

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ И ПРОЯВЛЕНИЯ СИНДРОМА ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ HBV-ИНФЕКЦИИ

Кузнецов П. Л.¹, Борзунов В. М.¹, Бессонова Е. Н.², Удилов В. С.¹, Вереvщиков В. К.¹

¹ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Минздрава России»,

²ГУЗ «Свердловская областная клиническая больница № 1», Российская Федерация, г. Екатеринбург

При течении хронической HBV-инфекции прогрессирует процесс фиброгенеза печени. В исследовании гепатобиоптатов 54 пациентов с хроническим вирусным гепатитом В выявлен широкий диапазон морфологических изменений: инфильтрация ткани лимфоцитами, расширение портальных трактов за счёт фиброза и умеренной лимфоцитарной инфильтрации, формирование порто-портальных септ, ступенчатых некрозов, гидрочической инфильтрации гепатоцитов, обнаружение «матовостекловидных» гепатоцитов и «песочных ядер». По мере прогрессирования HBV-инфекции возрастает частота выявления диффузной лимфоцитарной инфильтрации, количества порто-портальных септ и ступенчатых некрозов. После проведённой комбинированной противовирусной терапии регистрируется улучшение морфологической структуры печени. Показатели синдрома эндогенной интоксикации имеют прямую взаимосвязь с процессом фиброгенеза при HBV-инфекции. По прошествии 2–3 лет у больных HBV-инфекцией без этиотропного лечения достоверно повышается индекс токсичности и снижается резерв связывания альбумина в сопоставлении с пациентами, принимавшими терапию.

Ключевые слова: вирусный гепатит В, морфология печени, эндогенная интоксикация.

MORPHOLOGICAL CHANGES IN LIVER AND MANIFESTATIONS OF THE SYNDROME OF ENDOGENOUS INTOXICATION IN CHRONIC HBV-INFECTION

Kuznetsov P. L.¹, Borzunov V. M.¹, Bessonova E. N.², Udilov V. S.¹, Verevshchikov V. K.¹

¹SBEI HPE «Ural State Medical Academy, Ministry of health of Russia», ²SHCI «Sverdlovsk regional hospital № 1»

In the course of chronic HBV infection is progressing process of fibrogenesis the liver. In the study of liver biopsy samples 54 patients with chronic viral hepatitis B identified a wide range of morphological changes: infiltration tissue lymphocytes, the expansion of the portal tracts due to fibrosis and moderate lymphocytic infiltration, the formation of porto-portal septum, stepped necrosis, bottled infiltration of hepatocytes, the detection of "dull glassy" hepatocytes and "sand cores". The progression of HBV-infection increases the frequency of detection of diffuse lymphocytic infiltration, the number of porto-portal septum and stepped necrosis. After the combined antiviral therapy is registered improvement of morphological structure of the liver. Indicators of the syndrome of endogenous intoxication have a direct correlation with the process of fibrogenesis in HBV infection. After 2-3 years in patients with HBV-infection without etiotropic treatment significantly increased toxicity index and decreased reserve albumin binding in comparison with patients treated with therapy.

Key words: viral hepatitis B, liver morphology, endogenous intoxication.

Введение

Распространение вирусного гепатита В в мире охватывает более 2 миллиардов человек, имеющих маркеры перенесённой HBV-инфекции, более 400 миллионов человек является больными хроническим вирусным гепатитом В. В РФ количество больных ХВГВ составляет более 5 миллионов человек [6]. Одной из важных причин хронизации вирусных гепатитов является способность HBV к длительной персистенции в клетках печени.

В большинстве случаев хронического поражения печени, в том числе при инфекции гепатотропными вирусами, основным механизмом гибели клеток служит апоптоз [7]. При вирусном гепатите апоптоз может быть как результатом прямого воздействия вируса, так и

опосредованным иммунной реакцией. Являясь универсальным биологическим механизмом, апоптоз при вирусных гепатитах может приводить к избыточной гибели не только гепатоцитов, но и других клеточных популяций, отражая либо системный иммуновоспалительный ответ на инфекцию, либо внепеченочную персистенцию вируса. Апоптоз лимфоцитов и гранулоцитов достоверно выше у больных ХВГВ по сравнению с контролем [1].

Фиброз печени – это локальное или диффузное увеличение количества соединительной ткани, внеклеточного матрикса (коллагеновой волокнистой ткани в перисинусоидном пространстве) и основной путь прогрессирования хронических диффузных заболеваний печени. Клетками, непосредственно задействованными в процессе фиброобразования, являются гепатоциты, клетки Купфера, синусоидальные эндотелиоциты, звездчатые клетки печени [3, 8]. Эволюция фиброза при вирусных гепатитах представляется как первичный фиброз портальных трактов с последующим распространением по направлению к центральной вене и соседним портальным трактам с образованием порто-портальных и порто-центральных септ [10]. На предрасположенность к активному фиброгенезу и быстрому прогрессированию заболевания влияют такие факторы, как: особенности генной регуляции синтеза и распада коллагена у носителей определённых генотипов [2].

Диапазон патогистологических изменений в морфологическом субстрате при вирусных гепатитах велик. Накоплены данные о том, что для больных ХГВ характерно повышение значений показателей ангиогенеза и экспрессии матриксных металлопротеиназ-2 (ММП), высокая пролиферативная активность клеток Ито. Проведение ПВТ ламивудином больных ХГВ приводит к положительной динамике морфологических данных, сопровождается снижением пролиферативной активности клеток Ито, снижением уровня экспрессии ММП-7 и ММП-9, уменьшением значений ангиогенеза и активацией механизмов антиметаллопротеиназной защиты. Регресс морфологических данных при проведении ПВТ не зависит от степени фиброза печени и наличия HBeAg до лечения [5].

Синдром эндогенной интоксикации (СЭИ) регистрируется при многих патологических состояниях организма человека, в том числе и при вирусных гепатитах. Цитолиз гепатоцитов при поражении печени HBV приводит к снижению её дезинтоксикационной и белоксинтезирующей функции, что приводит к нарастанию синдрома эндогенной интоксикации. Состояние молекулы сывороточного альбумина, характеризующее её связывающую способность, достоверно отражает течение СЭИ и может быть использовано в качестве критерия прогноза, тяжести течения и исхода заболевания, а также эффективности проводимой терапии. Существует три причины, способные изменить

эффективную концентрацию альбумина (ЭКА): 1) потеря альбумина (снижение общей концентрации альбумина (ОКА)); 2) загрузка альбумина метаболитами (билирубином, токсинами и другими ароматическими метаболитами); 3) изменение конформации молекулы альбумина. Индекс резерва связывания альбумина ($РСА = ЭКА / ОКА \times 100 \%$) не зависит от концентрации альбумина, характеризует только состояние его молекулы и расценивается как маркер интоксикации, достоверно отражающий статус интоксикации организма. Его динамика достоверно связана с морфофункциональным состоянием печени. Нарушение функции печени, как острое, так и хроническое, приводит к снижению РСА и повышению индекса токсичности ($ИТ = ОКА / ЭКА - 1$). Доказано увеличение маркеров синдрома эндогенной интоксикации в зависимости от степени тяжести процесса. Отмечается сохранение маркеров эндогенной интоксикации при течении ХВГС в фазу репликации вируса [4].

В литературе нет данных, определяющих взаимосвязь между влиянием морфологических изменений в ткани печени на формирование и степень синдрома эндогенной интоксикации при вирусном гепатите В.

Цель исследования: определить характер гистиоструктурных изменений паренхимы печени и выраженность синдрома эндогенной интоксикации у больных хроническим вирусным гепатитом В в динамике заболевания и влияние комбинированной противовирусной терапии на изменение показателей связывающей способности сывороточного альбумина.

Материалы и методы

В исследование включены 54 пациента с впервые выявленным хроническим вирусным гепатитом В. Маркеры HBV (HBsAg, анти-HBs, анти-HBcore IgG+IgM, анти-HBcore-IgM, анти-HBe) определяли, используя отечественные и зарубежные коммерческие тест-системы. Для определения ДНК-ВГВ использовали наборы фирм: Интерлабсервис и Авиценна (с чувствительностями 1000 и 300 геq/мл соответственно).

Всем пациентам проведена двукратная чрескожная пункционная биопсия печени (ЧПБП). Пациенты были распределены на 2 группы. В I группу включён 21 пациент, не проходивший лечение, которым вторая ЧПБП проведена в интервале 2–3 года от первой. Пациенты, сформировавшие I группу, изначально готовились к проведению ПВТ, однако, в силу разных причин вынуждены были перенести терапию на более поздний срок. Во II группу вошло 33 человека, которым проведена ЧПБП до и после проведения противовирусной терапии.

Пациенты получали комбинированную противовирусную терапию (α -интерферон-2а 5 млн. ЕД ежедневно и ламивудин 100 мг/сутки). Показаниями к назначению

комбинированной противовирусной терапии были: положительная ПЦР на ДНК HBV, маркеры вирусного гепатита В в ИФА, повышенный уровень трансаминаз. Продолжительность терапии составила 6 месяцев.

Гистологическое исследование проводили на парафиновых срезах. Материал подвергали стандартной гистологической обработке с окраской серийных срезов гематоксилином, эозином, пикрофуксином по Ван Гизону. Использовались обзорные морфологические описания структурных нарушений в печени.

В гепатобиоптатах определяли индекс гистологической активности (ИГА) по Knodell R.G.: 0-3 балла – низкая, 4–8 баллов – минимальная, 9–12 баллов – умеренная, 13–17 баллов – высокая активность ХВГ С, а также степень фиброза с использованием гистологического индекса склероза (ГИС) по Desmet J. V.: F1 – слабый, F2 – умеренный, F3 – тяжелый фиброз, F4 – цирроз печени. Оценивались гистологические критерии ХВГ: портальные тракты, лимфоидные фолликулы в портальных и перипортальных зонах печеночной дольки, гидропическая и жировая дистрофии гепатоцитов, пролиферация междольковых желчных протоков, наличие порто-портальных септ [9].

Проведено исследование характера изменений свойств связывающих центров сывороточного альбумина, где использован флуоресцентный метод определения ОКА, ЭКА, РСА и ИТ. Показатели измеряли на приборе «АКЛ-01» (Россия) с помощью наборов реактивов «Зонд-Альбумин» (производство НИМВЦ «Зонд», Москва) [4]. Определялись показатели антитоксической активности альбумина в день проведения ЧПБП, с последующим контролем через 2–3 года от проведения первой биопсии печени. Каждый включённый в исследование пациент обследован двукратно. Для оценки достоверности различий определены показатели связывающих центров альбумина у 40 практически здоровых человек (21 мужчина и 19 женщин, средний возраст $31 \pm 1,6$ лет). В группе здоровых лиц ЭКА составила $36,8 \pm 1,8$ г/л, ОКА - $41,7 \pm 1,9$ г/л, РСА - $88,2 \pm 3,1\%$ и ИТ - $0,17 \pm 0,05$.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета прикладных программ «Statistica for Windows 6,0». Количественные показатели сравнивали с помощью метода Манна – Уитни, а качественные – с помощью критерия χ^2 по Пирсону или точного метода Фишера. Равенство выборочных средних проверяли по t-критерию Стьюдента. Критерием статистической значимости было значение $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

В I группе пациентов у 14 чел. (66,7 %) был в анамнезе перенесённый острый вирусный гепатит В давностью не более 6 лет. Эпизодическое или постоянное потребление

инъекционных наркотиков отметили 10 чел. (47,6 %). Распределение по полу: мужчин – 16 чел. (76,2 %), женщин – 5 чел. (23,8 %).

Морфологические изменения в ткани печени при первичной биопсии в I группе пациентов: инфильтрация ткани лимфоцитами – 100 % (единичная встречалась у 15 чел. (71,4 %), диффузная – у 6 чел. (28,6 %)), расширение портальных трактов за счёт фиброза и умеренной лимфоцитарной инфильтрации – у 18 чел. (85,7 %). Гидропическая инфильтрация гепатоцитов – у 20 чел. (95,2 %), порто-портальные септы – 15 чел. (71,4 %), ступенчатые некрозы – у 15 чел. (71,4 %), сближение портальных трактов – у 6 чел. (28,6 %). У 13 пациентов (61,9 %) были обнаружены «матовостекловидные» гепатоциты, тельца Каунсильмена – у 10 чел. (47,6 %), «песочные ядра» описаны у 9 чел. (42,9 %). Средний индекс гистологической активности у пациентов с HCV-инфекцией составляет 5,6 баллов. Средний гистологический индекс склероза 2,0 баллов. Маркёры эндогенной интоксикации в I группе до старта ПВТ: РСА – $64,5 \pm 2,6$ %, ИТ – $0,55 \pm 0,09$.

По прошествии 2–3 лет результаты морфологического исследования и показателей синдрома эндогенной интоксикации выглядели таковыми: единичная лимфоцитарная инфильтрация ткани печени встречалась у 11 чел. (52,4 %), а диффузная – у 10 чел. (47,6 %), расширение портальных трактов выявлено у 17 чел. (81,0 %), ступенчатые некрозы – у 19 чел. (90,5 %), гидропическая дистрофия гепатоцитов – у 19 чел. (90,5 %), порто-портальные септы – у 17 чел. (81,0 %), сближение портальных трактов – у 10 чел. (47,6 %), тельца Каунсильмена – у 11 чел. (52,4 %), «матовостекловидные» гепатоциты – у 13 чел. (61,9 %), «песочные ядра» – у 9 чел. (42,9 %). Средний ИГА составил 7,8 баллов, средний ГИС – 3,5 баллов. Показатели альбуминовых тестов: РСА – $76,3 \pm 2,7$ %, ИТ – $0,31 \pm 0,07$ (таб. 1).

Таблица 1

Морфологические характеристики и показатели СЭИ у больных ХВГВ в динамике (%)

Характеристики	I группа (n=21)		II группа (n=33)	
	1-я ЧПБП	2-я ЧПБП	1-я ЧПБП	2-я ЧПБП
Инфильтрация ткани лимфоцитами единичная	71,4	52,4	60,6	75,8
Инфильтрация ткани лимфоцитами диффузная	28,6	47,6	39,4	24,2
Расширение портальных трактов	85,7	81,0	84,4	66,7
Ступенчатые некрозы	71,4	90,5	90,9	63,6
Гидропическая дистрофия	95,2	90,5	100	93,9
Порто-портальные септы	71,4	81,0	75,8	60,6
Сближение портальных трактов	28,8	47,6	48,5	48,5

Тельца Каунсильмена	47,6	52,4	36,4	33,3
«Матовостекловидные» гепатоциты	61,9	61,9	72,7	60,6
«Песочные ядра» гепатоцитов	42,9	42,9	30,3	18,2
Средний ИГА (баллы)	5,6	7,8	5,2	5,0
Средний ГИС (баллы)	2,0	3,5	2,0	1,8
Резерв связывания альбумина (%)	64,5±2,6	76,3±2,7	65,8±3,1	80,6±3,5
Индекс токсичности (усл. ед.)	0,55±0,09	0,31±0,07	0,52±0,12	0,24±0,09

Во II группе среди пациентов с впервые выявленным вирусным гепатитом В лишь у 15 человек (45,4 %) были эпидемиологические данные о перенесённом остром вирусном гепатите В в срок от 3 до 6 лет. Эпизодическое или постоянное применение парентеральных наркотических средств отмечали 12 чел (36,4 %). По половой принадлежности в группу вошло 22 мужчины и 11 женщин (66,7 % и 33,3 % соответственно).

При первичном исследовании гепатобиоптатов, полученных до назначения противовирусной терапии, выявлялись следующие гистиоструктурные изменения: портальные тракты в 28 биоптатах (84,8 %) несколько расширены за счет фиброза и умеренной лимфоцитарной инфильтрации, ступенчатые некрозы гепатоцитов отмечены у 30 чел. (90,9 %). В 100 % случаев (33 чел.) наблюдается инфильтрация ткани лимфоцитами единичная (60,6 %) или диффузная (39,4 %). Также отмечается гидропическая дистрофия гепатоцитов в 100 % случаев (33 чел.). Местами обнаруживалось сближение портальных трактов (у 16 чел – 48,5 %), а также активные и неактивное порто-портальные септы 25 чел. (75,8 %). У 24 пациентов (72,7 %) были обнаружены «матовостекловидные» гепатоциты. Безъядерные ацидофильные тельца Каунсильмена отмечались у 12 чел. (36,4 %). «Песочные ядра» описаны у 10 чел. (30,3 %). Средний индекс гистологической активности у пациентов с HBV-инфекцией составляет 5,2 баллов. Средний гистологический индекс склероза 2,0 баллов. Маркёры эндогенной интоксикации во II группе до старта ПВТ: РСА – 65,8±3,1 %, ИТ – 0,52±0,12.

После проведения ПВТ морфологическая характеристика изменилась: единичная лимфоцитарная инфильтрация ткани печени встречалась у 25 чел. (75,8 %), а диффузная – у 8 чел. (24,2 %), расширение портальных трактов выявлено у 22 чел. (66,7 %), ступенчатые некрозы – у 21 чел. (63,6 %), гидропическая дистрофия гепатоцитов – у 31 чел. (93,9 %), порто-портальные септы – у 20 чел. (60,6 %), сближение портальных трактов – у 16 чел. (48,5 %), тельца Каунсильмена – у 11 чел (33,3 %), «матовостекловидные» гепатоциты – у 20 чел. (60,6 %), «песочные ядра» – у 6 чел. (18,2 %). Средний ИГА составил 5,0 баллов, средний

ГИС – 1,8 баллов. Показатели альбуминовых тестов: РСА – $80,6 \pm 3,5$ %, ИТ – $0,24 \pm 0,09$ (таб. 1).

Показатели СЭИ в двух группах сравнения демонстрировали уменьшение ИТ и увеличение РСА в сопоставлении с вирусологическим ответом на ПВТ, однако даже после 24 недель по окончании лечения не достигли нормальных показателей, что указывает на срыв компенсаторных возможностей печени после вирусного поражения, а также формирование и прогрессирование фибротических изменений органа.

Выводы

1. По мере прогрессирования НВV-инфекции происходит изменение гистиоструктурных показателей ткани печени в виде нарастания диффузной лимфоцитарной инфильтрации, увеличения количества порто-портальных септ, ступенчатых некрозов, выражающееся увеличением ИГА и ГИС.
2. Применение комбинированной противовирусной терапии приводит к снижению диффузной инфильтрации лимфоцитами, уменьшению количества ступенчатых некрозов и порто-портальных септ, уменьшению расширения портальных трактов в гепатобиоптате, а также сохранению ИГА и ГИС с тенденцией к их снижению.
3. Определение маркёров синдрома эндогенной интоксикации у пациентов с ХВГВ, не получавших комбинированную ПВТ по прошествии 2–3 лет с момента выявления НВV-инфекции, регистрирует достоверно выше индекс токсичности и достоверно ниже резерв связывания альбумина ($p < 0,05$). Следует отметить, что в обеих группах показатели синдрома эндогенной интоксикации не приходят в норму.

Список литературы

1. Буеверов А. О., Тихонина Е. В., Москалева Е. Ю. Апоптоз периферических лейкоцитов при хронических вирусных гепатитах // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2000. – № 6. – С. 30-33.
2. Генетические факторы подверженности к хронизации вирусного гепатита и фиброзу в печени / Гончарова И. А., Белобородова Е. В., Фрейдин М. Б., Белобородова Э. И., Черногорюк Г. Э., Пузырев В. П. // Молекулярная биология. – 2008. – Т. 42, № 2. – С. 238-341.
3. Комарова Д. В., Цинзерлинг В. А. Морфологическая диагностика инфекционных поражений печени: практ. рук-во. – СПб.: Сотис, 1999. – 245 с.
4. Оценка тяжести состояния больных сепсисом по показателям альбуминового теста. Флуоресцентный метод исследования свойств альбумина и липопротеинов в клинической

оценке состояний организма / Андреева О. Л., Цвиренко С. В., Сергеева М. П., Руднов В. А., Евсеев Д. Ю. – Екатеринбург, 1999. – С. 66-68.

5. Павлов Ч. С. Фиброз печени при хронических вирусных гепатитах В и С: Автореф. дисс... д-ра мед. наук. – М., 2009. – 24 с.

6. Шахгильдян И. В., Михайлов М. И., Онищенко Г. Г. Парентеральные вирусные гепатиты. – М.: ГОУ ВУНМЦ МЗ РФ, 2003. – 384 с.

7. Шевалдин А. Г. Хронический гепатит С и резидентные макрофаги печени // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 2 – С. 138-147.

8. Bataller R., Brenner D.A. Liver fibrosis // Clin. Invest. – 2005. – Vol. 115. – P. 209-218.

9. Desmet V. J., Roskams T. Cirrhosis reversal: A duel between dogma and myth // J. Hepatol. – 2004. – Vol. 40. – P. 860-867.

10. Shetty K., Wu G.Y. Chronic viral hepatitis, diagnosis and therapeutics // Clinical Gastroenterology. – Humana Press, 2009. – P. 33.

Рецензенты:

Глинских Нина Поликарповна, д.м.н., профессор, з.д.н. РФ, академик РАН, директор ФГУН «Екатеринбургский научно-исследовательский институт вирусных инфекций» Роспотребнадзора, г. Екатеринбург.

Ольховиков Алексей Иванович, д.м.н., профессор кафедры детских инфекционных болезней и клинической иммунологии ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия», г. Екатеринбург.