

КЛИНИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ ПЕЧЕНИ: НЕКРОЗЫ

Цыркунов В. М. (tvm111@mail.ru), Прокопчик Н. И. (prokopni@mail.ru),
Андреев В. П. (vpandreev@mail.ru), Кравчук Р. И. (cnil@grsmu.by)

УО «Гродненский государственный медицинский университет», Гродно, Беларусь

Введение. Объективное морфологическое заключение о наличии повреждений в печени может выдать только подготовленный клинический морфолог, который в своей работе использует существующие международные критерии оценки наиболее характерных изменений в печени, включая характеристику некрозов.

Цель – представить морфологическую характеристику некрозов в печени по данным прижизненной биопсии печени при хронических диффузных поражениях различной этиологии.

Материал и методы. Биоптаты печени были получены путем проведения аспирационной биопсии печени у пациентов с хроническими вирусными, алкогольными, токсическими и метаболическими поражениями печени, от которых имелось письменное информированное согласие. Использованы методы световой, включая полутонкие срезы и электронной микроскопии.

Результаты. На микрофотографиях представлены наиболее характерные представители (виды) некрозов – коагуляционный и колликвационный, описания и изображения изменениями клеточного ядра (кариопикноз, кариорексис, кариолизис) и цитоплазмы (коагуляция и лизис цитоплазматических белков, их распад с образованием детрита и цитолизом) гепатоцита. Подробно представлены характеристики некрозов, соответствующих международной морфологической классификации: В зависимости от площади распространения некрозов, локализации их в дольке печени и степени выраженности различают следующие варианты некрозов гепатоцитов: моноцеллюлярный; фокальный (пятнистый); ступенчатый; зональный; ацинарный; мостовидный (порто-портальный, порто-центральный, центр-центральный); субмассивный; массивный. Представлены основные критерии полуколичественной оценки некрозов, применяемых в клинической практике разных стран.

Выводы. Прижизненная морфологическая диагностика позволяет установить стадию развития, характер (вид) и преимущественную локализацию некроза, предположить его этиологию, прогнозировать течение и исход поражения печени. Существенным фактором, повышающим качество диагностики, является одновременное морфологическое исследование одного биоптата методами световой и электронной микроскопии.

Ключевые слова: печень, морфология, некрозы, визуализация.

Введение

Некроз – одна из форм гибели клетки (апоптоз, некроз, некроптоз, аутофагия и ороговение) в результате воздействия на неё повреждающего этиологического фактора [1, 2]. Один или сочетание нескольких факторов приводят к морфологическим изменениям в клетках, которые предшествуют некрозу и обозначаются отдельным морфологическим термином – дистрофия [3]. Таким образом, «некроз» представляет синоним термина «гибель клетки от повреждения».

Морфологические проявления некроза – это результат денатурации внутриклеточных белков и ферментативного переваривания поврежденной клетки лизосомными ферментами. Погибающие клетки не в состоянии сохранять целостность своих мембран, в результате их содержимое проникает наружу, вызывая воспалительный процесс в окружающей ткани. Ферменты, переваривающие некротизированную клетку, образуются из лизосом погибающих клеток и лизосом лейкоцитов, участвующих в воспалительной реакции [4]. Отличием апоптоза от некроза является распад клетки на фрагменты (апоптозные тельца) при сохранении плазматической мембраны, изменение которой привлекает к себе звездчатые клетки, клетки Купфера, резидентные макрофаги печени, в которых ядерные фрагменты расщепляются лизосомальными ферментами, не выделяясь наружу и не вызывая

воспалительной реакции в окружающей ткани [5, 6, 7].

При построении большинства активно применяемых в настоящее время клинических классификаций в диагностике хронических поражений печени разной этиологии (вирусной, алкогольной, токсической, метаболической и др.) для описания некроза используется оценка характера, локализации, степени выраженности и других особенностей процесса [8-14]. И хотя уважаемые специалисты, разработавшие свои классификации, критикуют друг друга в вопросах «все ли учтено» при оценке морфологических изменений, их заслугой, безусловно, является то, что любой подготовленный клинический морфолог сможет успешно провести комплексную оценку повреждения в печени по наличию некрозов, инфльтрации и других признаков активности воспаления по предложенным авторами критериям.

Основные затруднения, возникающие при проведении морфологической диагностики поражений печени у практикующего морфолога, связаны с недостаточным опытом и наличием особенностей проведения исследований прижизненных биоптатов печени.

Цель исследования – представить морфологическую характеристику некрозов в печени по данным прижизненной биопсии печени при хронических диффузных поражениях разной этиологии.

Материал и методы

Биоптаты печени были получены путем проведения аспирационной биопсии печени у пациентов с хроническими вирусными, алкогольными, токсическими и метаболическими 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, 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 фиксации: вначале – по методике Sato Taizan [15]; затем образцы ткани в течение 1 часа дополнительно фиксировали в 1% осмиевом фиксаторе, приготовленном на 0,1 М фосфатном буфере Зёрнсена рН 7,4. Для лучшего выявления внутриклеточных структур и межклеточного вещества на полутонких срезах в 1% четырехокись осмия добавляли дихромат калия ($K_2Cr_2O_7$) или кристаллы хромового ангидрида (1 мг/мл). После дегидратации образцов в серии спиртовых растворов возрастающей концентрации и ацетоне они помещались в преполимеризованную смесь бутилового метакрилата и стирола и полимеризовались при 55°C. Полутонкие срезы (толщиной 1 мкм) последовательно окрашивали азури II, основным фуксином. Микрофотографии получали с использованием цифровой видеокамеры (Leica FC 320, Германия).

Электронно-микроскопическое исследование проводили в биоптатах печени (0,5×1,0 мм), фиксированных 1% раствором четырехокиси осмия на 0,1 М буфере Миллонига, рН 7,4, при +4°C в течение двух часов [16]. После дегидратации в спиртах восходящей концентрации и ацетоне образцы заливали в аралдит [17,18]. 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 [19] и цитратом свинца по E. S. Reynolds [20]. Препараты изучали в электронном микроскопе JEM-1011 (JEOL, Япония) при увеличениях 10 000-60 000 при ускоряющем напряжении 80 кВт. Для получения снимков использовался комплекс из цифровой камеры Olympus Mega View III (Германия) и программы для обработки изображений iTEM (Olympus, Германия).

Результаты и обсуждение

Существует множество классификаций некрозов, хотя в клинической практике учитываются не все морфологические критерии, харак-

теризующие их особенности в печени [8-14].

В клинической морфологии печени наиболее характерными представителями (видами) некрозов являются коагуляционный и колликвационный. Инфаркты в печени встречаются относительно редко, что связано с двойным кровоснабжением органа.

Коагуляционный некроз (КГН) наблюдается в гепатоцитах, богатых белком. Его развитие связывают с проникновением в ткань ионов кальция и активацией ферментов. При этом виде некроза структура мертвой ткани сохраняется в течение нескольких суток, что связано, возможно, с денатурацией структурных белков, в результате чего наступает блокирование ферментов, осуществляющих протеолиз погибшей клетки. В конечном итоге некротизированная клетка элиминируется лейкоцитами инфильтрата путем фагоцитоза. КГН гепатоцитов может быть фокальным (частичным или парциальным) и тотальным (рис. 1, 2).

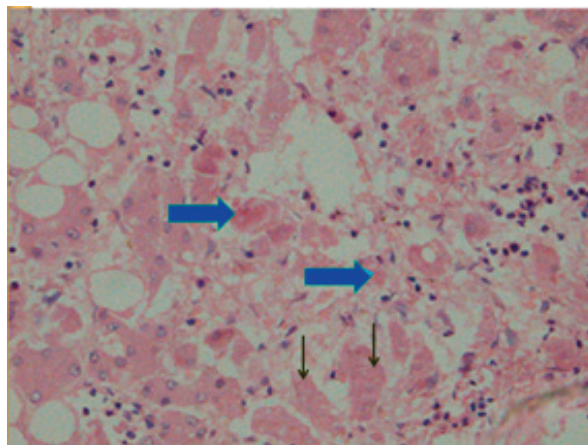


Рисунок 1. – Гиалиново-капельная дистрофия гепатоцитов с исходом в КГН при остром вирусном гепатите: фокальный некроз с образованием телец Каунсильмена (синие стрелки); тотальный некроз (черные стрелки).

Окраска гематоксилином и эозином. ×400

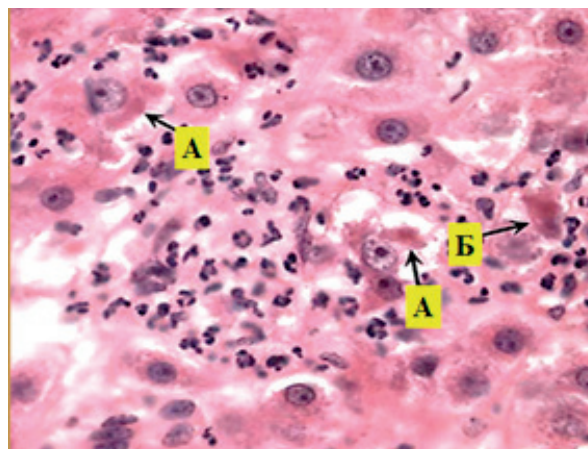


Рисунок 2. – Гиалиново-капельная дистрофия гепатоцитов с исходом в КГН при алкогольном гепатите:

А – фокальный некроз с образованием телец Маллори;

Б – тотальный некроз гепатоцита.

Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Развитию КГН предшествует гиалиново-капельная дистрофия гепатоцитов (рис. 1, 2, 7). Цитоплазма гепатоцитов в таких случаях интенсивно окрашивается кислыми красителями. По этой причине раньше такие изменения называли «ацидофильной дегенерацией». В основе ее развития лежит глубокая денатурация белков цитоплазмы или резорбция грубодисперсных (аномальных) белков с последующей инфильтрацией ими тела клетки и разрушением ее ультраструктур (рис. 3). Наряду с гиалиново-капельной дистрофией, или в исходе ее, при гепатитах и циррозе печени, особенно алкогольных, в отдельных гепатоцитах накапливаются цитокератины промежуточных филаментов, такие как цитокератин 8 и 18 в комплексе с такими белками, как убиквитин. При микроскопическом исследовании эти включения имеют характерную гранулярную или агранулярную структуру и известны как алкогольный гиалин, или тельца Маллори (рис. 2, 3).

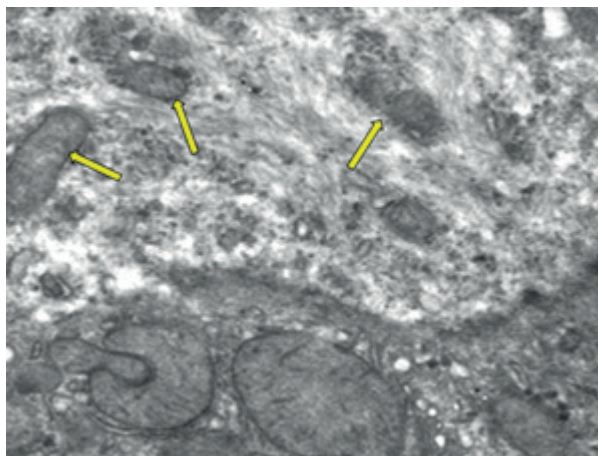


Рисунок 3. – Деструкция митохондрий (желтые стрелки) гепатоцита в зоне фибриллярного алкогольного гиалина. Электронограмма. $\times 20\ 000$. Масштабный отрезок равен 1 мкм

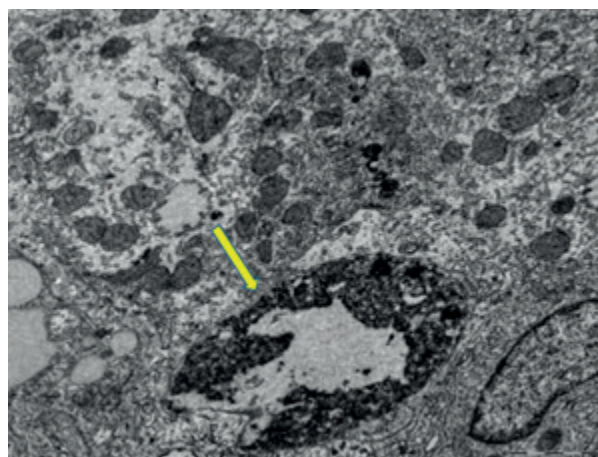


Рисунок 4. – Тельца Каунсильмена (стрелка), в котором видны тесно расположенные сморщенные органеллы клеток и остатки ядерного хроматина. Электронограмма. $\times 10\ 000$. Масштабный отрезок равен 2 мкм

В результате фокального КГН гепатоцитов, а также апоптоза, могут образоваться тельца Каунсильмена (рис. 4-7), имеющие вид четко отграниченных округлых образований с гомогенной эозинофильной цитоплазмой, в которой отсутствует ядро или видны его фрагменты. Локализуются тельца в печеночных балках или в просвете синусоидов, где могут быть фагоцитированы.

Нередко тельца окружаются звездчатыми клетками Ито и цитотоксическими лимфоцитами (ЦТЛ) (рис. 6) [21], что обозначается термином «саттелиоз» и наблюдается при гепатите В и С (рис. 5 и 6).

При электронной микроскопии и на полутонких срезах, окрашенных азур II-основным фуксином, в тельце Каунсильмена видны тесно расположенные сморщенные органеллы клеток («мумифицированные гепатоциты») и остатки ядерного хроматина (рис. 4 и 6).

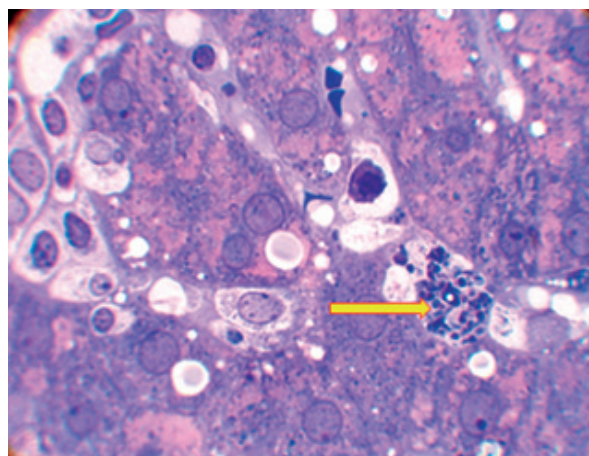


Рисунок 5. – Тотальный некроз гепатоцита – ацидофильное тельце Каунсильмена (желтая стрелка). Полутонкий срез, окраска азур II-основной фуксин. $\times 1000$

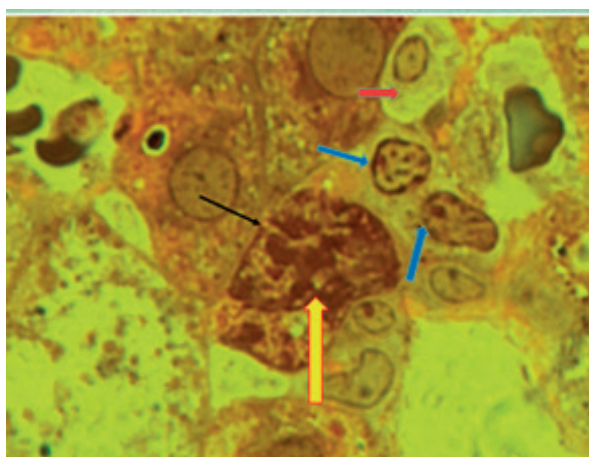


Рисунок 6. – Тотальный некроз гепатоцита – саттелиоз: тельце Каунсильмена (желтая стрелка), клетки Ито (синие стрелки), ЦТЛ (красная стрелка). Полутонкий срез, окраска азур II-основной фуксин. $\times 1000$

В очагах некроза наблюдается коллапс ретикулярной стромы печени, лучше выявляемый при импрегнировании препаратов серебром, окраске орсеином и пикрофуксином по Ван-Гизону. По периферии очага некроза развиваются реактивные и репаративные процессы: миграция лейкоцитов из сосудов, скопление немногочисленных макрофагов, пролиферация мезенхимально-клеточных элементов, регенерация гепатоцитов, фиброз.

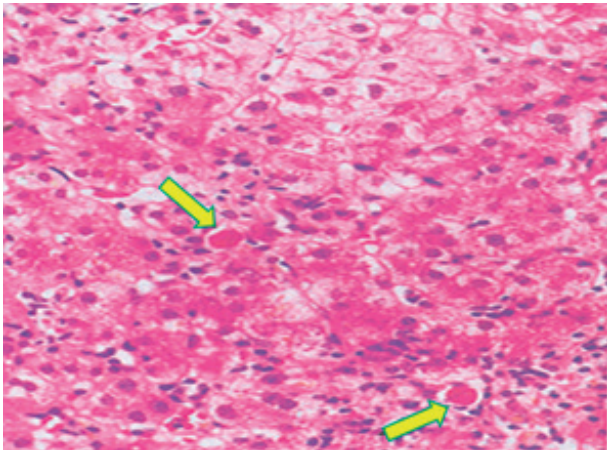


Рисунок 7. – Гиалиново-капельная дистрофия с исходом в субтотальный КГН гепатоцитов; тельца Каунсильмена (стрелки).
Окраска гематоксилином и эозином. ×200

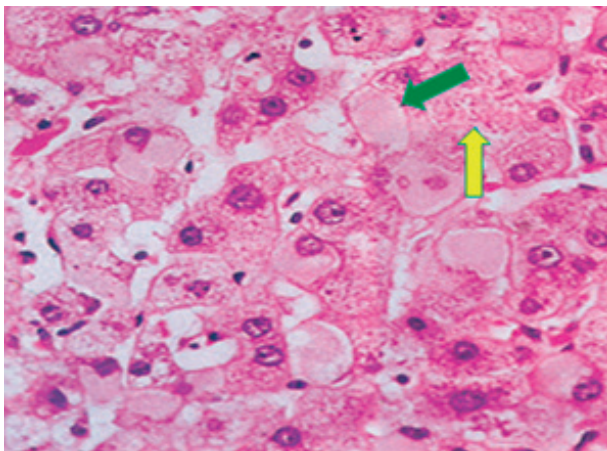


Рисунок 8. – Гидропическая и баллонная (зеленая стрелка) дистрофия гепатоцитов с исходом в ККН (желтая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Колликвационный некроз (ККН), или цитоллиз. Чаще встречается в гепатоцитах, бедных белком и богатых протеазами. При ККН происходит осмотический отёк цитоплазмы, набухание и разрушение клеток. ККН предшествует гидропическая дистрофия гепатоцитов с исходом в баллонную. При этом клетки увеличиваются в размерах, плохо воспринимают красители, не содержат ядро и кажутся оптически пустыми (рис. 8, 9, 10).

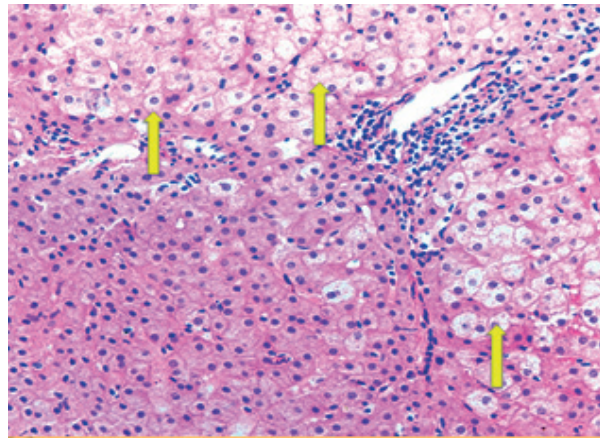


Рисунок 9. – Очаговая гидропическая дистрофия гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. ×200

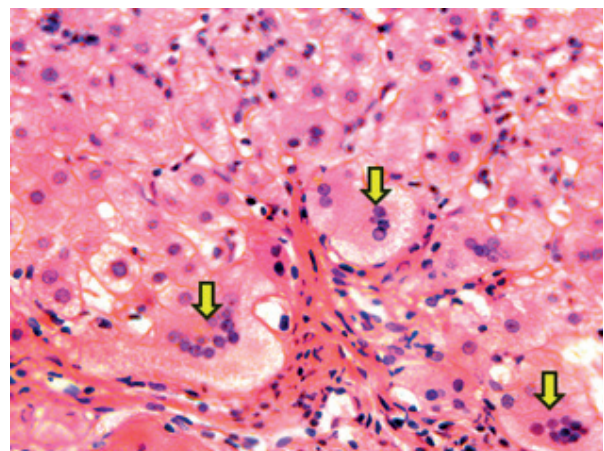


Рисунок 10. – Гидропическая дистрофия регенерирующих гепатоцитов (стрелки) в ложной дольке.
Окраска гематоксилином и эозином. ×400

Клетки, подвергшиеся ККН и КГН, редко видны, так как некротизированные гепатоциты быстро разрушаются макрофагами.

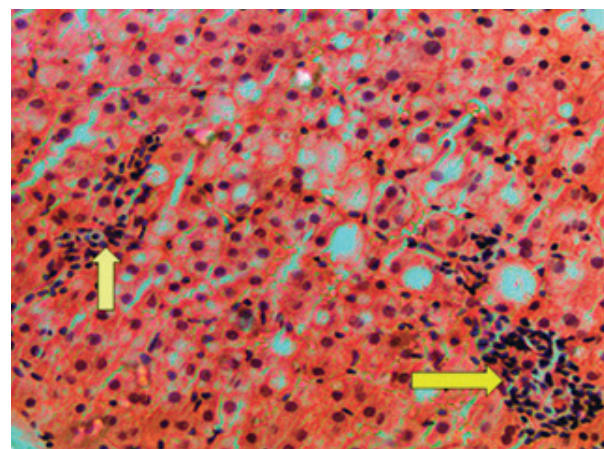


Рисунок 11. – Инфильтрат на месте погибших гепатоцитов (стрелки). Окраска гематоксилином и эозином. ×100

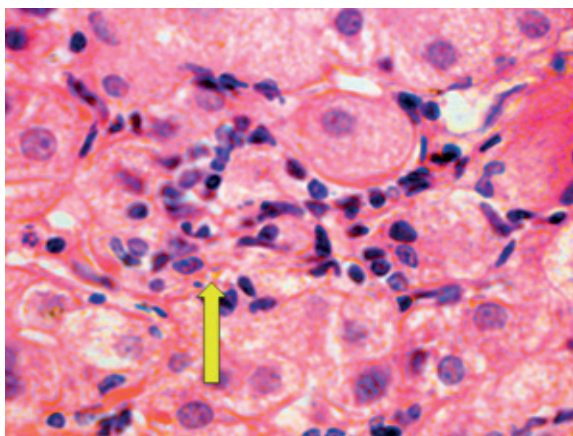


Рисунок 12. – Воспалительный инфильтрат на месте погибшего гепатоцита.

Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

Таким образом, если в печеночной дольке вместо гепатоцитов определяется воспалительный клеточный инфильтрат, но не видны некротизированные клетки, это свидетельствует о том, что гепатоциты ранее подверглись некрозу (рис. 11 и 12). Скопления макрофагов могут иметь вид гранулем (рис. 13 и 14).

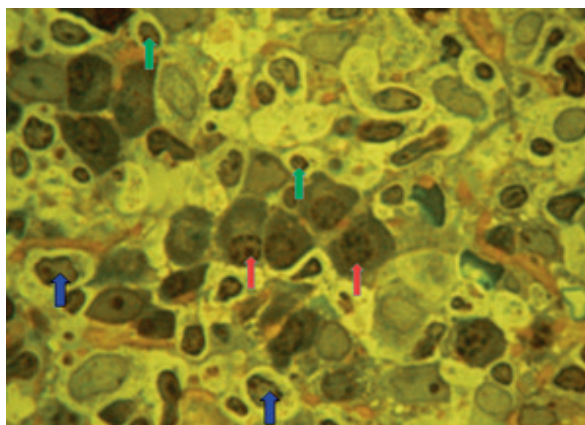


Рисунок 13. – Фрагмент гранулемы, в составе которой плазматические клетки (красные стрелки), лимфоциты (зеленые стрелки) и макрофаги (синие стрелки).

Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

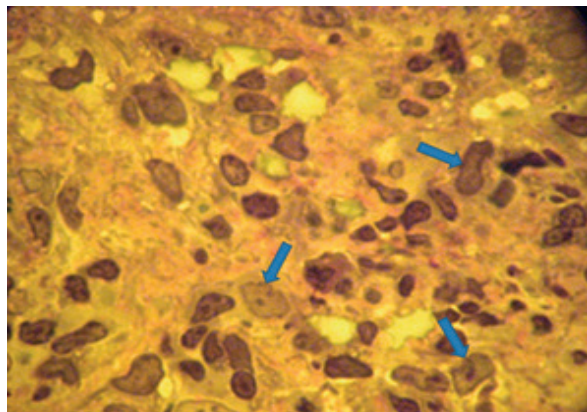


Рисунок 14. – Фрагмент гранулемы пациента ХГС с макрофагами (синие стрелки) и многочисленными лимфоцитами в стадии замещения соединительной тканью. Полутонкий срез, окраска азур II-основной фуксин. $\times 1000$

Морфологические признаки некрозов представлены изменением клеточного ядра (кариопикноз, кариорексис, кариолизис) и цитоплазмы (коагуляция и лизис цитоплазматических белков, их распад с образованием детрита и цитоллизом) гепатоцита.

Кариопикноз проявляется интенсивным окрашиванием ядра основными красителями, кариорексис – формированием глыбок, состоящих из нуклеиновых кислот с дальнейшим расщеплением их на фосфорную кислоту, пентозы, пуриновые и пиримидиновые основания, не воспринимающие красители. В цитоплазме понижается содержание гликогена, рибонуклеопротеинов, активность оксидоредуктаз, повышается активность кислой фосфатазы, – наступает кариолизис (рис. 15 и 16).

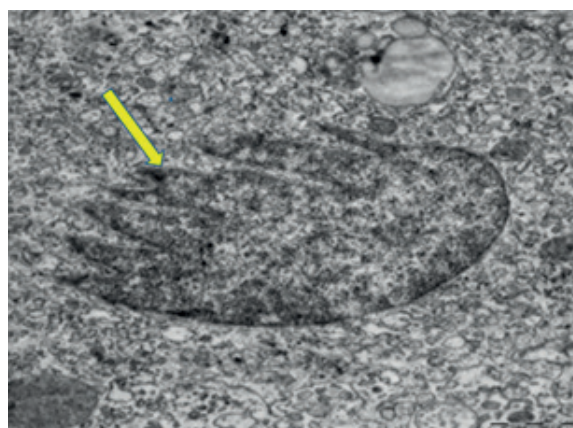


Рисунок 15. – Кариорексис (глубокие инвагинации кариолеммы с фрагментацией ядра). Редукция митохондрий и ГрЭС с увеличением количества расширенных профилей ГлЭС. Электронограмма.

$\times 20\ 000$. Масштабный отрезок равен 1 мкм

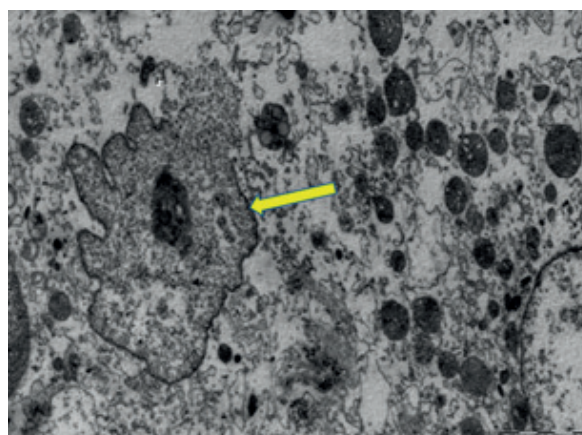


Рисунок 16. – Кариорексис с переходом в кариолизис. Лизис ультраструктур, конформационные изменения митохондрий. Электронограмма. $\times 10\ 000$.

Масштабный отрезок равен 2 мкм

В зависимости от площади распространения некрозов, локализации их в дольке печени и степени выраженности различают следующие варианты некрозов гепатоцитов:

- моноцеллюлярный;
- фокальный (пятнистый);
- ступенчатый;
- зональный;
- ацинарный;
- мостовидный (порто-портальный, порто-центральный, центрo-центральный);
- субмассивный;
- массивный.

Моноцеллюлярные некрозы могут быть очаговыми и рассеянными, являются финалом баллонной дистрофии, при этом гепатоциты не выталкиваются в синусоиды, а погибают, находясь в печеночной пластинке. Подобный процесс чаще наблюдается в III зоне ацинуса (рис. 12).

Фокальный (пятнистый) некроз. Характеризуется поражением одного или нескольких соседних гепатоцитов, разбросанных в разных отделах ацинуса, очаговым скоплением макрофагов и лимфоцитов (рис. 11, 17 и 18). Встречается при острых и хронических вирусных гепатитах, циррозах печени и др.

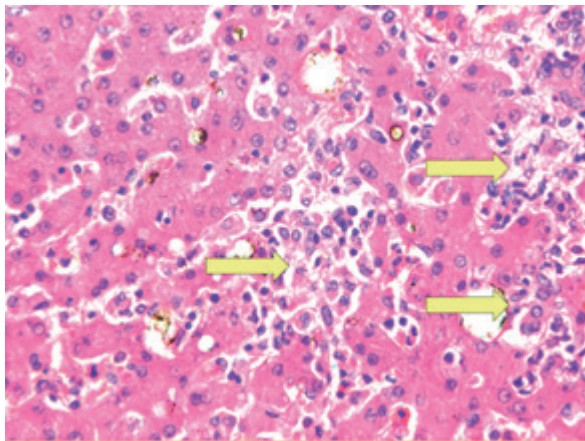


Рисунок 17. – Фокальные внутريدольковые некрозы. Окраска гематоксилином и эозином. ×100

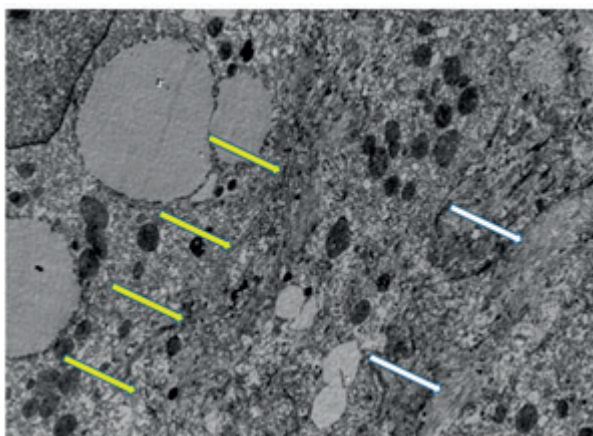


Рисунок 18. – Фокальный некроз (желтые стрелки) и фиброз (белые стрелки). Электронограмма. ×8 000

Ступенчатый некроз (СН) – некроз небольших групп гепатоцитов, расположенных в пограничной пластинке дольки (перипортальный некроз) или расположенных по периферии соединительнотканых септ (перисептальный некроз). СН часто имеют место при хронических гепатитах с выраженной активностью. В гистологических препаратах при СН, как и при моноцеллюлярных и фокальных некрозах, погибшие гепатоциты, как правило, не видны. Для распознавания СН важно не отсутствие вообще гепатоцитов в зонах, прилегающих к портальным трактам или к септам, а замещение воспалительным инфильтратом участков, где гепатоциты имелись ранее, но не подвергались некрозу (рис. 19 и 20).

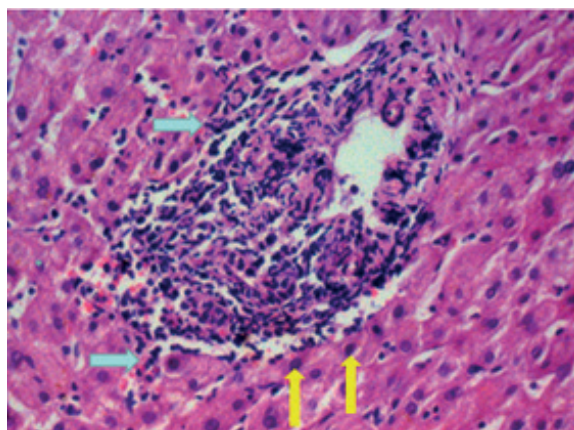


Рисунок 19. – Ступенчатые некрозы (серые стрелки); сохраненная пограничная пластинка (желтые стрелки); резко выраженная воспалительная инфильтрация портального тракта. Окраска гематоксилином и эозином. ×100

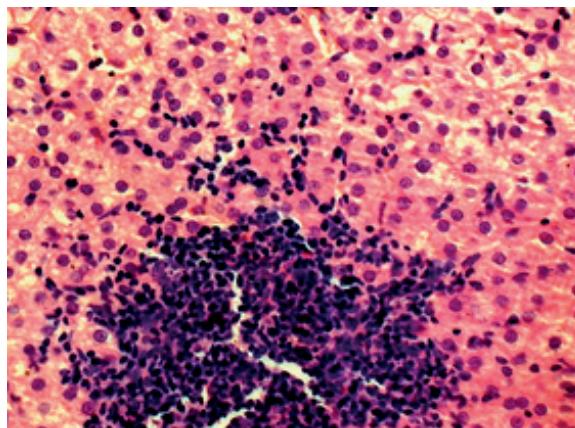


Рисунок 20. – Ступенчатые некрозы с резко выраженной лимфоидно-макрофагальной инфильтрацией и образованием лимфоидного фолликула в портальном тракте. Окраска гематоксилином и эозином. ×200

В этом участке можно увидеть «замурованные» отдельные малоизмененные гепатоциты или небольшие их группы. Чем выше активность, тем больше мононуклеарных фагоцитов контактирует с гепатоцитами. Мононуклеарные клетки могут непосредственно повреждать пе-

чечочные клетки. Развитие некрозов при хроническом гепатите с выраженной активностью объясняют клеточно-опосредованным цитотоксическим механизмом путем проникновения цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ) в гепатоцит, что называется эмperiополезом (рис. 21 и 22).

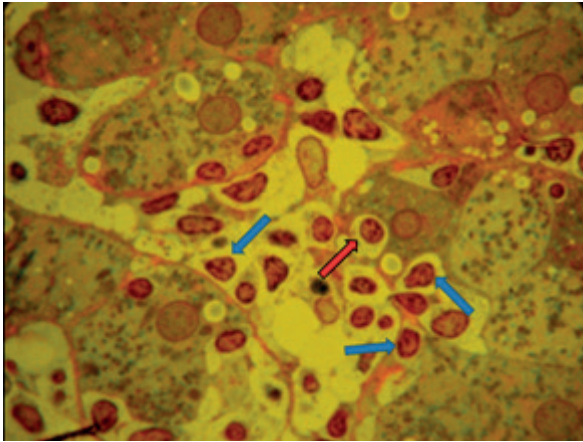


Рисунок 21. – Большое количество ЦТЛ (синие стрелки), окружающих гепатоциты (периполез), инвагирующих их и внедренных в гепатоцит (эмperiополез) (красная стрелка). Полутонкие срезы, окраска азур II-основной фуксин. ×1000

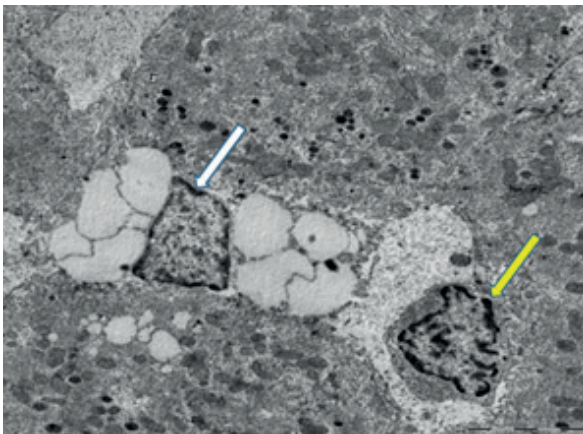


Рисунок 22. – Контакт лимфоцита (желтая стрелка) с гепатоцитом (периполез), вблизи находится клетка Ито (белая стрелка) промежуточного фенотипа. Электронограмма. ×5 000. Масштабный отрезок равен 5 мкм

ЦТЛ в гепатоците могут находиться как на периферии клетки, так и вблизи ядра. При хроническом гепатите с выраженной активностью в биоптатах печени имеется более 10 клеток с признаками агрессивного эмperiополеза в окружности шести портальных трактов, при гепатите с минимальной активностью их менее десяти. Обнаружение агрессивности эмperiополеза при хроническом гепатите имеет диагностическое значение, свидетельствует о прогрессировании заболевания.

Происхождение зональных и ацинарных некрозов связано с особенностями ацинарного

строения печени. Наиболее часто некроз под воздействием самых разных причин возникает в третьей зоне ацинуса, что обусловлено особенностями микроциркуляции данной зоны, наиболее отдаленной от источников кровоснабжения. Некроз гепатоцитов этой зоны обусловлен не только прямым токсическим эффектом разных ядов и медикаментов, но и низким содержанием глутатиона, играющего важную роль в окислительно-восстановительных реакциях. Гепатоциты I зоны ацинуса повреждаются значительно реже (рис. 23 и 24).

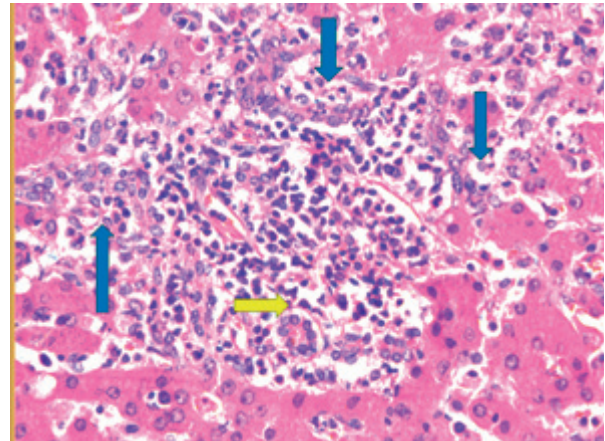


Рисунок 23. – Некроз гепатоцитов преимущественно I зоны дольки (синие стрелки); портальный тракт – желтая стрелка. Окраска гематоксилином и эозином. ×200

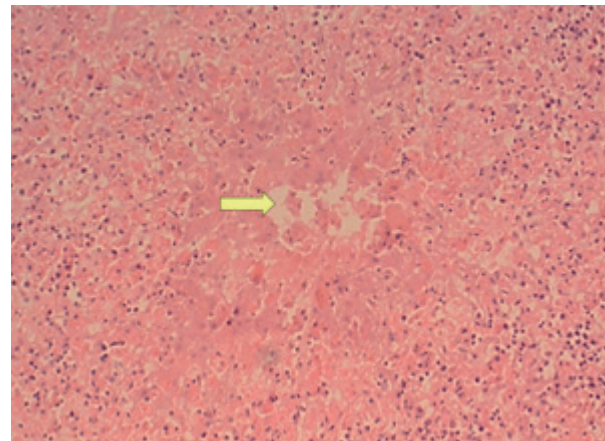


Рисунок 24. – КГН гепатоцитов преимущественно 3 зоны дольки (отравление суррогатами алкоголя); желтая стрелка – центральная вена. Окраска гематоксилином и эозином. ×50

Мостовидные некрозы (МН). Прогрессирование некротических изменений ведет к соединению разных зон ацинусов некротическими мостиками. МН придает большое значение в прогнозировании течения как острого, так и хронического гепатита. В зависимости от топографии различают следующие типы МН: центрo-центрaльные, центрo-портaльные, портo-портaльные (рис. 25 и 26). Неблагоприятным считается сочетание ступенчатых и портo-цен-

тральных некрозов. МН рассекает дольку и это способствует в дальнейшем формированию цирроза. Некроз завершается образованием септ, содержащих сосуды, которые шунтируют портальную кровь непосредственно в печеночную вену, минуя систему синусоидов. Это приводит к частичной ишемии паренхимы, что оказывает влияние на течение ее регенерации, а также приводит к тому, что портальная кровь, минуя печеночный фильтр, поступает в общий кровоток.

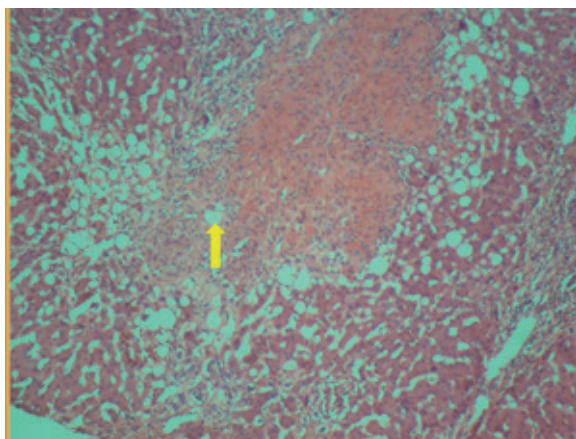


Рисунок 25. – Мостовидный центр-портальный коагуляционный некроз (казеозный); желтая стрелка – центральная вена. Окраска гематоксилином и эозином.×50

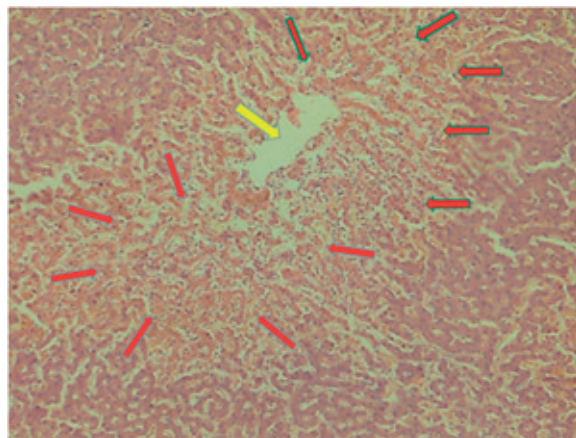


Рисунок 26. – Мостовидный центр-центральный некроз; центральная вена – желтая стрелка; большая зона некроза обозначена красными стрелками. Окраска гематоксилином и эозином.×100

Субмассивные и массивные некрозы печени характеризуются гибелью почти всех печеночных клеток в дольке с вовлечением в процесс всего или почти всего органа (рис. 27 и 28). Среди причин таких некрозов основное значение имеет воздействие токсичных веществ как экзогенного (грибы, пищевые токсины, мышьяк), так и эндогенного (эклампсия, тиреотоксикоз) происхождения.

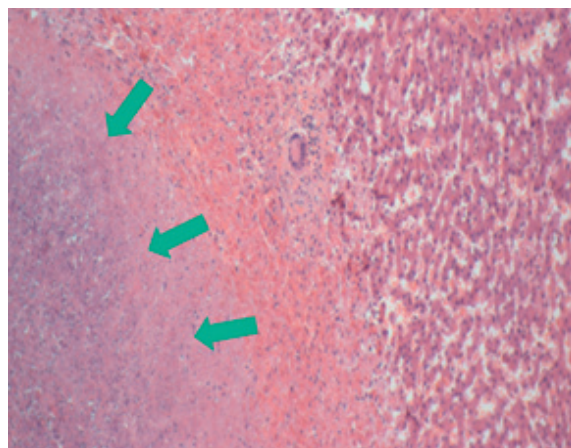


Рисунок 27. – Субмассивный коагуляционный некроз печени (стрелки) при коинфекции ВИЧ/туберкулез). Окраска гематоксилином и эозином.×200

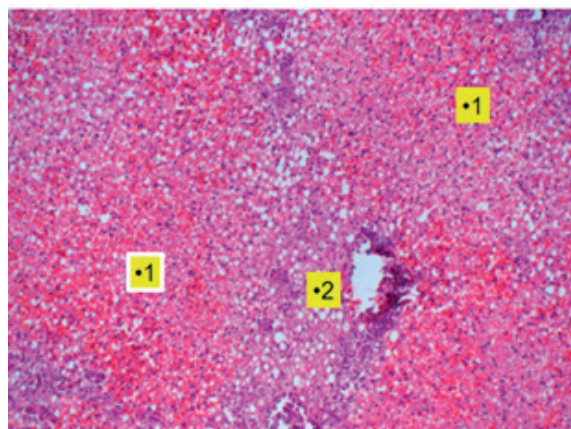


Рисунок 28. – Массивный некроз печени (отравление грибами): 1 – зона некроза с резорбцией тканевого детрита и кровоизлияниями, 2 – жировая дистрофия сохранившихся гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином.×100

Методы морфологической оценки некрозов в биоптатах печени

Существует много методов количественной оценки некрозов в печени и ни одна из них не была отклонена до сих пор, несмотря на ряд критических замечаний, предъявляемых авторами друг другу.

Оценка некрозов в биоптате печени по R.G. Knodell (1981). Количественная шкала Knodell оценивает ступенчатые и мостовидные некрозы от 1 до 10 баллов. Применяется в нашей клинике наряду с другими.

Оценка некрозов в биоптате печени по V.M. Desmet et al. (1995). От других предложенных методов отличается тем, что авторы отдельно оценивают ступенчатые и мостовидные некрозы. По существующей шкале перипортальный некроз с наличием мостовидных некрозов или без них оценивается от 0 до 10 баллов, интралобулярная дегенерация и фокальный некроз – от 0 до 4 баллов.

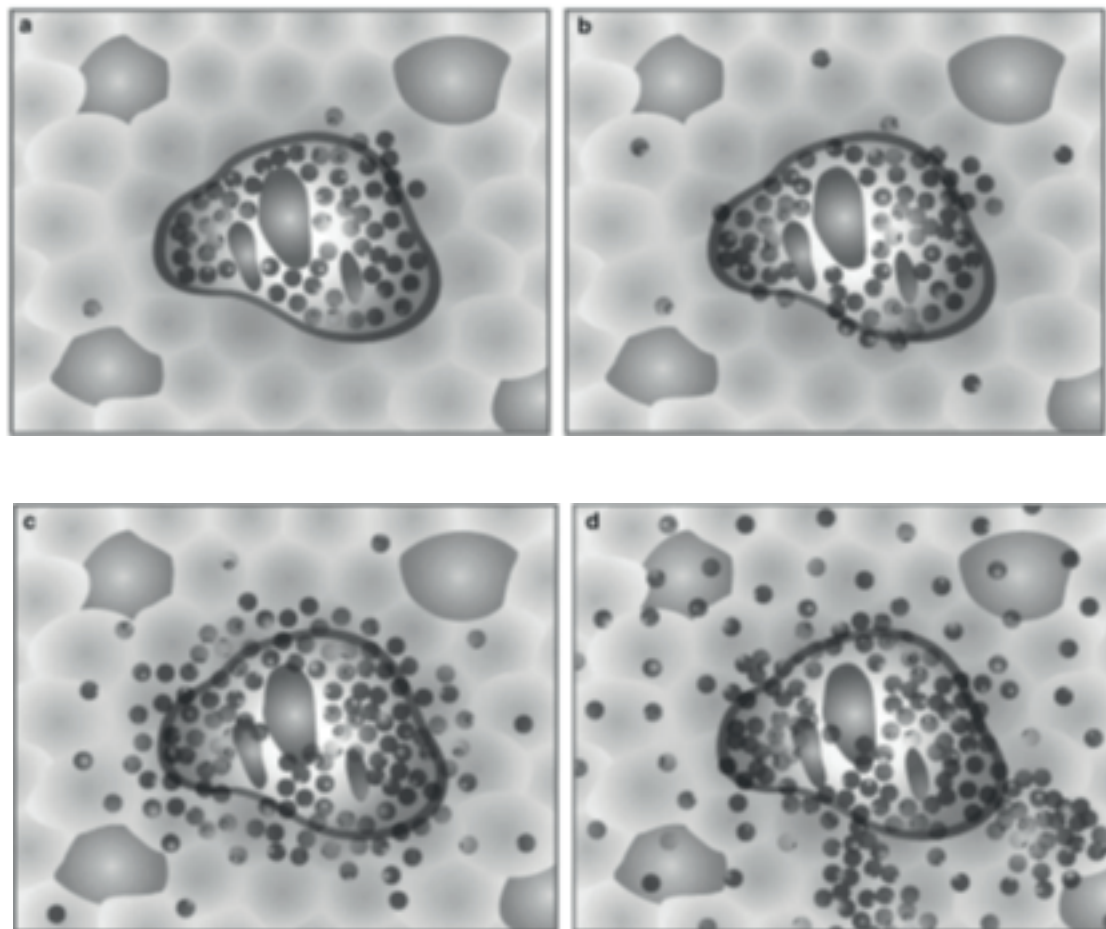


Рисунок 29. – Схемы некротических и воспалительных изменений в печени (по К. Р. Batts, J. Ludwig)

Оценка некрозов в биоптате печени по К. Ishak (1981). К. Ishak – один из авторов шкалы Knodell. Автор предложил включить в оценку некрозов более широкие вариации: пятнистые (фокальные) некрозы и апоптоз с гибелью печеночных клеток, перипортальные некрозы (контактный гепатит), простые некрозы, возникающие в результате гибели групп гепатоцитов без четкой зональной локализации или мостовидных некрозов между сосудистыми образованиями печени, а также дольковые или мультидольковые некрозы. К. Ishak и др. придерживаются точки зрения, что термин контактный гепатит (interface hepatitis) предпочтительнее, чем piecemeal necrosis, так как основной формой поражения печеночных клеток в этом процессе считается апоптоз, а не цитолитический некроз гепатоцитов.

Шкала К. Ishak для оценки воспалительных изменений в биоптате предусматривает учитывать количественную градацию некрозов в печени от 0 до 6 баллов:

1. Перипортальный некроз или перисептальный контактный гепатит (piecemeal necrosis): отсутствует (0 баллов), незначительно выраженный, фокально в нескольких портальных трактах (1), слабо выраженный фокально в большинстве

ПТ (2), умеренно выраженный, распространен вокруг менее 50% ПТ или септ (3) и значительно выраженный, распространен вокруг более 50% ПТ или септ (4 балла).

2. Сливной некроз: отсутствует (0), фокальный сливной некроз (1), некроз в 3 зоне в некоторых полях (2), некроз в 3 зоне в большинстве полей (3), некроз в 3 зоне + единичные порто-септальные некрозы, мостовидные некрозы (4), некроз в 3 зоне + множественные порто-септальные мостовидные некрозы (5), панацинарные или мультиацинарные некрозы (6 баллов).

3. Фокальные (пятнистые) цитолитические некрозы, апоптоз, фокальное воспаление (включает диффузную синусоидальную инфильтрацию): отсутствует (0) баллов), один фокус или менее на 10 полей зрения (1), от двух до четырех фокусов на 10 полей зрения (2), от 5 до 10 фокусов на 10 полей зрения (3), более чем 10 фокусов на 10 полей зрения (4 балла).

Оценка некрозов в биоптате печени по шкале МЕТАВИР. Данная шкала – результат работы группы патоморфологов, которые независимо друг от друга оценивали одни и те же образцы печени. В результате были отобраны наиболее достоверные и простые признаки для оценки степени воспалительной активности и фиброза печени.

По METAVIR для оценки активности воспаления в печени по оценке некрозов используется следующая градация PMN (piece meal necrosis) ступенчатых некрозов: PMN=0 – отсутствуют, PMN=1 – минимальные, PMN=2 – умеренно выраженные, PMN=3 – выраженные и LN (lobular necrosis) – внутридольковых некрозов: LN=0 – отсутствуют или слабо выраженные, LN=1 – умеренно выраженные, LN=2 – выраженные.

Оценка некрозов в биоптате печени по К. Batts, J. Ludwig (1995). Для упрощения оценочной шкалы авторы предложили представить ее в виде 4 диаграмм, оценивающих некротические и воспалительные изменения в биоптате печени, и 4 диаграмм, оценивающих стадию фиброза.

На рисунке 29 представлена последовательная схема некротических и воспалительных изменений в печени при хроническом гепатите.

На рисунке 29(d) представлена схема сливных некрозов в виде мостовидных некрозов, свидетельствующих о выраженной степени активности гепатита и соответствующих 4-й стадии активности. На наш взгляд, данная схема не совсем объективна для оценки морфологических изменений.

Оценка некрозов в биоптате печени по В. В. Серову. В. В. Серов и соавт. в 1996 г. предложили оригинальную систему для оценки степени активности и стадии хронизации ХГВ и ХГС. Эта система оценки широко используется в нашей клинике и позволяет оценить степень активности и стадию хронизации гепатита. В количественную оценку гистологической активности включены следующие параметры некрозов гепатоцитов: перипортальные сегментарные некрозы гепатоцитов части портальных трактов (от 1 до 4 баллов), перипортальные сегментарные некрозы всех портальных трактов (от 5 до 8 баллов), перипортальные, перисинусоидальные некрозы, вплоть до мостовидных (от 9 до 12 баллов), внутридольковые фокальные некрозы в части долек (от 1 до 4 баллов) и внутридольковые фокальные

некрозы в большинстве долек (от 5 до 8 баллов).

Существуют и другие методы полуколичественной морфологической диагностики активности воспаления в печени, включающие комплекс дополнительных молекулярно-генетических, иммуногистохимических, иммунологических и других, что, на наш взгляд, усложняет и пролонгирует процесс диагностики.

Заключение

Морфологическое исследование, проведенное с детализацией некроза как компонента воспаления, является одним из самых важных способов диагностики хронических диффузных поражений печени и должно проводиться согласно существующим критериям характеристики некрозов, приведенных в общепризнанных классификациях. На сегодняшний день для морфологической оценки и характеристики некроза печени достаточно информативных методов, преимущества которых друг перед другом незначительные. Морфологические признаки выраженности некроза позволяют установить его стадию развития, характер (вид) и преимущественную локализацию некроза – предположить его этиологию, массивность некроза – прогнозировать течение и исход поражения печени (болезни в целом). Качество диагностики при использовании перечисленных в статье методов зависит в первую очередь не от использованной методики, а от подготовки специалиста – клинического морфолога, от тесной кооперации морфолога, специализирующегося на исследовании биоптатов печени, гепатолога, осуществляющего курацию пациента, которому проведена биопсия. Существенным фактором, повышающим качество диагностики, является одновременное морфологическое исследование одного биоптата методами световой и электронной микроскопии с применением оригинальных методик фиксации полутонких срезов.

Литература

1. Струков, А. И. Патологическая анатомия : учебник / А. И. Струков, В. В. Серов ; под ред. В. С. Паукова. – 6-е изд., перераб. и доп. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 880 с.
2. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009 / G. Kroemer [et al.] // Cell death and Differentiation. – 2009. – Vol. 16 (1). – P. 3-11. – doi: 10.1038/cdd.2008.150.
3. Клиническая морфология печени: дистрофии / В. М. Цыркунов, В. П. Андреев, Н. И. Прокопчик, Р. И. Кравчук // Гепатология и гастроэнтерология. – 2017. – Т. 1, № 2. – С. 140-151.
4. Клиническая морфология печени: дисплазия, апоптоз, регенерация / В. М. Цыркунов, В. П. Андреев, Н. И. Прокопчик, Р. И. Кравчук // Гепатология и гастроэнтерология. – 2017. – Т. 1, № 1. – С. 41-52.
5. Kupffer cell engulfment of apoptotic bodies stimulates death ligand and cytokine expression / A. Canbay [et al.] // Hepatology. – 2003. – Vol. 38 (5). – P. 1188-1198.
6. Apoptotic body engulfment by a human stellate cell line is profibrogenic / A. Canbay [et al.] // Laboratory Investigation. – 2003. – Vol. 83 (5). – P. 655-663.
7. Цыркунов, В. М. HCV-инфекция : монография / В. М. Цыркунов, Н. В. Матиевская, С. П. Лукашик ; под ред. В. М. Цыркунова. – Минск : Асар, 2012. – 480 с.
8. Batts, K. P. Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting / K. P. Batts, J. Ludwig // The American Journal of Surgical Pathology. – 1995. – Vol. 19 (12). – P. 1409-1417.
9. Formulation and application of numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis / R. G. Knodell // Hepatology. – 1981. – № 1 (5). – P. 431-435.
10. Histological grading and staging of chronic hepatitis / A. Ishak [et al.] // Journal of Hepatology. – 1995. – 22 (6). – P. 696-699.
11. Классификация хронического гепатита: диагностика, определение степени тяжести и стадии течением / М. Desmet [et al.] // Российский журнал гастроэнтероло-

- гии, гепатологии, колопроктологии. – 1995. – Т. 5, № 2. – С. 38-45.
12. Ивкова, А. Н. Фиброз печени: от теории к практике / А. Н. Ивкова, И. Г. Никитин, Г. И. Сторожаков // *Лечебное дело*. – 2003. – № 1. – С. 60-70.
 13. Серов, В. В. Морфологические критерии оценки этиологии, степени активности и стадии процесса при вирусных хронических гепатитах В и С / В. В. Серов, Л. О. Севергина // *Архив патологии*. – 1996. – № 4. – С. 61-64.
 14. Scheuer, P. J. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment / P. J. Scheuer // *Journal of Hepatology*. – 1991. – Vol. 13 (3). – P. 372-374.
 15. Sato, T. An electron microscopic study of specimen-fixed for longer periods in phosphate buffered formalin / T. Sato, I. Takagi // *Journal of Electron Microscopy*. – 1982. – Vol. 31, № 4. – P. 423-428. – <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jmicro.a050388>.
 16. Glauert, R. H. Araldite as embedding medium for electron microscopy / R. H. Glauert // *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*. – 1958. – Vol. 4. – P. 409-414.
 17. Millonig, G. A. Advantages of a phosphate buffer for osmium tetroxide solutions in fixation / G. A. Millonig // *Journal of Applied Physics*. – 1961. – Vol. 32. – P. 1637-1643.
 18. Watson, M. L. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals / M. L. Watson // *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*. – 1958. – Vol. 4. – P. 475-478.
 19. Glauert, A. M. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens / A. M. Glauert // *Practical Methods in Electron Microscopy* / A. M. Glauert [ed.]. – New York: American Elsevier, 1975. – Vol. 3, part 1. – 207 p.
 20. Reynolds, E. S. The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy / E. S. Reynolds // *The Journal of Cell Biology*. – 1963. – Vol. 17. – P. 208-212.
 21. Клиническая цитология печени: звездчатые клетки Ито / В. М. Цыркунов, В. П. Андреев, Р. И. Кравчук, И. А. Кондратович // *Журнал Гродненского государственного медицинского университета*. – 2016. – № 4 (56). – С. 90-99.
 5. Canbay A, Feldstein AE, Higuchi H, Werneburg N, Grambihler A, Bronk SF, Gores GJ. Kupffer cell engulfment of apoptotic bodies stimulates death ligand and cytokine expression. *Hepatology*. 2003;38(5):1188-1198.
 6. Canbay, A. Taimr P, Torok N, Higuchi H, Friedman S, Gores GJ. Apoptotic body engulfment by a human stellate cell line is profibrogenic. *Laboratory Investigation*. 2003;83(5):655-663.
 7. Tsyrukunov VM, Matsiyuskaya NV, Lukashyk SP. HCV-инфекция [HCV-infection]. Minsk: Asar; 2012. 480 p. (Russian).
 8. Batts KP, Ludwig J. Chronic hepatitis. An update on terminology and reporting. *The American Journal of Surgical Pathology*. 1995;19(12):1409-1417.
 9. Knodell RG, Ishak KG, Black WC, Chen TS, Craig R, Kaplowitz N, Kiernan TW, Wollman J. Formulation and application of numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology*. 1981;1(5):431-435.
 10. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween RN, Phillips MJ, Portmann BG, Poulsen H, Scheuer PJ, Schmid M, Thaler H. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *Journal of Hepatology*. 1995;22(6):696-699.
 11. Desmet VM, Gerber J, Hoofnagle JH, Manus M, Schneuer P. Klassifikacija hronicheskogo gepatita: diagnostika, opredelenie stepeni tjazhesti i stadii techenijam [Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging] *Rossijskij zhurnal gastrojenterologii, gepatologii, koloproktologii* [Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology]. 1995;5(2):38-45. (Russian).
 12. Ivkova AN, Nikitin IG, Storozhakov GI. Fibroz pecheni: ot teorii k praktike. *Lechebnoe delo*. 2003;1:60-70. (Russian).
 13. Serov VV, Severgina LO. Morfologicheskie kriterii ocenki jetiologii, stepeni aktivnosti i stadii processa pri virusnyh hronicheskikh gepatitah V i S [Morphological criteria for the assessment of etiology, degree of activity and stage of the disease in viral chronic hepatitis B and C]. *Arhiv patologii* [Archive of Pathology]. 1996;58(4):61-64. (Russian).
 14. Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *Journal of Hepatology*. 1991;13(3):372-374.
 15. Sato T, Takagi I. An electron microscopic study of specimen-fixed for longer periods in phosphate buffered formalin. *Journal of Electron Microscopy*. 1982;31(4):423-428. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jmicro.a050388>.
 16. Glauert AM, Glauert RH. Araldite as embedding medium for electron microscopy. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*. 1958;4(2):409-414.
 17. Millonig GA. Advantages of a phosphate buffer for osmium tetroxide solutions in fixation. *Journal of Applied Physics*. 1961;32:1637-1643.
 18. Watson ML. Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *Journal of Biophysical and Biochemical Cytology*. 1958;4:475-478.
 19. Glauert AM, editor. *Practical Methods in Electron Microscopy*. Vol. 3, Pt. 1, Glauert AM. Fixation, dehydration and embedding of biological specimens. New York: American Elsevier; 1975. 207 p.
 20. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an

References

1. Strukov AI, Serov VV. *Patologicheskaya anatomiya: uchebnik* [Pathological anatomy: a textbook]. Paukova VS, editor. 6th ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2015. 880 p. (Russian).
2. Kroemer G, Galluzzi L, Vandenabeele P, Abrams J, Alnemri ES, Baehrecke EH, Blagosklonny MV, El-Deiry WS, Golstein P, Green DR, Hengartner M, Knight RA, Kumar S, Lipton SA, Malorni W, Nuñez G, Peter ME, Tschopp J, Yuan J, Piacentini M, Zhivotovsky B, Melino G. Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009. *Cell death and Differentiation*. 2009;16(1):3-11. doi: 10.1038/cdd.2008.150.
3. Tsyrukunov VM, Andreev VP, Prokopchik NI, Kravchuk RI. Klinicheskaja morfologija pecheni: distrofii [Clinical morphology of the liver: disropfies]. *Gepatologija i gastrojenterologija* [Hepatology and Gastroenterology]. 2017;1(2): 140-151. (Russian).
4. Tsyrukunov VM, Andreev VP, Prokopchik NI, Kravchuk RI. Klinicheskaja morfologija pecheni: displazija, apoptoz, regeneracija [Clinical morphology of the liver: displasia, apoptosis, regeneration]. *Gepatologija i gastrojenterologija* [Hepatology and Gastroenterology]. 2017;1(1):41-52. (Russian).

- electronopaque stain in electron microscopy. *The Journal of Cell Biology*. 1963;17:208-212.
21. Tsyrkunov VM, Andreev VP, Kravchuk RI, Kandratovich IA. Klinicheskaja citologija pečeni: zvezdchatye kletki

Ito [Clinical cytology of the liver: ITO stellate cells (hepatic stellate cells)]. *Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta* [Journal of the Grodno State Medical University]. 2016;4(56):90-99. (Russian).

CLINICAL MORPHOLOGY OF THE LIVER: NECROSES

Tsyrkunov V. M., Prokopchik N. I., Andreev V. P., Kravchuk R. I.
Educational Institution "Grodno State Medical University", Grodno, Belarus

Background. An objective morphological conclusion about the presence of lesions in the liver can be given only by a qualified clinical morphologist, who operates using the existing international criteria for evaluation of the most typical changes in the liver, including characteristics of necrosis.

The aim is to present the morphological characteristics of liver necroses according to the data of intravital liver biopsy in chronic diffuse lesions of various etiologies.

Material and methods. Liver biopsy was obtained by performing aspiration liver biopsy in patients with chronic viral, alcoholic, toxic and metabolic liver lesions, whose written informed consent had been obtained.

We used the methods of light microscopy including semifine sections and those of electron microscopy.

Results. The photomicrographs represent the most typical samples (types) of necroses – coagulation and colliquative, descriptions and images of the changes in the hepatocyte cell nucleus (karyopyknosis, karyorrhexis, karyolysis) and cytoplasm (coagulation and lysis of cytoplasmic proteins, their breakdown with detritus formation and cytolysis). Necroses characteristics corresponding to the international morphological classification are presented in detail. Depending on the area of necroses proliferation, their localization in the liver lobule and severity the following variants of hepatocyte necrosis are distinguished: monocellular; focal (spotted); stepped; zonal; acinar; bridged (port-portal, port-central, centro-central); submassive; massive. The main criteria for the semi-quantitative evaluation of necrosis used in clinical practice in different countries are presented.

Conclusions. In vivo morphological diagnostics makes it possible to determine the stage of development, the nature (type) and preferential localization of necrosis, to assume its etiology, to predict the course and outcome of liver damage. An essential factor that increases the quality of diagnosis is the simultaneous morphological study of a single biopsy by light and electron microscopy.

Keywords: liver, morphology, necroses, visualization.

Поступила: 10.10.2017

Отрецензирована: 17.10.2017