

Rozdział 3

Obraz morfologiczny ostrego i przewlekłego zapalenia wątroby typu C

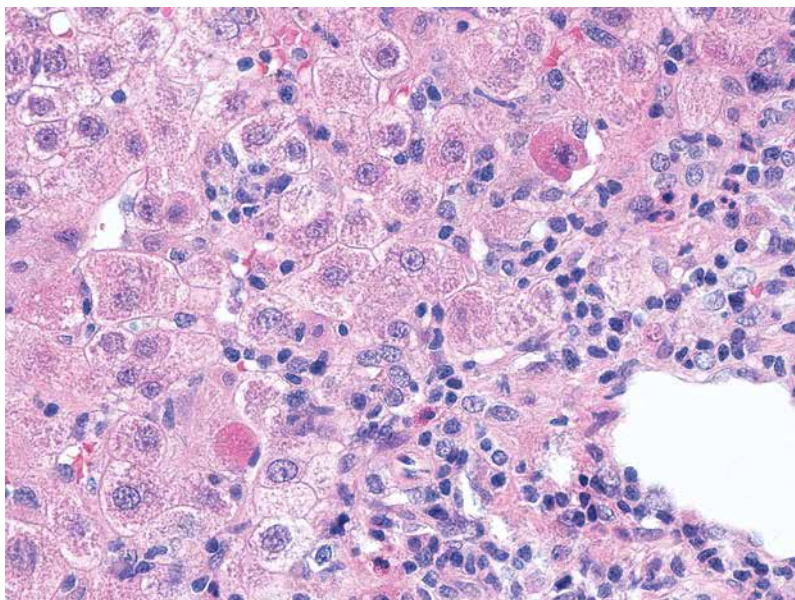
Bożena Walewska-Zielecka

Diagnostyka histopatologiczna zapaleń wątroby typu C, zwłaszcza przewlekłego, jest powoli ograniczana z powodu pojawienia się ultrasonograficznych nieinwazyjnych metod pośrednich oceny zaawansowania włóknienia. W podejmowaniu decyzji terapeutycznych nie uwzględnia się obecnie nasilenia aktywności martwiczo-zapalnej, ich podstawą jest stopień włóknienia wątroby.

Przedstawiane ilustracje histopatologiczne i immunomorfologiczne mogą w przyszłości być unikatowym materiałem diagnostycznym właśnie z powodu ograniczania roli biopsji wątroby w tym obszarze hepatologii.

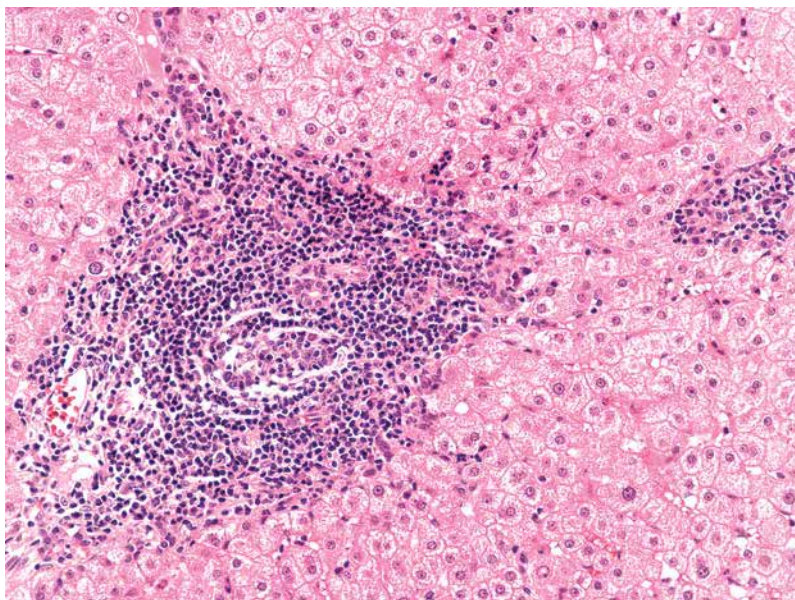
Celem optymalnego opracowania materiału tkankowego pobranego metodą igłowej biopsji wycinek wątroby powinien mieć wg najnowszego stanowiska *American Association for the Study Liver Diseases* (AASLD) co najmniej 20 mm długości lub zawierać co najmniej 11 widocznych w całości przestrzeni wrotnych. Skrawki grubości do 4 mikronów barwione są rutynowo hematoxyliną i eozyną (HE) (ryc. 1.–5.) oraz co najmniej jednym barwieniem histochemicznym tkanki łącznej w celu uściślenia nasilenia włóknienia w wątrobie. Sugeruje się stosowanie jednego barwienia włókien kolagenowych (ryc. 6.) oraz dodatkowo trzeciego barwienia – srebrzenia włókien siateczki metodą Gomoriego – w celu różnicowania odkładania się włókien kolagenowych od zapadnięcia włókien siateczki w miejscach martwicy przeszłowej (co często jest przyczyną nadinterpretacji wyniku oceny włóknienia).

Ujmując najprościej kwestię zapalenia wątroby, można uznać, że uszkodzenie zakażonych komórek wynika z mechanizmów immunologicznych ukierunkowanych na eliminację zakażenia, czego wykładnikiem morfologicznym jest martwica hepatocytów z odczynem z komórek zapalnych. Rozpatrując zagadnienie zapaleń wątroby o etiologii wirusowej, należy brać pod



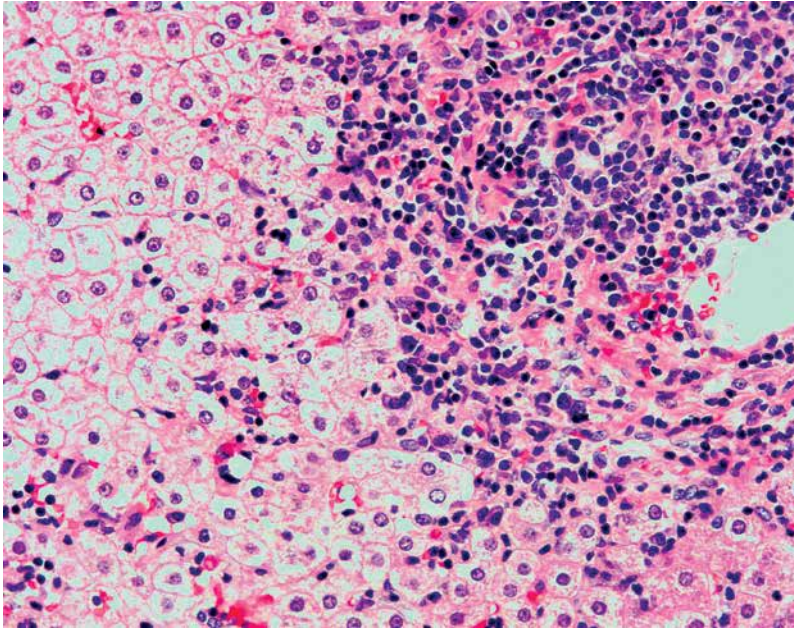
Ryc. 1. Ostre zapalenie wątroby HCV.

Dość gęsty naciek zapalny z mieszanej populacji komórek limfoidalnych w bezpośrednim sąsiedztwie żyły środkowej. Zwyrddnienie balonowate pojedynczych hepatocytów. Dwa ciała apoptotyczne. Barwienie HE, powiększenie 400×.



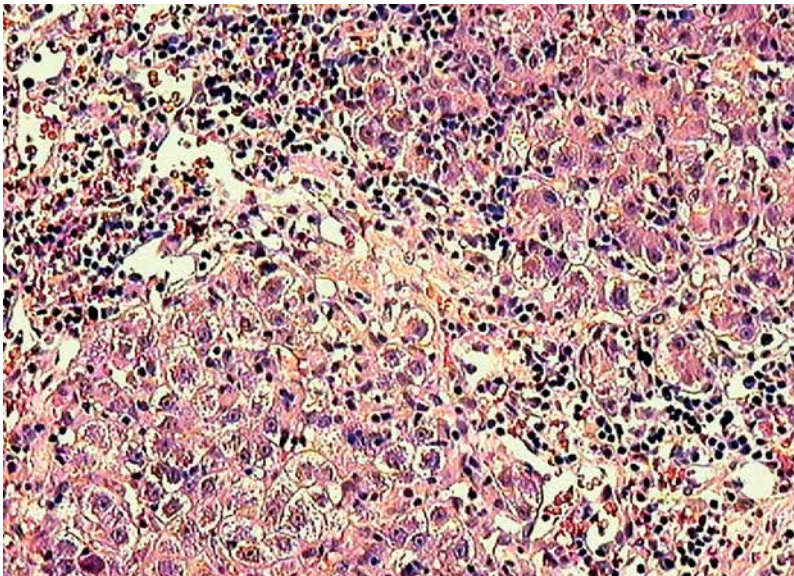
Ryc. 2. Przewlekłe zapalenie wątroby o miernej aktywności.

Gęsty naciek zapalny w przestrzeni wrotnej tworzący drobną grudkę chłonną z ośrodkiem rozmnażania. Nieliczne ogniska martwicy kęsowej w blaszce granicznej. Skupienie komórek zalanych śródzrakowo w miejscu martwicy hepatocytów. Barwienie HE, powiększenie 200×.



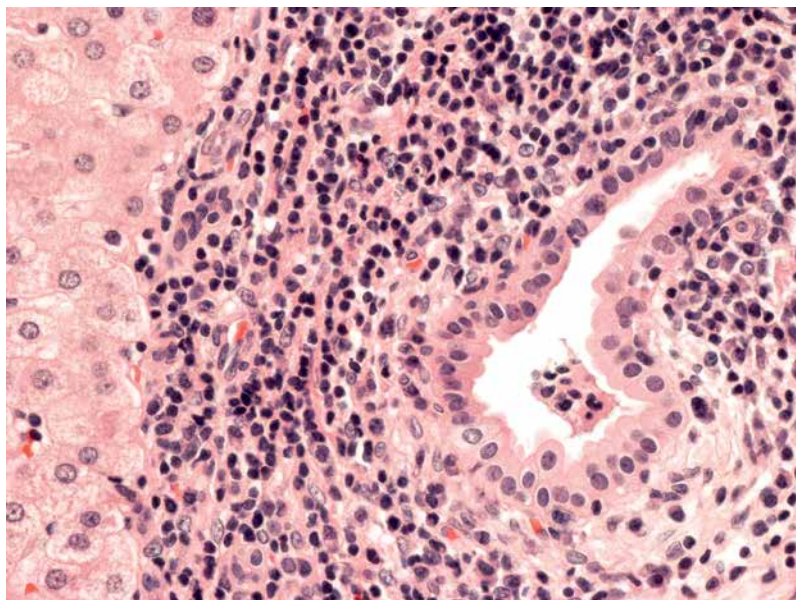
Ryc. 3. Przewlekłe zapalenie wątroby o umiarkowanej aktywności.

Gęsty naciek zapalny w przestrzeni wrotnej, umiarkowanie liczne ogniska martwicy w blaszce granicznej, wyraźna aktywność zapalna śródtrazikowo. Barwienie HE, powiększenie 200×.



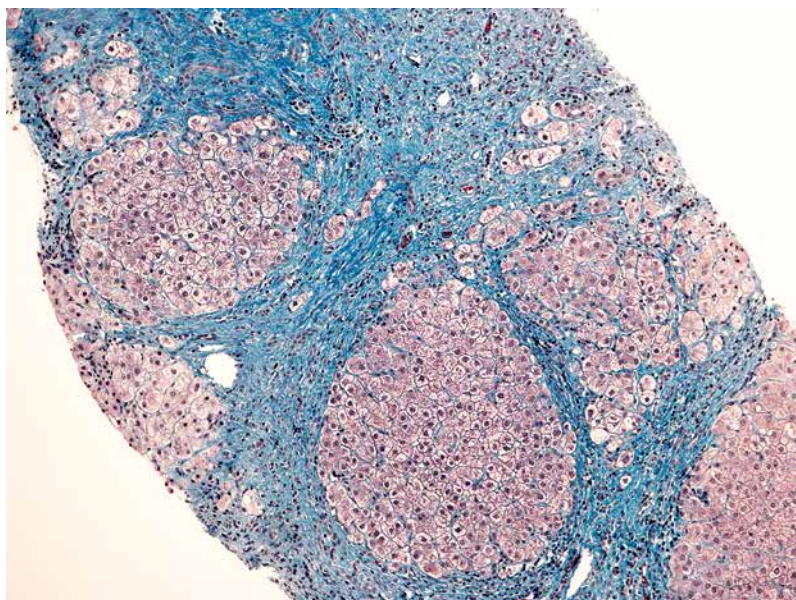
Ryc. 4. Przewlekłe zapalenie wątroby o dużej aktywności.

Gęsty naciek zapalny w przestrzeniach wrotnych, pasmo martwicy przęsłowej wrotno-wrotnej łączące sąsiadujące przestrzenie wrotne. Barwienie HE, powiększenie 125×.



Ryc. 5. Niszczenie przewodzika żółciowego w przewlekłym zapaleniu wątroby typu C.

Gęsty naciek zapalny w przestrzeni wrotnej. Nacieczenie i rozwarstwienie błony podstawnej przewodzika żółciowego z towarzyszącymi zmianami degeneracyjnymi nabłonka żółciowego o typie *senescence*. Obraz bywa elementem morfologicznym PZW C. Barwienie HE, powiększenie 400×.



Ryc. 6. Marskość wątroby u pacjenta z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C.

Kilka drobnych guzków regeneracyjnych. Aktywność zapalna mierna. Barwienie CAB, powiększenie 100×.

uwagę dwa podstawowe czynniki wpływające na przebieg i zejście zakażenia: oddziaływanie wirusa i odpowiedź immunologiczną chorego. Czynniki wirusowy ma na tyle duże znaczenie w zakażeniu HCV, że obecnie nieco mniejszą uwagę zwraca się na odczyn immunologiczny osoby zakażonej, choć stan immunologiczny ustroju zakażonego i jego reakcja na zakażenie z pewnością jest równie istotna. W sytuacji dostępu do bardzo skutecznego leczenia bezinterferonowego ukierunkowanego na eliminację wirusa dywagacje o reakcji immunologicznej chorego nie mają obecnie kluczowego znaczenia. Niemniej jednak odejście od badań w tym zakresie i uproszczone podejście do procesu zakażenia i jego leczenia może spowolnić pełne zrozumienie aspektów immunologicznych związanych z zakażeniami wirusami hepatotropowymi. Odczyn immunologiczny z pewnością ma ogromne znaczenie w badaniach nad szczepionką przeciw zakażeniu HCV.

Obrazy morfologiczne spostrzegane w igłowym wycinku wątroby są wykładnikiem procesów immunologicznych zachodzących *in situ* jako reakcja na białka wirusa. Należy podkreślić, że cechy morfologiczne ostrego wirusowego zapalenia wątroby są dość podobne, niezależnie od typu wirusa, choć istnieją pewne niecharakterystyczne zmiany mogące czasem sugerować etiologię. Ostre zapalenie wątroby typu *viral-like* może występować nie tylko w zapaleniach o etiologii wirusowej, lecz także w autoimmunologicznym zapaleniu wątroby o ostrym początku, w ostrych uszkodzeniach polekowych, a nawet sporadycznie w chorobie Wilsona o ostrym początku.

W diagnostyce morfologicznej chorób wątroby kluczowe są także pełne dane kliniczne, ponieważ analiza morfologiczna biopsji wątroby jest interpretacją obrazu, a nie samym ustalaniem rozpoznania. Peter Scheuer (Royal Free Hospital, London) swoje publikacje z zakresu patomorfologii hepatologicznej tytułował zawsze *Liver Biopsy Interpretation*.

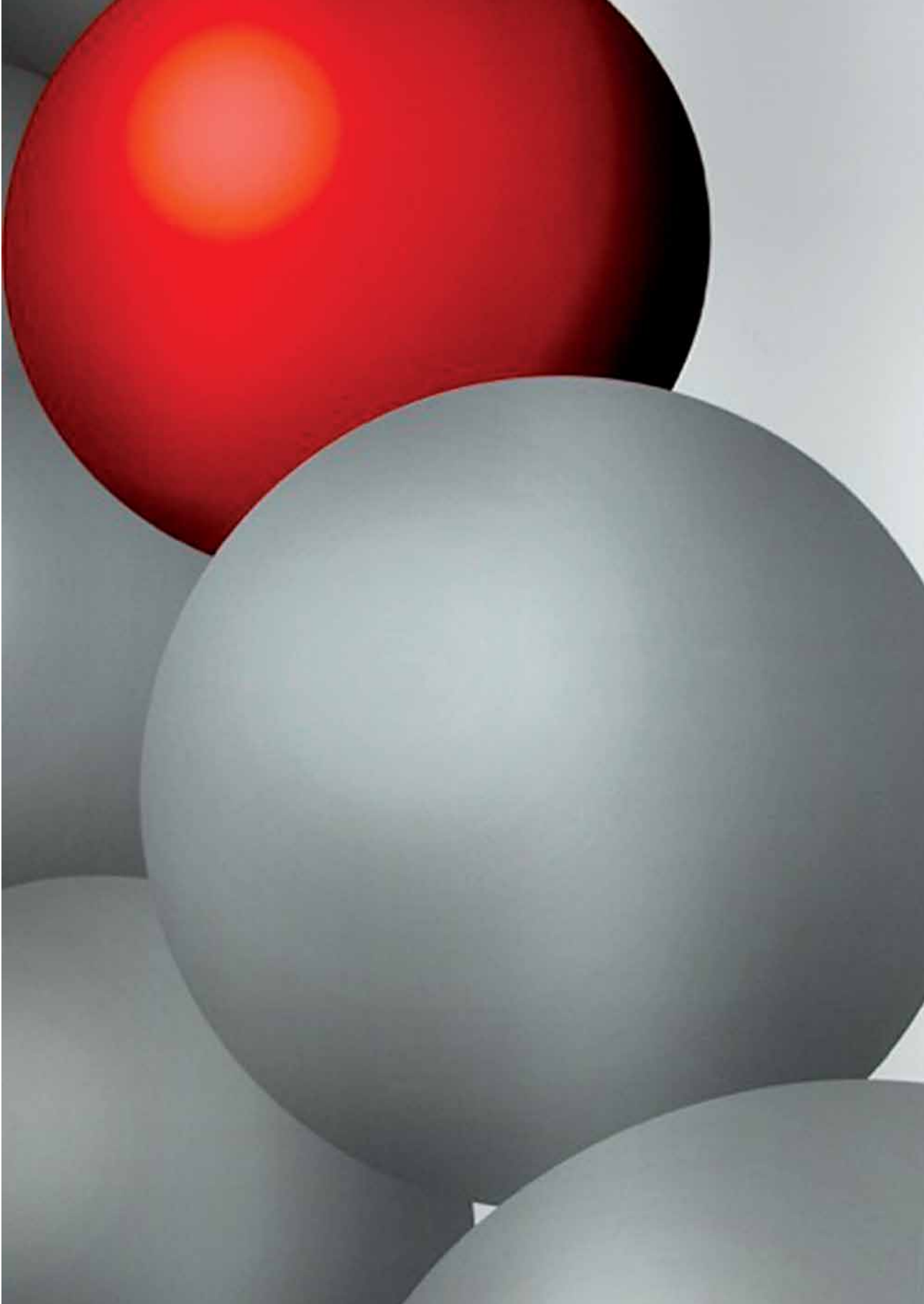
Zmiany histologiczne w ostrym wirusowym zapaleniu wątroby zlokalizowane są przede wszystkim wokół żył środkowych (ryc. 1.). Stwierdza się martwicę rozplywną i kwasochłonną hepatocytów (słownik terminów morfologicznych zamieszczony jest w piśmiennictwie źródłowym). Końcowym stadium martwicy kwasochłonnej hepatocytów są ciała apoptotyczne (ryc. 1.). Hepatocyty w miejscach martwicy i w ich otoczeniu podlegają procesowi mniej lub bardziej nasilonej regeneracji. Oznacza to tworzenie struktur rzekomogruczołowych (bardziej wyrażone w cholestazy postaći zapalenia), czasem nasilenie regeneracji jest tak duże, że w miejscu martwicy hepatocytów (najczęściej zlewnej) tworzy się wyłącznie odczyn przewodnikowy. Nie należy go interpretować jako cholestazy, ale jako regenerację hepatocytów. Badania nad biopsją wątroby wykazały, że regeneracja hepatocytów często przebiega w formie reakcji typu przewodnikowego. Wynika to stąd, że komórki macierzyste wątroby pobudzo-

ne do działania początkowo przechodzą w komórki o fenotypie nabłonka żółciowego, aby w fazie końcowej osiągnąć fenotyp nabłonka komórek wątroby. W miejscach martwicy widoczny jest także wyraźny odczyn makrofagalny – komórki żerne obładowane są sfagocytowanym materiałem komórkowym (widocznym szczególnie wyraźnie w barwieniu PAS z trawieniem diastazą). Poza makrofagami widoczne są także jednojądrowe komórki limfoidalne, granulocyty i plazmocyty. Skład nacieku zapalnego w ostrym wirusowym zapaleniu wątroby nie jest charakterystyczny wyłącznie dla ostrego wirusowego zapalenia wątroby. Typowa jest za to jego lokalizacja i zmiany komórkowe. Martwica hepatocytów w ostrym zapaleniu wątroby typu C może być ogniskowa (tzw. *spotty necrosis*) lub zlewna, zajmująca całe strefy zrazików wokół żył środkowych. Nie wiadomo, dlaczego w ostrym zapaleniu wątroby obserwuje się taką strefowość zmian. Być może wyjaśnieniem tego zjawiska jest odmienny status metaboliczny hepatocytów w różnych częściach zrazika oraz różnice czynnościowe hepatocytów w zależności od ich lokalizacji. Zwraca się także uwagę na obniżoną zawartość tlenu w hepatocytach w strefie 3 zrazików zależną od ukrwienia zrazika (na podstawie schematu płacików jako jednostek morfologicznych wątroby opartych na układzie naczyń krwionośnych). Określenie stopnia aktywności zapalnej w ostrym wirusowym zapaleniu wątroby oparte jest głównie na ocenie nasilenia aktywności zapalnej śródzrazikowo i nasilenia zmian martwiczych. Nie stosuje się półilościowej oceny punktowej ostrego wirusowego zapalenia wątroby typu C.

Poza martwicą i odczynem zapalnym w wątrobie stwierdza się także zmiany zwyrodnieniowe hepatocytów, przede wszystkim w pobliżu żył środkowych. Obejmują one zwyrodnienie balonowate, kwasochłonne i pierzaste (zwłaszcza w postaci cholestatycznej zapalenia). Stłuszczenie hepatocytów nie jest typowe dla ostrego wirusowego zapalenia wątroby, ale wraz z innymi dość wyraźnymi zmianami degeneracyjnymi może sugerować zapalenie wątroby typu C. Oczywiście, należy zawsze brać pod uwagę nakładanie się obrazów uprzednio istniejącej stłuszczeniowej choroby wątroby o różnej etiologii, co może zacierać typowy obraz ostrego zapalenia wątroby.

Przestrzenie wrotne w ostrym wirusowym zapaleniu wątroby są poszerzone i zawierają zazwyczaj limfoidalny naciek zapalny z domieszką granulocytów.

Podstawowym zjawiskiem różnicującym ostre i przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C w badaniu histopatologicznym jest brak włóknienia w zapaleniu ostrym. Charakterystyczna topografia zmian zapalnych i brak włóknienia oraz – co niezwykle ważne – wiarygodne dane kliniczne umożliwiają ustalenie rozpoznania morfologicznego. Zazwyczaj nie wykonuje się biopsji wątroby w ostrym klinicznie jawnym zapaleniu wątroby o etiologii



HCV, potwierdzonym serologicznie i wirusologicznie. Przedstawiany materiał histopatologiczny pochodzi z badanej histopatologicznie grupy pacjentów zakażonych w jednej placówce, co wymagało pełnej oceny epidemiologicznej i potwierdzenia ostrego charakteru zapalenia wynikającego z zakażenia HCV.

Obraz morfologiczny przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby (PZW) charakteryzuje się obecnością nacieku zapalnego z przewagą komórek jednojądrowych w przestrzeniach wrotnych, w części przypadków niszczeniem hepatocytów w blaszce granicznej oraz martwicą hepatocytów śródzrazikowo z odczynem zapalnym. Aktywność zapalną ocenia się na podstawie nasilenia zmian zapalnych śródzrazikowo, w blaszce granicznej i gęstości nacieku zapalnego w przestrzeniach wrotnych. Ocena aktywności zapalnej powinna przede wszystkim zostać dokładnie opisana z zachowaniem zasad opisu biopsji – podanie długości wycinka, liczby przestrzeni wrotnych w skrawkach (wg wytycznych AASLD cytowanych wyżej oraz stanowiskiem polskiej grupy eksperckiej), lokalizacji zmian martwiczo-zapalnych i ich nasilenia oraz lokalizacji i nasilenia włóknienia.

Obrazy biopsji wątroby PZW C mogą przedstawiać zapalenie o miernym (ryc. 2.), umiarkowanym (ryc. 3.) lub dużym stopniu aktywności (ryc. 4.). Martwica przęsłowa (ryc. 4.) jest wykładnikiem martwicy rozprzecznej hepatocytów leżących wzdłuż obwodowej części mikrokrążenia gronka. Uważa się, że patomechanizm tego zjawiska jest podobny do martwicy w piorunującym zapaleniu wątroby i bierze w nim udział przede wszystkim odpowiedź humoralna.

Przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu C ma kilka cech morfologicznych, których obecność może sugerować etiologię. Nie są to jednak cechy patognomoniczne i zawsze wymagają znajomości przez patomorfologa danych klinicznych i kontekstu. Jedną z nich jest tworzenie grudek chłonnych w przestrzeniach wrotnych (ryc. 2. i 7.). Uważa się, że powstawanie grudek chłonnych jest szczególnym zjawiskiem patogenetycznym tworzącym szczególne mikrośrodowisko dla odpowiedzi immunologicznej. Obraz grudek chłonnych w zapaleniu HCV może być wykładnikiem morfologicznym przewagi profilu T2 cytokin. Obecność w nacieku zapalnym komórek plazmatycznych zawierających przeciwciała anti-HCV oraz grudek chłonnych z obecnością antygenów HCV (ryc. 7.) sugeruje, że miejscowa odpowiedź humoralna jest istotną składową reakcji immunologicznej na produkty replikacji HCV i bierze udział w patogenezie zmian zapalnych. W odróżnieniu od ostrego zapalenia wątroby typu B grudki chłonne i martwica kęsowa hepatocytów mogą występować nie tylko w PZW C, lecz także w zapaleniu ostrym, co utrudnia diagnostykę.

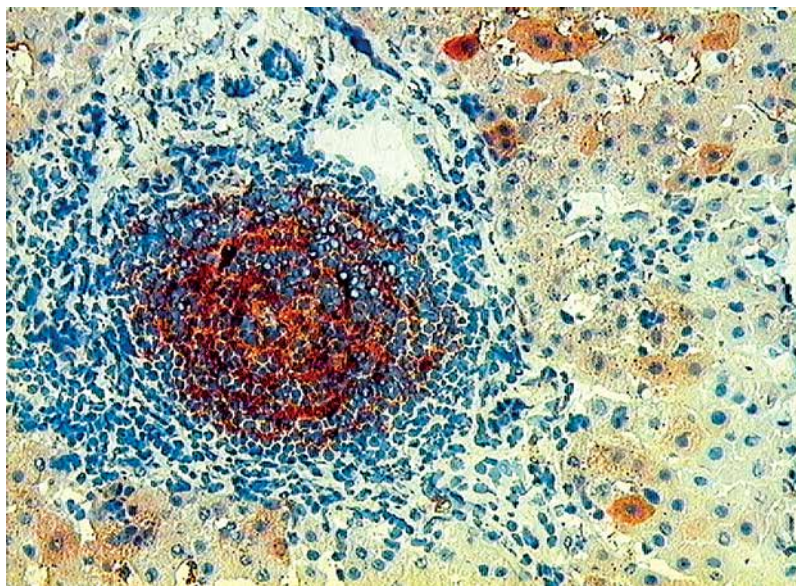
Drugą cechą współlistniejącą w PZW C są zmiany zwyrodnieniowe nąbłonna dróg żółciowych, czasem nawet z jego niszczeniem (ryc. 5.). Zanim

jednak uznaje się zmiany w nabolku żółciowym za cechę PZW C, należy ocenić, czy obraz kliniczny (dane biochemiczne i serologiczne – obecność przeciwciał przeciwmitochondrialnych) nie sugeruje współistniejącej przewlekłej choroby dróg żółciowych (np. pierwotną marskość żółciową wątroby).

W ocenie histopatologicznej PZW zawsze należy uwzględniać możliwość istnienia innych chorób towarzyszących i obrazów morfologicznych nakładania się tych chorób.

Zmianom zapalnym w PZW towarzyszy włóknienie o różnym stopniu zaawansowania. Włóknienie nie jest absolutnym wymogiem do rozpoznania PZW, niemniej jednak jeśli jest stwierdzone, stanowi cechę skłaniającą do rozpoznania PZW. Także i w tym kontekście niezwykle ważne są dane kliniczne, w których czas trwania infekcji determinuje jej przewlekły charakter. Końcowym stadium PZW C jest marskość wątroby (ryc. 6.).

Na podstawie opisu zmian można przystąpić do oceny półilościowej (punktacji). Patomorfologicy oceniający biopsje wątroby stosują różne systemy punktacji. Najistotniejsze wydaje się, aby stosowany system uzgodnić wspólnie z klinicystami, aby obie strony rozumiały i akceptowały go i aby system oceny odpowiadał potrzebom lekarzy leczących pacjenta.



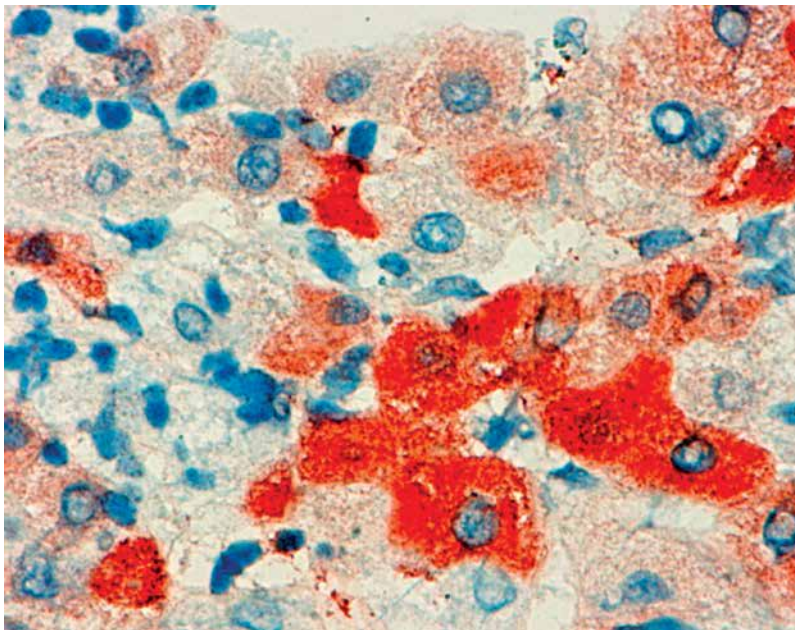
Ryc. 7. Antygeny HCV w grudce chłonnej w przestrzeni wrotnej w przewlekłym zapaleniu wątroby typu C.

Sieć złogów HCV Ag w grudce chłonnej w przewlekłym zapaleniu wątroby typu C. Przeciwciała wyprodukowano w Zakładzie Immunopatologii PZH z surowic pacjentów zakażonych HCV z wysokim mianem przeciwciał anti-HCV (immunoglobulina ludzka). Przeciwciała te znakowano FITC. Jako przeciwciała wiążącego użyto immunoglobuliny mysiej skierowanej przeciwko FITC. Do detekcji reakcji stosowano wzmożony system EnVision (DAKO). Barwienie EnVision, powiększenie 200×.

Przewlekłe zapalenie wątroby o etiologii wirusowej jest procesem dynamicznym, przebiegającym z okresami większej lub mniejszej aktywności zapalnej zarówno w przestrzeniach wrotnych, w blaszce granicznej, jak i śródzrazikowo. Proces zapalny może się utrzymywać w przestrzeniach wrotnych i wokół nich, będąc wyrazem *self-perpetuation* związanego z czynnikami immunologicznymi i wirusologicznymi. Zmiany dynamiki obserwuje się zarówno klinicznie, jak i w badaniu histopatologicznym kolejnych biopsji wątroby i tego samego chorego.

Przyjmuje się, że proces replikacji HCV w hepatocytach wywiera efekt cytotatyczny. W PZW C, w pewnym odróżnieniu od PZW B, częściej obserwuje się odczyn zapalny wokół hepatocytów zawierających w cytoplazmie antygeny HCV (ryc. 8.). Należy zauważyć, że antygeny HCV wykrywane są wyłącznie w cytoplazmie hepatocytów, w odróżnieniu od PZW B, gdzie wzory ekspresji antygenów są bardzo różnorodne.

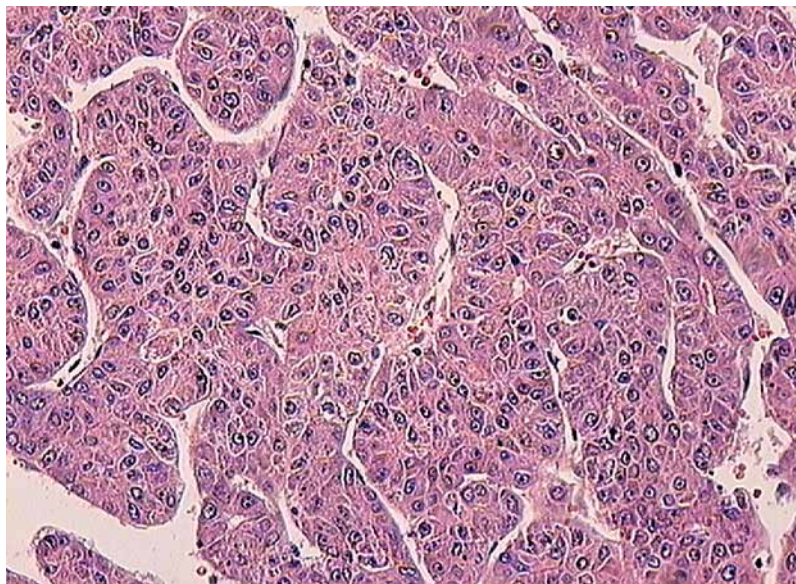
Niepomyślnym zejściem PZW C jest rak wątrobowokomórkowy (ryc. 9.). W tkance z resekowanej zmiany ogniskowej wykazano ekspresję antygenów HCV (ryc. 10.), co może potwierdzać kancerogenność HCV i jedną z etiologii raka wątrobowokomórkowego.



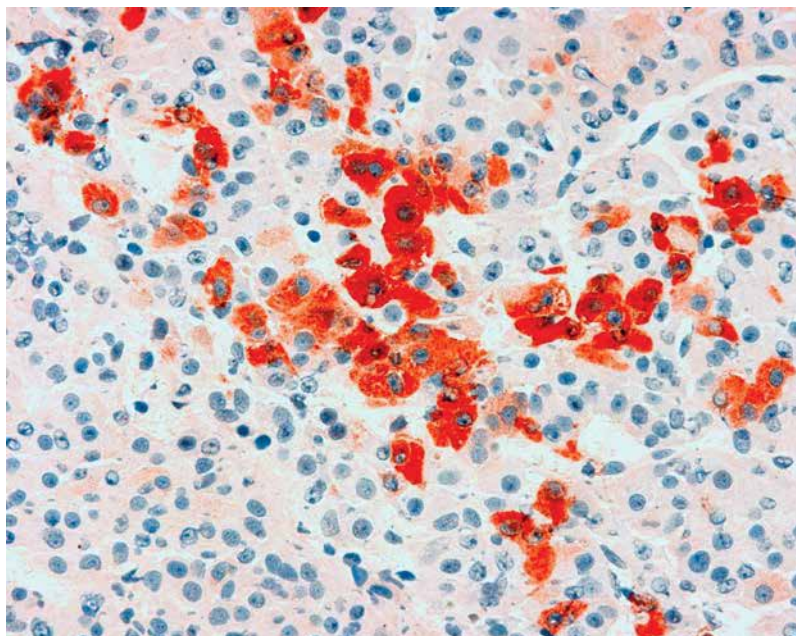
Ryc. 8. Antygeny HCV w cytoplazmie hepatocytów w przewlekłym zapaleniu wątroby typu C.

Odczyn zapalny w pobliżu hepatocytów z ekspresją HCV Ag. Barwienie EnVision, powiększenie 600×.

W ocenie histopatologicznej PZW zawsze należy uwzględnić możliwość istnienia innych chorób towarzyszących i obrazów morfologicznych nakładania się tych chorób. Tym bardziej kluczowe znaczenie dla prawidłowego rozpoznania ma współpraca klinicysty i patomorfologa.



Ryc. 9. Rak wątrobowokomórkowy u pacjenta z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C.
Barwienie HE, powiększenie 125×.



Ryc. 10. Antygeny HCV w komórkach raka wątrobowokomórkowego u pacjenta z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C.
Barwienie EnVision, powiększenie 125×.