

УДК 612.35+616.36-091.8-089.843

*І.В. Гомоляко, І.В. Григорова, Н.Є. Клочкова,  
Л.С. Донцова, І.О. Швадчин*

*Національний інститут хірургії та трансплантології ім. О.О. Шалімова  
НАМН України, м. Київ*

## МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧІНКИ ДОНОРІВ

Морфологічні ознаки вірусного ураження печінки виявлені у 36,4 % клінічно здорових донорів за відсутності вірусів гепатиту С та В. Це свідчить про обов'язковість морфологічних досліджень печінки донорів на дотрансплантаційному етапі. Доцільним є використання каріометрії як об'єктивного критерію морфофункціонального стану печінки.

**Ключові слова:** гепатоцит, печінка, трансплантація, морфометрія, гідропічна дистрофія.

Об'єктивна оцінка стану печінки потенційного родинного донора є надзвичайно важливою, оскільки від цього значною мірою залежить успіх подальшої трансплантації [1, 2]. Придатність печінки донора для трансплантації визначається результатами клініко-лабораторних досліджень, однак біохімічні показники функції органа не завжди корелюють з її морфологічними характеристиками, а візуальна морфологічна оцінка стану печінки є досить суб'єктивною, незважаючи на наявність розроблених чітких критеріїв [3, 4].

Метою даного дослідження було вивчення морфологічних характеристик печінки потенційних родинних донорів та дослідження можливостей об'єктивізації морфологічних характеристик дистрофічно-запального процесу в печінці клінічно здорових осіб.

**Матеріал і методи.** Досліджено 44 біоптати печінки клінічно здорових осіб — можливих родинних донорів печінки. Всі лабораторні показники, в тому числі і біохімічні показники функції печінки знаходились в межах норми, віруси гепатитів В і С не виявлені. Біоптати печінки обробляли за стандартною гістологічною методикою із забарвленням зрізів гематоксилін-еозином, резорцин-фуксином та за ШИК-реакцією. Дистрофічно-запальні зміни в печінці оцінювали за шкалою R. Knodell et al. [4], до якої додатково була введена градація 0,5 бала з метою реєстрації мінімальних змін;

відповідно сформовано п'ять груп спостережень. Паралельно використовували шкалу METAVIR [3]. Каріометрія ядер гепатоцитів (по 50 ядер у трьох випадково обраних полях зору) включала оцінку площі (s) та яскравості (int) ядер гепатоцитів; обладнання — аналізатор зображення (Olympus, Японія), програмне забезпечення — DP-SOFT (Німеччина) та PARADISE (Україна).

Для аналізу цифрового матеріалу використовували оптимальне квантування ознак за квантильно-ранговим класифікаційним методом з виділенням трьох діапазонів для кожного з показників з умовними позначеннями і назвами: sA — «дрібні» ядра, sB — «середні», sC — «великі»; intA — «темні», intB — «помірні», intC — «світлі». Достовірність відмінностей між групами визначали за допомогою критерію Ст'юдента,  $\chi^2$  Пірсона, критерію Манна-Уїтні-Вілкоксона [5–7]. Статистичні показники розраховували з використанням комп'ютерних програм «EXCEL» (Microsoft, 2003, USA) та «STATISTICA 6.1» (StatSoft Inc., 1984–2004, USA) [8].

**Результати та їх обговорення.** Характеристика вираженості морфологічних змін у донорів печінки представлена відповідно до модифікованої шкали R. Knodell et al. у балах (таблиця). У переважної більшості донорів (I група, 54,5 %) фіброз портальних просторів був відсутній, у 20,5 % (II група) мав незначну вираженість і спостерігався в окремих портальних трактах. Ознаки фіб-

© І.В. Гомоляко, І.В. Григорова, Н.Є. Клочкова та ін., 2011

## Вираженість морфологічних змін у біоптатах печінки донорів, %

Ознака	Групи					
	I (0 балів)	II (0,5 бала)	III (1 бал)	IV (2 бали)	V (3 бали)	VI (4 бали)
Фіброз печінки	54,5	20,5	15,9	6,8	2,3	–
Інфільтрація порталних трактів	47,7	31,8	11,4	6,8	2,3	–
Внутрішньочасточкова дегенерація, фокальні некрози	29,5	34,1	18,2	15,9	2,3	–

розу порталних просторів були виявлені у 11 осіб (I–V групи, 25,0 %), причому F3 (септальний фіброз з портално-портальними і портално-септальними зв'язками) був виявлений лише у 1 донора (2,3 %). Таким чином, у 75,0 % біоптатів печінки донорів фіброз був практично відсутній, але в 1 випадку за відсутності клініко-лабораторних ознак патології спостерігались значні фіброзні зміни, що робило недоцільним використання такої печінки для трансплантації.

Запальна інфільтрація порталних трактів є наступною морфологічною ознакою, яка характеризує стан печінки донорів. У 47,7 % (I група) спостережень запальна інфільтрація була відсутня, в 31,8 % (II група) слабка запальна інфільтрація спостерігалась в окремих порталних трактах і лише у 4 донорів прояви запалення були значними і оцінювались у 2 (IV група) і в 3 (V група) бали, причому у V групі запальна інфільтрація спостерігалась інтралобулярно і мала дифузний підгострий характер. Клітинний склад запальних інфільтратів переважно лімфоцитарний.

Дистрофічні зміни гепатоцитів є найбільш суттєвим проявом ураження печінки і ознакою печінково-клітинної недостатності. В 15 випадках (34,1 %) спостерігалась типова велико- та дрібнокрапельна жирова дистрофія, найбільш виражена у осіб IV та V груп, але її інтенсивність не перевищувала 10,0 %.

Білково-гідропічна дистрофія спостерігалась практично у всіх можливих донорів, але мала різний ступінь вираженості. В 29,5 % (I група) архітектоніка печінки збережена, гепатоцити мали чіткі контури, слабкобазофільну цитоплазму і лише невеликі групи клітин мали вакуолізовану цитоплазму. Осередки дифузного рожевого, стійкого до амілази забарвлення свідчили про початкові стадії білково-гідропічної дистрофії. Загальний об'єм ураження в цій групі не перевищував 10,0 %, що не враховували як суттєву патологію. У II групі (34,1 %) дистрофічні зміни були подібними,

але більш вираженими — площа ділянок білково-гідропічної дистрофії становила 10,0–30,0 %. У III–V групах відмічалось подальше посилення дистрофічного процесу зі збільшенням ділянок білково-гідропічної дистрофії, появою балонних клітин та точкових некрозів гепатоцитів. Посилення дистрофічних процесів супроводжувалось також появою осередків дисконкомплексації балочок, втратою міжклітинних зв'язків, набряком, облітерацією синусоїдів, посиленням реакції печінкових макрофагів. Незважаючи на наявність нормальних біохімічних показників та відсутність інфікованості вірусами гепатиту В і С, у 16 донорів печінки з 44 виявили морфологічні зміни, характерні для вірусного ушкодження, що не виключає ураження печінки вірусами Herpesviridae. Активність дистрофічно-запальних змін за шкалою METAVIR становила A0 та A1, а в 1 випадку була розцінена як A2.

Каріометрія дозволяє об'єктивно охарактеризувати дистрофічний процес в печінці і, відповідно, печінково-клітинну недостатність у донорів [9–11]. Дистрофічні зміни в цитоплазмі гепатоцитів супроводжувались змінами в будові ядер. В I групі ядра гепатоцитів досить мономорфні, округлої форми, з чіткими контурами та характерно розподіленим хроматином. У II групі спостерігалось збільшення кількості великих гіперхромних або гіпохромних ядер. Поліморфізм ядер поступово зростав в III та IV групах головним чином за рахунок збільшення кількості дрібних ядер, диспластичні процеси супроводжувались появою надвеликих гіперхромних ядер. В V групі система ядер набувала надмірної мономорфності за рахунок накопичення дрібних ядер. Загалом, візуально зменшення розмірів та різке посилення поліморфізму ядер гепатоцитів спостерігалось у 36,4 % донорів III–V груп.

Дослідження показників площі та яскравості ядер гепатоцитів виявило значні їх коливання: в межах від 10 до 100 мкм<sup>2</sup> — площа, в межах від 60 до 200 у. о. — яскравість.

За критерієм Ст'юдента достовірні відмінності за показником площі були виявлені між I і IV та I і V групами: I група —  $(54,18 \pm 4,80)$  мкм<sup>2</sup>, IV група —  $(30,19 \pm 5,60)$  мкм<sup>2</sup>,  $p < 0,05$ ; V група —  $(16,87 \pm 6,40)$  мкм<sup>2</sup>,  $p < 0,001$ ; за показником яскравості достовірні відмінності виявлені не були. Лише оптимальне квантування показників дозволило виявити суттєві відмінності між групами.

Характеристики ядер гепатоцитів за показником площі у різних групах дослідження представлено на рис. 1. В I та II групах з мінімальними дистрофічними змінами більше 85 % складають ядра, які належать до sB типу (нормальні). Ядра гепатоцитів sA типу не перевищують 25,3 %, а sC типу — 1,2–10,0 %. В III–V групах кількість ядер sA типу достовірно зростає до 52,9–57,6 % ( $p < 0,05$ ); кількість ядер sC типу в V групі достовірно зростає до 16,0 % ( $p < 0,05$ ).

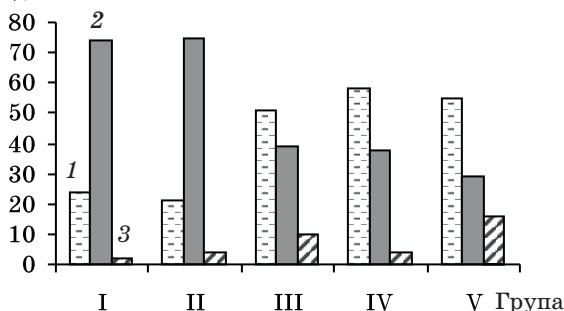


Рис. 1. Характеристика розподілу різних типів ядер гепатоцитів печінки донорів за показником площі: 1 — sA; 2 — sB; 3 — sC

Таким чином, система ядер за ознакою площі за наявності мінімальних дистрофічно-запальних змін є достатньо мноморфною та стабільною з переважанням ядер sB типу. Посилення дистрофічних та запальних процесів супроводжується посиленням поліморфізму системи та накопиченням ядер sA типу. За максимальної вираженості дистрофічно-запального процесу (V група) достовірно зростає частка ядер sC типу.

Аналогічна закономірність простежується на рис. 2 — в I та II групах з мінімальними дистрофічними змінами 85,2 % ядер належать до intB типу (нормальні). В III групі частка ядер intA та intC типу зростає в 1,5–2,0 рази. В IV групі значно посилюється поліморфізм і зростає частка ядер intC типу. Для V групи характерним є надмірне (83,3 %) накопичення ядер intA типу. І хоча це спостереження є єдиним в V групі, його результат цілком співпадає з результатами попередніх досліджень, які показали наявність тісного зв'язку між вираженістю біл-

ково-гідропічної дистрофії та змінами структури системи ядер. Така реакція є типовою відповіддю на вплив інтоксикації, гіпоксії та прямого вірусного ураження [9].

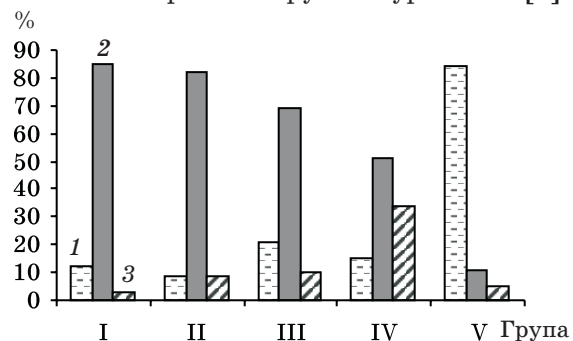


Рис. 2. Характеристика розподілу різних типів ядер гепатоцитів печінки донорів за показником яскравості: 1 — intA; 2 — intB; 3 — intC

Таким чином, у можливих донорів печінки за наявності нормальних клініко-лабораторних показників та відсутності вірусів гепатитів B і C під час морфологічного дослідження біоптатів у 25,0 % випадків був виявлений фіброз портальних просторів різного ступеня вираженості, головним чином F1. В 1 випадку спостерігались значні фіброзні зміни (F3), що робило недоцільним використання такої печінки для трансплантації.

У 20,5 % випадків мала місце запальна інфільтрація портальних просторів, а в 1 випадку спостерігалось інтралобулярне дифузне підгостре запалення.

Основним гістологічним феноменом, який зумовлює печінково-клітинну недостатність і є морфологічним еквівалентом функціонального стану печінки, є білково-гідропічна дистрофія, яка спостерігається за наявності прямого вірусного ураження, інтоксикації, гіпоксії. Використання каріометрії дозволяє об'єктивізувати оцінку її вираженості, оскільки прогресування білково-гідропічної дистрофії супроводжується суттєвими змінами структури системи ядер гепатоцитів з посиленням поліморфізму системи і накопиченням маргінальних типів ядер. Суттєвою перевагою каріометрії є системність оцінки змін ядер гепатоцитів незалежно від візуальних характеристик печінки, що може бути використано навіть за наявності неадекватних біопсій.

Виявлений комплекс дистрофічно-запальних та фіброзних змін у печінці різного ступеня вираженості, в тому числі з активністю процесу A1F3, свідчить про вірусне ураження печінки, що за відсутності вірусів

гепатиту С та В не виключає ушкодження печінки вірусами герпетичної групи. Такі зміни були виявлені у 36,4 %, що вказує на

необхідність обов'язкових морфологічних досліджень печінки донорів на дотрансплантаційному етапі.

#### Список літератури

1. Современные аспекты трансплантации части печени от живого родственного донора в Украине / О. Г. Котенко, А. О. Попов, А. А. Коршак [и др.] // Трансплантология. — 2008. — Т. 10, № 1. — С. 194–200.
2. Котенко О. Г. Трансплантационные технологии в лечении опухолей печени / О. Г. Котенко // Трансплантология. — 2008. — Т. 10, № 1. — С. 209–216.
3. French METAVIR Cooperative Study Group. Intra observer and interobserver variations in liver biopsies in patients with chronic hepatitis C // Hepatology. — 1994. — V. 20. — P. 15–20.
4. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis / R. G. Knodell, K. G. Ishak, W. C. Black [et al.] // Hepatology. — 1981. — V. 4. — P. 431–435.
5. Кимбл Дж. Как правильно пользоваться статистикой / Дж. Кимбл. — М. : Финансы и статистика, 1982. — 294 с.
6. Боровиков В. STATISTICA. Искусство анализа данных на компьютере / В. Боровиков. — СПб. : Питер, 2003. — 688 с.
7. Statistical methods in biological and medical sciences / ed. by C. R. Rao, R. Chakraborty. — Elsevier, 1991. — 554 p.
8. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. — М. : Медиа Сфера, 2002. — 312 с.
9. Донцова Л. С. Кариометрические характеристики печени при ишемии / Л. С. Донцова // Судинні і онкологічні захворювання: морфогенез та екологічний патоморфоз : 6-й Конгрес патологів України : матеріали конгресу. — Вінниця, 1998. — С. 272–273.
10. Визначення діагностичної ефективності морфометричних параметрів / І. В. Гомоляко, К. П. Тумасова, І. О. Швадчин [та ін.] // Вісник морфології. — 2004. — № 10 (1). — С. 35.
11. Кількісні методи в порівняльній оцінці морфологічних змін в печінці при хронічному гепатиті С, доброякісних та злоякісних її новоутвореннях / І. В. Гомоляко, О. Г. Котенко, В. І. Янченко [та ін.] // Лабораторна діагностика. — 2009. — № 2 (48). — С. 28–32.

#### **И.В. Гомоляко, И.В. Григорова, Н.Е. Клочкова, Л.С. Донцова, И.А. Швадчин** МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕЧЕНИ ДОНОРОВ

Морфологические признаки вирусного поражения печени выявлены у 36,4 % клинично здоровых доноров при отсутствии вирусом гепатита С и В. Это свидетельствует об обязательности морфологических исследований печени доноров на дотрансплантационном этапе. Целесообразно использование кариометрии как объективного критерия морфофункционального состояния печени.

**Ключевые слова:** гепатоцит, печень, трансплантация, морфометрия, гидрорическая дистрофия.

#### **I.V. Gomolyako, I.V. Grigorova, N.Ye. Klochkova, L.S. Dontsova, I.O. Shvadchin** MORPHOLOGIC CHARACTERISTICS OF THE DONOR'S LIVER

Morphological signs of viral hepatitis are revealed in 36,4 % of clinically healthy donors of liver without VHC and VHB. This fact highlights the need for obligatory morphologic investigations of donors' liver before transplantation. It would be appropriate to use karyometry as objective criterion of morphofunctional state of liver.

**Key words:** hepatocytos, hepar, transplantation, morphometry, hydropic degeneration.