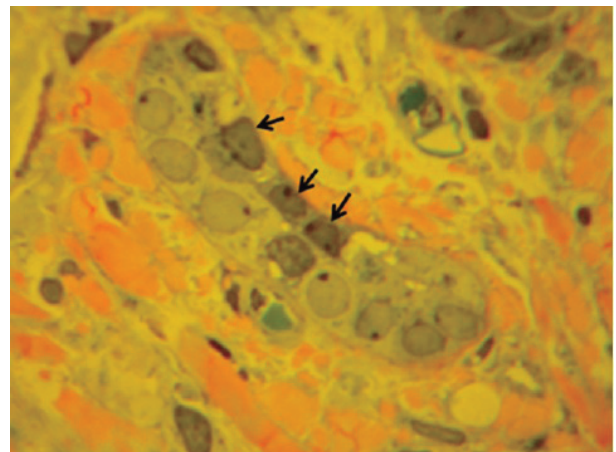


Рисунок 28. – Резко выраженный фиброз портального тракта. Дистрофия гепатоцитов (звездочка) и некроз эндотелиальных клеток вены (стрелки). Окр.: азуром II и фуксином. ×1000



а



б

Рисунок 31 (а, б). – Перидуктальный фиброз: а – слабо выраженный, представленный пучками коллагеновых волокон и резко выраженный – б. Окр.: азуром II и фуксином. ×1000 (б)

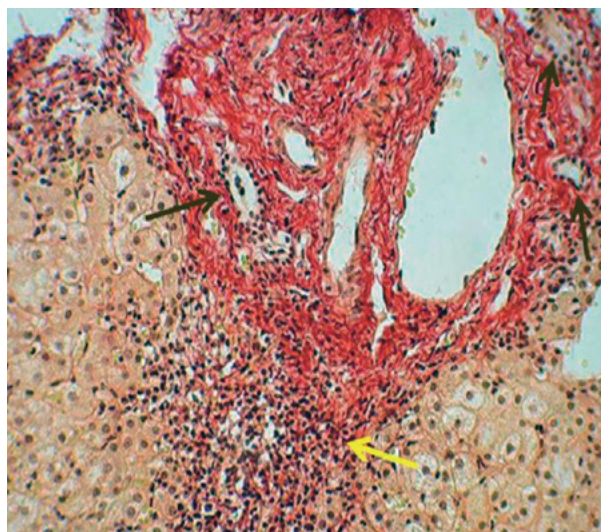


Рисунок 29. – Резко выраженный портальный и слабо выраженный перипортальный (желтая стрелка) фиброз; перидуктальный фиброз (черная стрелка). Окр.: пикрофуксином по Ван-Гизону. ×200

- смешанный (диффузный) фиброз (рис. 33, 37).

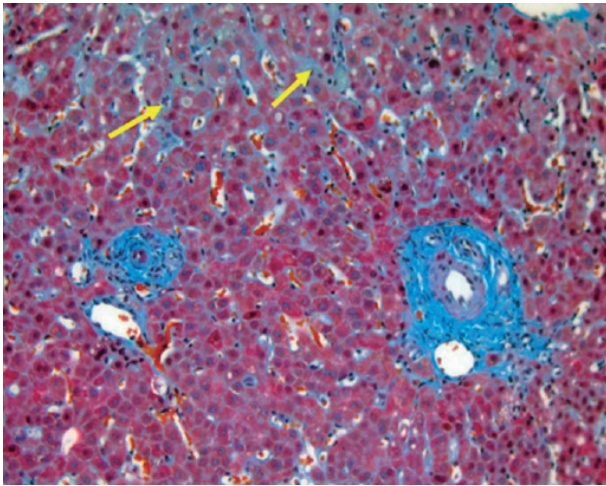


Рисунок 32. – Резко выраженный перидуктальный фиброз; очаговая капилляризация синусоидов (стрелки). Окр.: MSB. ×200

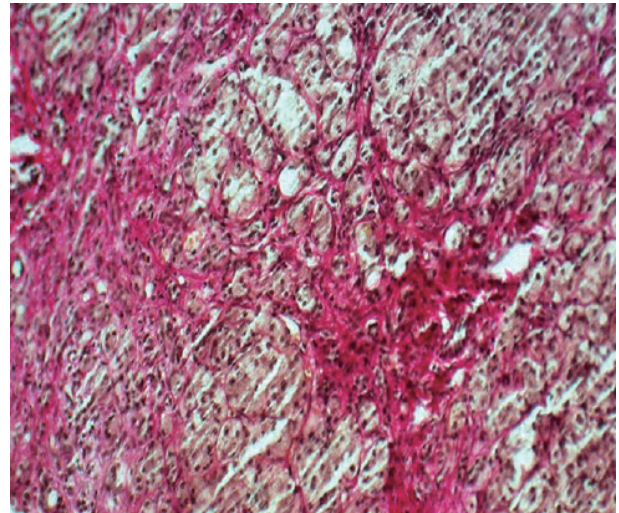


Рисунок 33. – Диффузный фиброз с секвестрацией гепатоцитов. Окр.: пикрофуксином по Ван-Гизону. ×200

**Морфологическое исследование стадии фиброза.** Для оценки стадии ФП разработаны методы окрасок на разные типы волокон фиброзной ткани. Так, коллагеновые волокна окрашиваются пикрофуксином по Ван-Гизону, а также трехцветным методом Мэллори; эластические волокна – фуксилином или орсеином; ретикулярные волокна – путем импрегнации серебром по Футу. Последовательное развитие фиброза от ранней стадии (в пределах портального тракта) до обнаружения всех признаков ЦП рассматривается как процесс, состоящий из нескольких стадий: F0 – фиброз отсутствует, F1 – фиброз в пределах

портального тракта, F2 – фиброзная септа, F3 – фиброзная септа с деформацией печеночной дольки, F4 – ложные дольки.

В клинической практике используются балльные системы оценки стадии ФП при хронических поражениях печени (табл. 1).

Морфологическая классификация ЦП предусматривает дифференцировку на следующие стадии:

- неполный септальный (начальная стадия узловой перестройки паренхимы), при котором регенераторные узлы не выражены, но видны фиброзные септы, рассекающие паренхиму

Таблица 1. – Характеристика систем полуколичественной оценки ФП

| Баллы | R. G. Knodell, 1981  | P. J. Scheuer, 1991   | K. G. Ishak, 1994  | K. P. Batts, 1995                        | Metavir, 1994  |
|-------|--|---|--|--|--|
| 0     | Фиброз отсутствует   | Фиброз отсутствует  | Фиброз отсутствует   | Фиброз отсутствует                       | Фиброз отсутствует   |
| 1     | Фиброз и расширение портальных трактов                         | Фиброз и расширение портальных трактов                                | Фиброз и расширение портальных трактов с наличием или отсутствием неполных фиброзных септ                      | –  | Фиброз, звездчатое расширение портальных трактов без образования септ        |
| 2     | Фиброз и расширение портальных трактов + портальные септы      | Перипортальные или портопортальные септы, строение печени не нарушено | Фиброз и расширение большинства портальных трактов с наличием неполных фиброзных септ или без таковых          | Портальный фиброз                        | Фиброз и расширение портальных трактов с единичными портопортальными септами |
| 3     | Мостовидный фиброз, портопортальные или портоцентральные септы | Фиброз с нарушением строения печени, но без явного цирроза            | Фиброз и расширение большинства портальных трактов с единичными мостовидными портопортальными септами          | Перипортальный фиброз, септальный фиброз | Многочисленные портоцентральные септы без цирроза                            |
| 4     | Цирроз   | Вероятный или несомненный цирроз                                      | Фиброз и расширение портальных трактов с выраженными мостовидными портопортальными и портоцентральными септами | Цирроз                                   | Цирроз   |
| 5     | –  | –   | Многочисленные мостовидные септы с единичными узелками (неполный цирроз)                                       | –  | –  |
| 6     | –  | –   | Цирроз вероятный или достоверный   | –  | –  |

(рис. 34); к редкому варианту цирроза печени отнесены и описаны несколько случаев отдельного вида фиброза, названного незавершенным (неполным) септальным фиброзом перегородки печени вирусного, алкогольного, аутоиммунного и криптогенного происхождения;

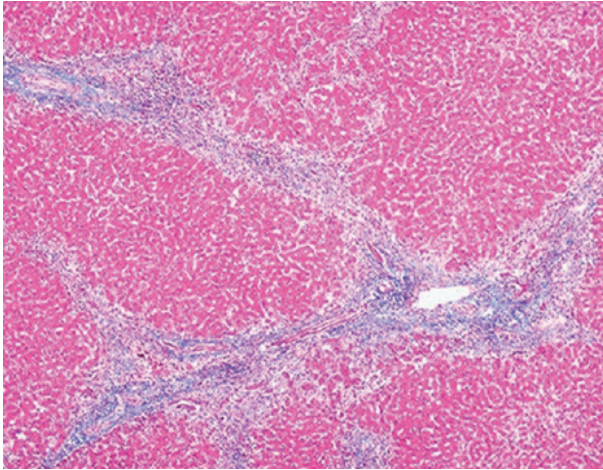


Рисунок 34. – Неполный септальный цирроз. Септы окрашены в синий цвет. Окр. по Массону.  $\times 100$

- мелкоузловой (мелкоузловой) цирроз (диаметр узлов от 1 до 3 мм); узлы, окруженные фиброзными септами толщиной до 2 мм, строятся обычно на территории одной дольки (монолобулярный цирроз; рис. 35);

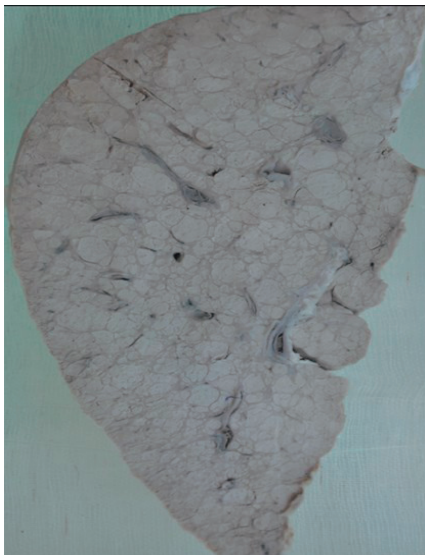


Рисунок 35. – Макрофото – печень на разрезе. Микроузловой цирроз

- макроузловой (крупноузловой) цирроз (диаметр узлов более 3 мм, достигает 5 мм в диаметре, узлы разделены широкими фиброзными прослойками, захватывающими портальные тракты и печеночные вены; узлы-регенераты расположены на территории нескольких долек (мультилобулярный цирроз; рис. 36);

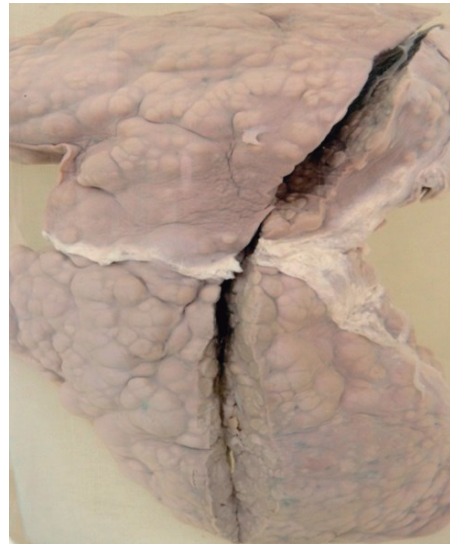


Рисунок 36. – Макрофото печени с поверхности и на разрезе при макроузловом циррозе

- смешанная форма, при которой сочетаются признаки мелко- и крупноузловой ЦП с наличием узлов, разных по размеру и форме (рис. 37).

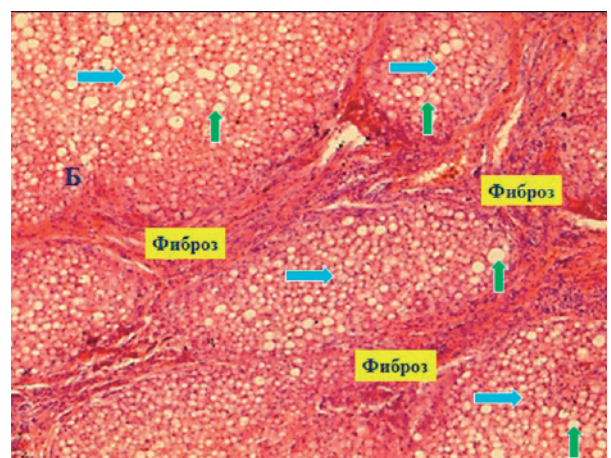
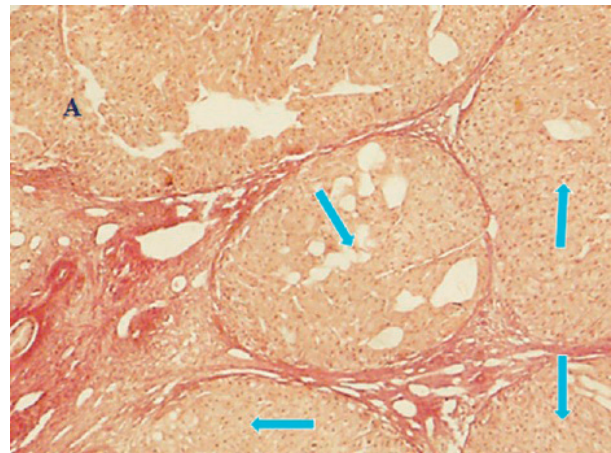


Рисунок 37. – Смешанный цирроз печени: а, б – ложные дольки разных размеров (голубые стрелки), окруженные фиброзной тканью; б – резко выраженная жировая дистрофия гепатоцитов ложных долек (зеленые стрелки). Окр.: пикрофуксином по Ван-Гизону (А); гематоксилином и эозином (Б).  $\times 100$

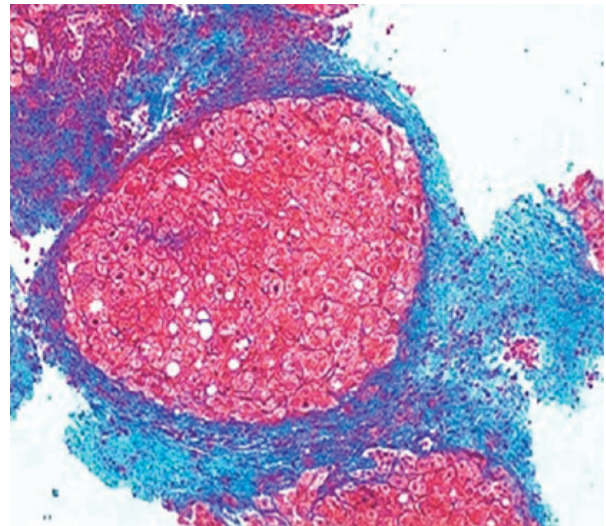
Существуют наблюдения, указывающие на обратное развитие фиброза в печени. В эксперименте подтверждено, что индукция апоптоза ПСЛ способствует обратному развитию ФП.

Морфологическое исследование биоптатов печени до лечения и через 6 месяцев после трансплантации аутологичных мезенхимальных стволовых клеток показало активацию процессов фибролиза и регенерации гепатоцитов, что продемонстрировано у конкретного пациента на рисунке 37 [21].

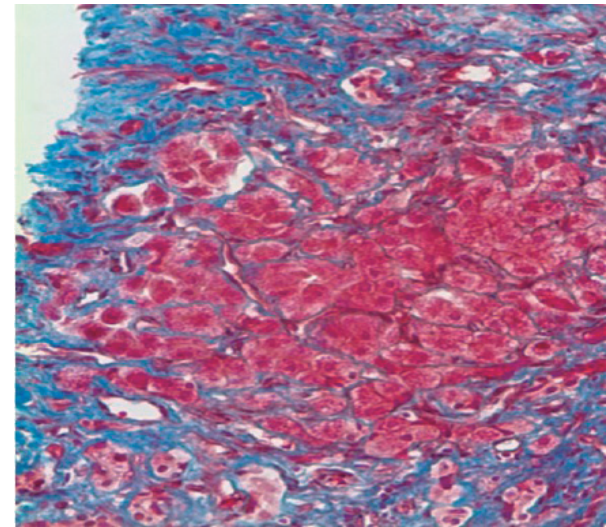
Современная парадигма рассматривает ЦП как динамическую и потенциально обратимую болезнь, состоящую из стадий (компенсированной, декомпенсированной), каждая из которых имеет отчетливый прогноз и разные предикторы выживания. Среди последних наиболее важным критерием является мониторинг печеночного венозного градиента давления (HVPG), позволяющего стратифицировать ЦП и управлять им [22-24].

Одно из наших исследований продемонстрировало положительную динамику со стороны показателей, характеризующих снижение выраженности фиброза у пациентов, лечившихся бактериальным липополисахаридом (ЛПС) – пирогеналом. В исследовании участвовали 21 пациент с диагнозом ХГС, не ответившие на противовирусную терапию препаратами интерферонов в комбинации с рибавирином. ЛПС вводился внутримышечно по схеме: 10 инъекций через день; стартовая доза 5 мкг, затем в нарастающей (по 5 мкг) дозе на введение; максимально вводимая доза – 30 мкг. Пациенты прошли три курса терапии в течение 12 месяцев. Для оценки антифиброзного эффекта определялись сывороточные уровни гиалуроновой кислоты (ГК), тканевого ингибитора матричной металлопротеиназы-1 (ТИМП-1), а также неспецифического маркера фиброза – индекса APRI в динамике до начала и после окончания ПТ (табл. 2).

Снижение сывороточного уровня ГК наблюдалось у 65% обследованных, ТИМП – у 75%, АПРИ – у 71,4% пациентов. Положительный антифиброзный эффект подтвердился в снижении



a



б

Рисунок 38 (а,б). – Регресс ложной долики у пациента Д. с вирусным циррозом печени через 6 месяцев после трансплантации в печень аутологичных мезенхимальных стволовых клеток Окраска по Массону.  $\times 100$  (а),  $\times 200$  (б)

сывороточной концентрации ТИМП-1 и уменьшении индекса APRI ( $p < 0,05$ ). Прослеженная положительная динамика данных показателей по мере увеличения количества курсов пирогеналотерапии и отсутствие побочных эффектов стали

Таблица 2. – Показатели маркеров ФП в динамике терапии ЛПС у пациентов с рецидивом ХГС

| Сроки            | APRI (n=14)*       |                   | ГК (n=20)          |                     | ТИМП-1 (n=20)*     |                         |
|------------------|--------------------|-------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-------------------------|
|                  | M $\pm$ $\Delta$ m | Me (Q1,Q3)        | M $\pm$ $\Delta$ m | Me (Q1,Q3)          | M $\pm$ $\Delta$ m | Me (Q1,Q3)              |
| До лечения       | 1,44 $\pm$ 0,38    | 1,4<br>(0,7; 2,1) | 32,3 $\pm$ 11,84   | 25,5<br>(16; 34,2)  | 265,0 $\pm$ 26,48  | 258,4<br>(234,7; 267,2) |
| После 1-го курса | 1,22 $\pm$ 0,44    | 0,8<br>(0,6; 1,9) | 35,6 $\pm$ 12,51   | 22,8<br>(13; 53)    | 295,7 $\pm$ 44,16  | 259,6<br>(240,6; 276,9) |
| После 2-х курсов | 0,96 $\pm$ 0,39    | 0,7<br>(0,4; 1,7) | 29,6 $\pm$ 12,05   | 14,4<br>(9,4; 47,6) | 278,2 $\pm$ 38,03  | 249,4<br>(234,8; 261,2) |
| После 3-х курсов | 1,13 $\pm$ 0,43    | 0,8<br>(0,6; 1,1) | 26,5 $\pm$ 10,41   | 16,2<br>(9,1; 35,8) | 247,9 $\pm$ 33,44  | 237<br>(192,9; 243,5)   |

основанием для рекомендации лечения ЛПС пациентов с фиброзом печени [25].

### Выводы

Представленный уровень морфологической диагностики фиброза печени обосновывает разработку более совершенных критериев оценки стадий фиброза печени для клинической практики. В новейшую классификационную систему оценки фиброза печени должен быть включен

комплекс гистологических и морфологических показателей, оцениваемых одновременно методами световой микроскопии полутонких срезов и электронной микроскопии. Необходима разработка морфологических критериев диагностики ранних этапов активизации ПСЛ, их трансдифференцировки, оценки синтеза экстрацеллюлярных матриксных протеинов, а также всех этапов, когда компенсаторные возможности самой печени не исчерпаны.

### References

1. Germani G, Hytioglou P, Fotiadu A, Burroughs AK, Dhillon AP. Assessment of fibrosis and cirrhosis in liver biopsies: an update. *Semin Liver Dis.* 2011;31(1):82-90.
2. Imbert-Bismut F, Ratziu V, Pieroni L, Charlotte F, Benhamou Y, Poynard T. Biochemical markers of liver fibrosis in patients with hepatitis C virus infection: a prospective study. *Lancet.* 2001;357(9262):1069-1075.
3. Brenner, DA. Reversibility of liver fibrosis. *Gastroenterol Hepatol (NY).* 2013;9(11):737-739.
4. Tsyrukunov VM, Matievskaja NV, Lukashik SP. HCV-инфекция [HCV infection]. Minsk: Asar; 2012. 480 p. (Russian).
5. Suk KT, Kim DY, Sohn KM, Kim DJ. Biomarkers of liver fibrosis. *Adv Clin Chem.* 2013;62:33-122.
6. Chen W, Rock JB, Yearsley MM, Hanje AJ, Frankel WL. Collagen immunostains can distinguish capsular fibrous tissue from septal fibrosis and may help stage liver fibrosis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2014;22(10):735-740.
7. Sato T, Takagi I. An electron microscopic study of specimen-fixed for longer periods in phosphate buffered formalin. *J. Electron. Microsc.* 1982;31(4):423-428.
8. Glauert RH. Araldite as embedding medium for electron microscopy. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1958;4(2):191-194.
9. Millonig GA. Advantages of a phosphate buffer for osmium tetroxide solutions in fixation. *J. Appl. Physics.* 1961;32:1637-1643.
10. Watson ML. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1958;4(4):475-478.
11. Glauert AM. Fixation, degydration and embedding of biological specimens. Amsterdam: North-Holland Publishing; 1975. 207p. (Practical Methods in Electron Microscopy).
12. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.* 1963;17:208-212.
13. Amenta PS, Harrison D. Expression and potential role of the extracellular matrix in hepatic ontogenesis: a review. *Microsc. Res. Tech.* 1997;39(4):372-386. doi: 10.1002/(SICI)1097-0029(19971115)39:4<372::AID-JEMT7>3.0.CO;2-J.
14. Halper J, Kjaer M. Basic components of connective tissues and extracellular matrix: elastin, fibrillin, fibulins, fibrinogen, fibronectin, laminin, tenascins and thrombospondins. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2014;802:31-47. doi: 10.1007/978-94-007-7893-1\_3.
15. Tsyrukunov VM, Andreev VP, Kravchuk RI, Kondratovich IA. Klinicheskaja citologija pecheni: zvezdchatye kletki ITO [Clinical cytology of the liver: ITO stellate cells (hepatic stellate cells)]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2016;4:90-99. (Russian).
16. Lukashik SP, Kravchuk RI, Tsyrukunov VM, Shejbak VM, Prokopchik NI, Poleshchuk NN. Klinicheskij analiz izmenenij ultrastrukturny gepatocitov bolnyh hronicheskim gepatitom S [A clinical analysis of the changes of the hepatocyte ultrastructure in patients with chronic hepatitis C]. *Infekcionnyye bolezni* [Infectious Diseases]. 2005;3(2):16-21. (Russian).
17. Sui G, Cheng G, Yuan J, Hou X, Kong X, Niu H. Interleukin (IL)-13, Prostaglandin E2 (PGE2), and Prostacyclin 2 (PGI2) Activate Hepatic Stellate Cells via Protein kinase C (PKC) Pathway in Hepatic Fibrosis. *Med. Sci. Monit.* 2018;24:2134-2141. (Russian).
18. Roeb E. Matrix metalloproteinases and liver fibrosis (translational aspects). *Matrix Biol.* 2017;pii: S0945-053X(17)30353-0. doi: 10.1016/j.matbio.2017.12.012.
19. Flevaris P, Vaughan D. The Role of Plasminogen Activator Inhibitor Type-1 in Fibrosis. *Semin. Thromb. Hemost.* 2017;43(2):169-177. doi: 10.1055/s-0036-1586228.
20. Meng L, Quezada M, Levine P, Han Y, McDaniel K, Zhou T, Lin E, Glaser S, Meng F, Francis H, Alpini G. Functional role of cellular senescence in biliary injury. *Am. J. Pathol.* 2015;185(3):602-609. doi: 10.1016/j.ajpath.2014.10.027.
21. Lukashik SP, Tsyrukunov VM, Isaikina YI, Shimanskiy AT, Romanova ON, Aleinikova OV. Autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with liver cirrhosis. *Cellular Therapy and Transplantation (CTT).* 2011;3(12):64-65. (Russian).
22. Suk KT. Hepatic venous pressure gradient: clinical use in chronic liver disease. *Clin. Mol. Hepatol.* 2014;20(1):6-14. doi: 10.3350/cmh.2014.20.1.6.
23. Albilllos A, Garcia-Tsao G. Classification of cirrhosis: the clinical use of HVPG measurements. *Dis. Markers.* 2011;31(3):121-128. doi: 10.3233/DMA-2011-0834.
24. Garcia-Tsao G, Friedman S, Iredale J, Pinzani M. Now there are many (stages) where before there was one: In search of a pathophysiological classification of cirrhosis. *Hepatology.* 2010;51(4):1445-1449. doi: 10.1002/hep.23478.
25. Tsyrukunov VM, Chernjak SA, Prokopchik NI, Andreev VP, Shulika VR. Vlijanie bakterialnogo lipopolisaharida - pirogenala na regress fibroza v pecheni pri hronicheskom gepatite S [Influence of bacterial lipopolysaccharide – pyrogenal on the regress of fibrosis in the liver in chronic hepatitis C]. *Recept [Recipe].* 2015;6(104):45-53. (Russian).

Поступила: 07.05.2018

Принята к печати: 14.05.2018