

УДК 616.36-002-076.4

ЭЛЕКТРОННАЯ МИКРОСКОПИЯ КАК МЕТОД КОНТРОЛЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ С

В.М. Цыркунов, С.П. Лукашик, Р.И. Кравчук, В.М. Шейбак,
А.С. Егоров

УО «Гродненский государственный медицинский университет»
ГНУ «Институт физиологии НАН Беларуси»

Изучены изменения ультраструктуры гепатоцитов больных хроническим гепатитом С. Анализ полученных данных показал, что у больных с полным ответом (ПО) на интерферонотерапию сохраняются признаки незавершенности патологического процесса. Изменения ультраструктуры гепатоцитов при хроническом гепатите С могут быть использованы в качестве предикторов прогноза исхода естественного течения гепатита и для оценки эффективности терапии.

Ключевые слова: гепатит, гепатоциты, ультраструктура, интерферон.

The changes of the hepatocytes ultrastructure in patients with chronic hepatitis C were studied. The analysis of the findings showed that the signs of continuous hepatic pathologic process preserved in patients with chronic hepatitis C and complete response to interferon treatment. The changes of the hepatocyte ultrastructure in chronic hepatitis C might be used as predictors of the outcome of hepatitis natural course and for evaluating the efficacy of the therapy.

Key words: hepatitis, hepatocytes, ultrastructure, interferon

Введение

Актуальность хронической HCV-инфекции определяется ростом заболеваемости, высокой частотой хронизации, отсутствием вакцинопрофилактики и недостаточно эффективными мерами управления данным заболеванием на организменном уровне [1, 5, 7]. Тактика ведения больных хроническим гепатитом С (ХГС), прогноз и исход заболевания определяются результатами «золотого» диагностического стандарта: клиническое наблюдение, характер биохимического, вирусологического и морфологического ответов на терапию. Одними из основных морфологических методов оценки изменений в печени является световая микроскопия биоптата печени, выполняющая арбитражную функцию в определении активности и стадии болезни [3, 7]. Несмотря на высокую информативность, данный метод не лишен недостатков, в частности, не всегда выявляются специфические признаки, оценка которых может стать основой для более точной диагностики, служить прогнозом осложненного (рецидив, цирроз) или благоприятного исхода гепатита, критерием эффективности лечения или противопоказанием для терапии [2, 6].

Цель исследования – определить значение электронной микроскопии в оценке изменений ультраструктуры гепатоцитов и эффективности лечения у больных с полным ответом (ПО) на интерферонотерапии (ИФТ).

Материал и методы

Объектом исследования были 48 больных (возраст – $25,2 \pm 1,6$ лет, средний стаж болезни – $7,0 \pm 1,8$ лет, мужчин – 80%, женщин – 20%) с этиологически, биохимически и морфологически верифициро-

ванным ХГС: РНК HCV в ПЦР, АлАТ $2,37 \pm 0,27$ ммоль/ч.л, гистологический индекс степени активности (ГИСА, Серов В.В. и др., 1996) – $12,1 \pm 0,62$ баллов, гистологический индекс стадии хронизации (ГИСХ, Серов В.В. и др., 1996) – $1,2 \pm 0,20$ баллов.

По данным световой микроскопии наиболее часто у наблюдаемых нами больных встречались такие морфологические признаки ХГС как лимфоидная инфильтрация портальных трактов, жировая дистрофия гепатоцитов, фиброз. Преобладали больные с 1-й (98,1%) и 2-й (1,9%) стадией хронизации. При изучении биоптата печени под электронным микроскопом были выявлены следующие ультраструктурные признаки реорганизации паренхиматозного и стромального компартментов печени: гетерогенность гепатоцитов; жировая дистрофия разной степени выраженности с ранней деструкцией липидных капель и формированием по периферии материала повышенной электронной плотности; преобладание гепатоцитов с локальной «опушенностью» цитоплазмы и наличием в ней вторичных образований в виде резидуальных телец и структур, содержащих электронно-плотные участки и липидные глобулы; «закупорка» синусоидов; гиперплазия пучков коллагеновых волокон в перикапиллярном пространстве; наличие липоцитов; наличие в цитоплазме связанных с мембранными структурами вирусоподобных частиц (HCV?), диаметром около 50 нм, умеренной электронной плотности. Выявленные изменения ультраструктуры гепатоцитов в дальнейшем мы использовали в качестве критериев прогноза исходов ХГС после ИФТ (ремиссия, рецидив).

Интерферон- $\alpha 2$ вводился больным внутримышечно по 3 млн. ЕД 3 раза в неделю в течение 9 – 12 мес. До начала ИФТ и после ее завершения производилась биопсия печени с последующим комплексным морфологическим анализом. По результатам ответа на ИФТ больные были разделены на две группы: полный ответ (ПО) и отсутствие ответа (ОО): ПО – нормализация уровня АлАТ в крови при биохимическом исследовании и отсутствие РНК HCV в крови по данным ПЦР; ОО – сохранение повышенного уровня АлАТ и РНК HCV в крови после курса ИФТ.

В дальнейшем комплексное исследование больных проводилось только в группе ПО – 10 пациентов: средний возраст – $25,1 \pm 2,60$, уровень АлАТ – $0,6 \pm 0,07$ ммоль/ч.л, ГИСА – $4,2 \pm 1,49$ баллов, ГИСХ – $0,7 \pm 0,21$ баллов. Таким образом, исследование на световом микроскопическом уровне показало отсутствие активности патологического процесса и фиброза в печени у части больных ХГС после проведенной ИФТ, что свидетельствовало о «морфологическом выздоровлении». В связи с этим было интересным оценить ультраструктурную динамику изменений гепатоцитов по вышеизложенным показателям.

В исследуемых нами образцах печени гетерогенность гепатоцитов сохранялась. «Темные» клетки характеризовались высокой плотностью цитоплазмы, в которой с трудом различались клеточные органеллы, при этом выявлялись многочисленные митохондрии с плотным матриксом и неотчетливыми кристами, более развитая ГрЭС, большее количество свободных рибосом. В гепатоцитах со светлой цитоплазмой митохондрии были более отчетливы и отличались небольшим количеством.

На диаграммах представлены данные, позволяющие оценить эффект ИФТ в зависимости от исходного показателя.

Как видно из диаграммы 1, после проведенной ИФТ частота встречаемости признака уменьшилась с 80% до 42,9%.

До начала ИФТ часто обнаруживались гепатоциты в состоянии жировой дистрофии разной степени выраженности с наличием вокруг липидных капель материала повышенной электронной плотности, который формируется, вероятно, в ответ на воздействие HCV. В результате проведенного лечения показатель изменился.

Данные представлены на диаграмме 2 и 3.

Как видно из диаграмм 2 и 3, в группе ПО после ИФТ выраженность жировой дистрофии уменьшилась со 100% до 71,4% с наметившейся тенденцией к уменьшению численности липидных включений с окаймлением по периферии с 40% до 28,6%.

Важным показателем

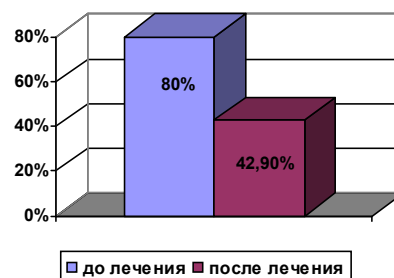
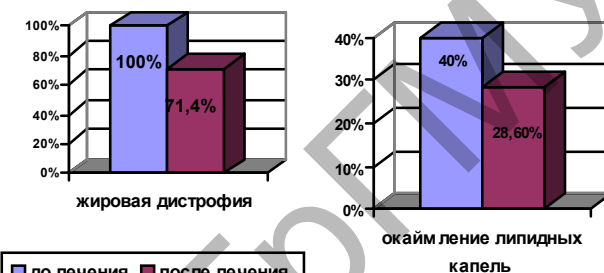


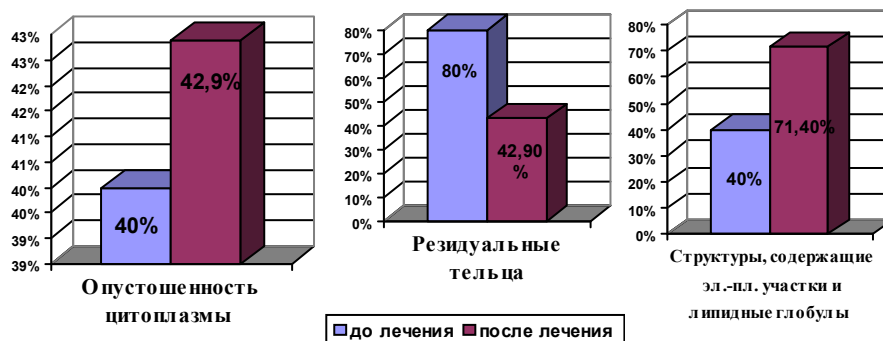
Диаграмма 1. Распределение признака частоты встречаемости гетерогенности гепатоцитов в динамике ИФТ в группе ПО



Диаграммы 2 и 3. Распределение частоты встречаемости признака жировой дистрофии и окаймления липидных капель по периферии в динамике ИФТ в группе ПО

были изменения гепатоцитов, характеризующиеся частичной «опустошенностью» цитоплазмы и снижением содержания гликогена в сочетании с неизменными ядрами. Такой признак рассматривается как «превентивное клеточное торможение», носящее защитный характер, либо как период «санации» гепатоцитов от деструктивных органелл с последующим восстановлением ультраструктурной организации [4]. Как подтверждение данного предположения, «опустошенность» цитоплазмы сочеталась с выявлением в ней вторичных образований. Данные о частоте и характере этих изменений в гепатоцитах в динамике ИФТ у больных ХГС представлены на диаграмме 4, 5, 6.

Как видно из диаграмм 4, 5, 6, в группе ПО до начала ИФТ численность гепатоцитов с наличием «опустошенности» цитоплазмы составляла 40%. После проведенного лечения ИФН существенно изменения в данном показателе не произошло (42,9%). Резидуальные тельца наблюдались значительно реже (42,9%), в цитоплазме гепатоцитов увеличилось количество структур, содержащих



Диаграммы 4, 5, 6. Распределение частоты встречаемости «опустошенности» цитоплазмы гепатоцитов, признака наличия вторичных образований в цитоплазме гепатоцитов в динамике ИФТ в группе ПО

электронно-плотные участки и липидные глобулы с 40% до 71,4%.

Для морфофункциональной оценки гепатоцитов представляется важным определение состояния синусоидов, которые являются структурными компонентами микроциркуляторного русла печени и определяют интенсивность гематотканевого обмена. Данные представлены на диаграммах 7, 8, 9.

Как видно из диаграмм 7, 8, 9, у больных с ПО до начала ИФТ «закупорка» просветов синусоидных капилляров наблюдалась в 60% случаев. В синусоидах определялись клеточный детрит, единичные вакуоли, эритроциты, лимфоциты, гранулярные лейкоциты, липидные капли. Встречались звездчатые клетки Купфера. Пространства Диссе были умеренно расширены, в них со стороны гепатоцитов внедрялось значительное количество удлинённых микроворсинок. После проведенного курса лечения возросло число пациентов, у которых степень выраженности «закупорки» синусоидов увеличилась (71,4%).

Характерным признаком при HCV-инфекции являлось усиленное формирование крупных пучков коллагеновых волокон в перикапиллярном пространстве. Наблюдалась тенденция к снижению коллагенизации перикапиллярных пространств: до начала ИФТ признак наблюдался в 60% случаев, после проведенной ИФТ – в 42,9% в динамике ИФТ в группе ПО.

В связи с этим было интересно проанализировать частоту встречаемости липоцитов – клеток продуцентов коллагеновых волокон – в динамике ИФТ. Как видно из диаграммы, в группе ПО до начала ИФТ липоциты встречались в 60% случаев. Чаще содержали мелкие и немногочисленные липидные капли, однако встречались клетки, в цитоплазме которых наблюдались и крупные жировые включения. После проведенной ИФТ количество липоцитов существенно не изменилось, однако в их цитоплазме уменьшилось число крупных капель, увеличилось число гетерогенных липоцитов с содержанием как мелких, так и крупных жировых включений.

Выводы

1. Вирус гепатита С вызывает в клетках печени комплекс стереотипных структурных изменений: мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов с ранней деструкцией липидных капель и формированием материала повышенной электронной плотности по периферии; преобладание гепатоцитов с обратимой редукцией цитоплазматических органелл, визуальной картиной «опустошенности» клеток и наличием в цитоплазме вторичных обра-

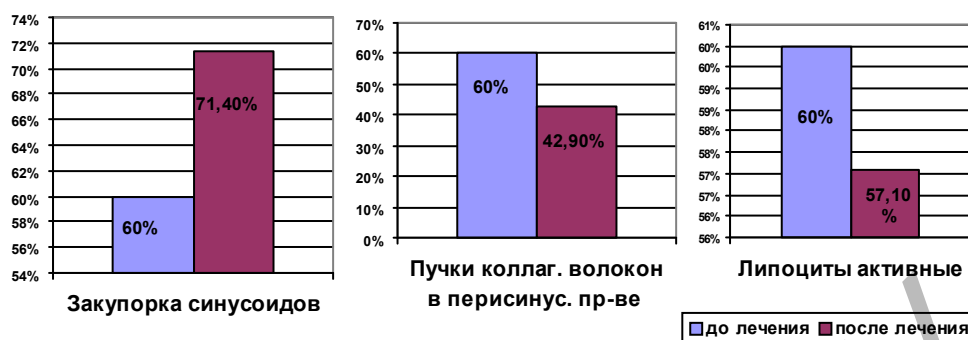


Диаграмма 7, 8, 9. Распределение частоты встречаемости признаков закупорки синусоидов, формирования пучков коллагеновых волокон в перисинусоидальном пространстве, встречаемости липоцитов в динамике ИФТ в группе ПО

зований; гиперплазия пучков коллагеновых волокон в перикапиллярном пространстве; увеличение количества липоцитов; вирусоподобных частиц, диаметром около 50 нм, умеренной электронной плотности, связанных с мембранными структурами.

2. Изменения показателей ультраструктуры гепатоцитов при ХГС более информативны, чем данные световой микроскопии, так как более точно отражают изменения внутриклеточных компонентов, функционально и структурно ответственных за внутриклеточный метаболизм, рецепторные взаимоотношения между гепатоцитом, его органеллами и вирусом С.

3. У больных ХГС с ПО на ИФТ имеет место изменение метаболической активности гепатоцитов: сохраняются признаки незавершенности патологического процесса в печени в виде изменений ультраструктуры гепатоцитов: гетерогенность гепатоцитов – 42,9%, жировая дистрофия различной степени выраженности – 71,4% с формированием материала повышенной электронной плотности по периферии липидных капель – 28,6%, «опустошенность» цитоплазмы – 42,9%, наличие вторичных образований в цитоплазме (резидуальные тельца – 42,9%, структуры, содержащие электронно-плотные участки и липидные глобулы 71,4%), «закупорка» синусоидов – 71,4%, гиперплазия пучков коллагеновых волокон в перикапиллярных пространствах в умеренном и большом количестве – 42,9%, наличие активных липоцитов – 57,1%.

Литература

- Змушко, Е.И. Вирусный гепатит / Е.И. Змушко, Е.С. Белозеров, Е.А. Ионниди. - Москва, 2002. - 157 с.
- Лукашик, С.П. Патоиммуноморфогенез первичнохронического гепатита С / С.П. Лукашик, В.М. Цыркунов, Р.И. Кравчук // Инфекционные болезни. - 2006. - Т. 4. - № 2. - С. 10 - 16.
- Серов, В.В. Морфологическая диагностика заболеваний печени / В.В. Серов, Лапиш К. - М.: «Медицина», 1989. - 337с.
- Ультраструктурные реакции клеточных популяций печени при действии РНК- и ДНК-геномных вирусов гепатита В+С / Непомнящих Г.И., Толоконская Н.П., Непомнящих Л.М., Айдагулова С.В. // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. - 1999. - Т.128. - №7. - С.101-105.
- Цыбин, А.К. Структура инфекционной заболеваемости в Беларуси в 2003 г. / А.К. Цыбин, А.А. Астапов, И.А. Карпов // Здоровоохранение, 2004.-№ 12.- С.3 - 9.
- Хронический вирусный гепатит / Под. ред. В.В. Серова, З.Г. Апросиной. - М.: Медицина, 2002. - 384 с.
- Desmet, J.G. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging / J.G. Desmet, M. Gerber, J.H. Hoofnagel // Hepatology, 1994. -Vol. 19. - P. 1513-1520.

Поступила 30.01.07