

УДК 616.36-053.2.004-002:572.7

**МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ В ПЕЧІНЦІ ПРИ МІКСТ-ІНФЕКЦІЇ:
ХРОНІЧНИЙ ГС ТА ХРОНІЧНА АКТИВНА ІНФЕКЦІЯ ЕПШТЕЙНА-БАРР**

Г.М. Дубинська¹, Т.Д. Задорожна², В.А. Боднар¹, О.М. Ізюмська¹, О.М. Минак¹

¹Українська медична стоматологічна академія, м.Полтава;

²Інститут педіатрії, акушерства і гінекології АМН України, м. Київ

Ключові слова: мікст- гепатит, хронічний гепатит С, Епштейна-Барр інфекція.

**Морфологические изменения в печени при микст-инфекции:
хронический ГС и хроническая активная инфекция Эпштейна-Барр**
Г.М. Дубинская, Т.Д. Задорожная, В.А. Боднар, О.М. Изюмская, О.М. Минак

Представлены результаты изучения 17 биоптатов печени от больных хроническим гепатитом С, у шести из них была коинфекция HCV–EBV. Гистологические изменения у больных с коинфекцией были значительно более выраженными и проявлялись воспалительной инфильтрацией в перипортальных, паренхимальных и портальных областях, лимфоидной реакцией в портальной области и неравномерной регенерацией гепатоцитов.

Ключевые слова: микст-гепатит, хронический гепатит С, Эпштейна-Барр инфекция.

Morphological changes in the liver in patients with dual infection – chronic hepatitis C and chronic active Epstein-Barr virus infection

H.M. Dubyns'ka, T.D. Zadorozhnyay, V.A. Bodnar, O.M. Izums'ka, O.M. Mynak

Little information is available in the international scientific or medical literature about hepatitis C virus (HCV) and Epstein-Barr virus (EBV) interaction. To delineate the morphologic features in the liver we studied biopsy specimens from 17 patients with chronic hepatitis C (six of them were HCV- EBV- coinfectd). The histological features of the HCV- EBV- coinfectd patients showed significantly more severe inflammatory cell infiltration in the periportal, parenchymal, and portal areas, lymphoid reaction in the portal area and irregular regeneration of hepatocytes

Keywords: mixt-hepatitis, chronic hepatitis C, Epstein-Barr virus infection.

Актуальність проблеми. Зростання поширеності гепатотропних вірусів і, відповідно, збільшення рівня захворюваності на хронічні вірусні гепатити у всьому світі спонукає до поглибленого вивчення механізмів хронізації та прогресивного перебігу захворювання з метою розробки нових ефективних засобів лікування та профілактики.

За даними літератури, хронічні гепатити, зумовлені мікст-інфекцією, діагностуються майже у 15% хворих з хронічними дифузними ураженнями печінки. Етіологічним чинником мікст-форм хронічних вірусних гепатитів переважно є вірус гепатиту С (ВГС) [1]. У науковій літературі з'явилися повідомлення про виявлення вірусу Епштейна-Барр (ЕБВ) у гепатобіоптатах 37% хворих з гепатоцелюлярною карциномою (ГЦК), асоційованою з ВГС [2]. Висловлюється думка, що саме ЕБВ сприяє розвитку ГЦК у хворих з хронічним гепатитом С (ХГС) [2,3]. Сьогодні обговорюється можливість посилення реплікації ВГС ядерним антигеном 1 вірусу Епштейна-Барр (ЕВНА1) [4]. Безумовно, у разі мікст-інфекції ХГС, поєднаному з хронічною активною Епштейна-Барр вірусною (ХАЕБВ-інфекція), патогенез ушкодження печінки має свої особливості, що потребують вивчення.

Мета дослідження: дослідити морфологічні зміни в печінці у хворих на ХГС, поєднаний з ХАЕБВ-інфекцією.

Матеріал та методи дослідження. Для реалізації поставленої мети обстежили 17 хворих на ХГС 1 в гено-

типу, з яких у 11 осіб ХГС діагностований як моноінфекція (І група), а у 6 – ХГС поєднаний з ХАЕБВ-інфекцією (ІІ група). Вік обстежених від 25 до 56 років (чоловіків – 13, жінок – 4). Тривалість хвороби – від 1 до 10 років.

ХГС та ХАЕБВ-інфекцію діагностували на підставі комплексу анамнестичних, клінічних, біохімічних, серологічних, молекулярно-біологічних показників [5], з обов'язковим виключенням інфікування іншими гепатотропними вірусами. Групи зіставлення були рівноцінні по статі, віку та тривалості захворювання.

Усім хворим зроблена пункційна біопсія печінки. Для гістологічного дослідження біоптати обробляли за загальноприйнятими методиками із забарвленням гематоксилін-еозином та пікрофуксином за методом Ван-Гізона [6]. РНК ВГС та ДНК ЕБВ у тканині печінки визначали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР).

Морфологічні дослідження проводили за протоколом, в якому враховували всі параметри змін гепатоцитів, визначали індекс гістологічної активності (ІГА) та гістологічний індекс склерозу (ГІС) [7]. Результати оцінювали у балах: 0 – змін не виявлено, 1 бал – у полі зору 30% змінених гепатоцитів, 2 бали – до 50%, 3 бали – більше 50%. Стан зірчастих клітин, а також проліферацію дуктул оцінювали аналогічно.

Зміни простору Діссе характеризували такими показниками: наявність розширеного простору без накопичення аморфного пластинчатого матриксу – 0 балів, накопичення

аморфного пластинчатого матриксу – 1 бал, накопичення без періодичності (4-12 нм) – 2 бали, наявність тонких колагенових фібрил (14-30 нм) – 3 бали, поява фібрил без чіткої періодичності – 4 бали, наявність зрілих колагенових фібрил (90-150 нм) – 5-6 балів та поява колагенових фібрил з чіткою періодичністю – 7 балів.

Запальну інфільтрацію портальних трактів визначали за шестибальною системою: 0 – інфільтрація відсутня, 1 бал – інфільтрація менша 1/3 портальних трактів, 2 – більша 1/3 портальних трактів, 3 – виражена інфільтрація всього портального тракту, 4-5 – наявність лімфоїдного фолікула у портальних трактах або всередині часток.

ІГА оцінювали за системою METAVIR з урахуванням наявності східчастих, лобулярних некрозів. Оцінювали ступінь склерозу за METAVIR (1996): 0 – фіброз відсутній; 1 бал – розширення портальних трактів без септ; 2 – розширення портальних трактів з поодинокими септами; 3 – численні септи без цирозу; 4 – цироз. За V. Desmet (1994): 0 балів – склероз відсутній; 1 бал – портальний і перипортальний склероз (оцінюється як слабкий); 2 – портальні септи (помірний склероз); 3 – портоцентральні септи (важкий склероз); 4 – монолобулярний, мультилобулярний, змішаний мономультилобулярний цироз.

Зміни у печінці, представлені у балах, мали дискретний характер розподілу. Тому для оцінки результатів дослідження застосовували непараметричні методи аналізу – критерій Манна-Уїтні [8]. Відмінності вважали

вірогідними при $p < 0,05$.

Результати дослідження та обговорення. Для морфологічної верифікації гепатиту використовували загальноприйняті критерії: наявність ушкоджень гепатоцитів, жирової та гідропічної дистрофії, ацидофільних тілець Каунсільмена, гетерогенності гепатоцитів, активацію синусоїдальних клітин, показники ІГА та ГІС.

Встановлено, що у переважній більшості пацієнтів I групи (63,6%) некротичні зміни у печінці характеризувалися східчастим некрозом різної глибини деструкції; у частини з утворенням апоптичних тілець Каунсільмена. Такі зміни, зазвичай, описують як апонекротичні [9].

Поодинокі тільця Каунсільмена (1 бал) були у всіх хворих на ХГС. Крупно- та дрібнокрапельна вогнищева жирова дистрофія гепатоцитів (її вважають наслідком прямої цитопатичної дії ВГС [1], в основі розвитку якої лежить дезорганізація ферментативних процесів у цитоплазмі гепатоцитів з порушенням синтезу апопротеїну [10]), в обстежених I-ої групи характеризувалася мінімальною (18,2%) або помірною (9,1%) вираженістю.

Гідропічна дистрофія, яку розглядають як вогнищевий коліквацийний некроз, що виникає внаслідок порушення водно-електролітного обміну [6], виявлялася у 90,9% хворих I-ої групи, у цитоплазмі гепатоцитів були дрібні вакуолі. У більшості встановлена гетерогенність гепатоцитів: двоядерність (72,7%), збільшення розмірів ядра та розширення ядерної мембрани (81,8%).

Зірчасті клітини печінки (Іто, ліпоцити, перисинусоїдальні) є основними фіброгенними. Їх активація та проліферація – провідний механізм фіброгенезу, який триває безперервно і викликає прогресуючі зміни клітин та деградацію нормального позаклітинного матриксу з накопиченням фібрилярного або рубцевого матеріалу у просторі Діссе. Ці процеси різного ступеня інтенсивності були у 90,9% хворих I-ої групи.

Типова для ХГС лімфоцитарна інфільтрація була у всіх обстежених з I-ої групи. У 54,5% хворих вона мала слабкий ступінь з ІГА в 1 бал, у 27,2% – помірний (ІГА – 2 бали) та у 18,2% – виражений з утворенням лімфоїдних скупчень за типом фолікулів (ІГА – 3-4 бали).

Склеротичні зміни були у всіх хворих на ХГС. Так, у 54,5% обстежених з I-ої групи спостерігався слабкий склероз порталних трактів, у 45,5% – помірний з формуванням портопортальних септ. У 63,6% хворих мала місце капіляризація синусоїдів, ущільнення або склероз дуктул та стінок центральної вени.

Отже, ХГС-моноінфекція має такі патогномонічні морфологічні критерії: апонекротичні та структурні зміни гепатоцитів, жирова та гідропічна дистрофія, лімфоцитарна інфільтрація різної локалізації з утворенням скупчень за типом лімфоїдних фолікулів, активація та проліферація синусоїдальних клітин; проліферація, склероз та деструкція дуктул.

Морфологічні зміни у печінці хворих з мікст-патологією (II-а група) також мали чіткі ознаки ХГС. Так, схід-

часті некрози гепатоцитів виявлені у 66,7% хворих, тільця Каунсільмена у великій кількості (2–3 бали) мала третина хворих (33,3%), що свідчить про інтенсивніші, порівняно з I-ою групою, апонекротичні зміни. У всіх хворих II групи, аналогічно першій, були дистрофічні зміни гепатоцитів, які також характеризувалися жировою (1 бал – 100%) та гідропічною дистрофією (1 бал – 33,3%, 2-3 бали – 66,7%). У всіх гепатобіоптатах хворих (100%) з мікст-інфекцією виявлялася гетерогенність гепатоцитів – двоядерність та збільшення ядра, що вважається компенсаторно-регенеративною ознакою [6]. Проте, сьогодні висловлюється думка про роль ЕБВ у посиленні проліферації, стимуляції бластогенезу та трансформації клітин, отриманих від ВГС-позитивних пацієнтів [3].

Внутрішньочасточкова запальна інфільтрація, яку вважають характерною для ХГС [1], наявна у всіх хворих II-ої групи (100%). ІГА в 1 та 2 бали мали по 33,3% хворих, ще у третини запальна інфільтрація розцінена як виражена, з утворенням лімфоїдних скупчень за типом фолікулів (ІГА 3–4 бали). Наслідки активного внутрішньочасточкового запалення у вигляді невеликих ділянок зрілої фіброзної тканини з залишковою інфільтрацією є у всіх обстежених II групи. Лімфоїдно-макрофагальні накопичення поєднувалися в них з активацією і проліферацією синусоїдальних клітин та лімфоцитозом у просвіті синусоїдів (у 33,3% хворих оцінені в 2–3 бали).

Склеротичні зміни різного ступеня інтенсивності властиві всім хворим II-ої групи. Так, мінімальні, помірні та

важкі склеротичні зміни у гепатобіоптатах осіб з мікст-патологією діагностували з однаковою частотою – 33,3%. Характерне формування порто-портальних та порто-центральных септ, перихолангіальний склероз, виражена проліферація дуктул та капіляризація синусоїди (виявлені у 66,7% хворих).

Отже, отримані дані свідчать що морфологічні зміни в печінці хворих

з мікст-інфекцією типові для ХГС, але за ступенем вираженості окремих проявів – запальна інфільтрація, апонекротичні зміни, гетерогенність гепатоцитів – вони відрізняються від моноінфекції. Порівняльний аналіз морфологічних змін у гепатобіоптатах від хворих на ХГС та мікст-інфекцію (ХГС+ХАЕБВ) підтвердив цей висновок (табл.1).

Таблиця 1.

Показники бальної оцінки основних морфологічних змін у хворих на ХГС та ХГС+ХАЕБВ-інфекції ($x \pm \sigma$)

Параметр	ХГС	ХГС+ХАЕБВ	p
Некрози гепатоцитів	0,5 ±0,5	1,0 ±0,0	<0,05
Гепатоцити двоядерні	0,5 ±0,5	1,6 ± 0,4	<0,05
Гепатоцити зі збільшеним ядром	0,6 ±0,4	1,0 ±0,8	>0,05
Дистрофія жирова	0,5 ±0,5	0,3 ±0,4	>0,05
Дистрофія гідропічна	1,5 ±0,9	1,3 ±0,4	>0,05
Тільця Каунсільмена	1,0 ±0	1,3 ±0,4	>0,05
Активация синусоїдних клітин	1,0 ±0,5	1,3 ±0,4	>0,05
Проліферація синусоїдних клітин	1,0 ±0,5	1,3 ±0,4	>0,05
Проліферація дуктул	1,0 ±0,5	1,3 ±0,4	>0,05
Зміни простору Діссе	1,3±0,7	1,6 ±0,4	>0,05
ПА	1,0 ±0	2,6 ±1,2	<0,05
ПІС	1,6 ± 0,4	2,0 ±0,8	>0,05

Як видно з табл. 1, вираженість порталних та інтралобулярних некрозів, інтенсивність структурних змін гепатоцитів та лімфоцитарної інфільтрації у хворих на ХГС і ХГС+ХАЕБВ вірогідно відрізняються.

ХГС, поєднаний з ХАЕБВ-інфекцією, характеризується інтенсивнішими апонекротичними та запальними змінами, гетерогенністю гепатоцитів, що обумовлює необхідність подальшого вивчення патогенезу цієї патології.

Література

1. Филимонов П.Н., Гаврилова Н.И., Ольховикова Е.А. и др. Сравнительная морфология хронического сочетанного вирусного гепатита В+С и моногепатитов В и С у детей // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. – 2001. – № 2. – С. 54–61.
2. Wei Li, Bao-An Wu, Yong-Ming Zen et al. Epstein-Barr virus in hepatocellular carcinogenesis // World J Gastroenterol. – 2004. –10 (23). P. 3409–3413.
3. Ji Lin Cheng, Bao Ling Liu, Yi Zhang et al. Hepatitis C virus in human B lymphocytes transformed by Epstein-Barr virus in vitro by in situ reverse transcriptase-polymerase chain reaction // World J Gastroenterol.– 2001.– 7(3).–370 – 375.
4. Sugawara Y, Makuuchi M, Kato N, Shimotohno K, Takada K. Enhancement of hepatitis C virus replication by Epstein-Barr virus-encoded nuclear antigen 1// EMBO J. – 1999. – Vol.18, №. 20. – P. 5755–5760.
5. Возіанова Ж.І. Інфекційні та паразитарні хвороби: В 3 т. – К.: Здоров'я, 2001.
6. Логвинов А.С., Аруин Л.И. Клиническая морфология печени. – М.: Медицина, 1985. – С. 240
7. Лукьянова Е.Н., Задорожная Т.Д. Сравнительная морфологическая характеристика биоптатов печени у детей с хроническими вирусными гепатитами В и С // Журн. Доктор. – 2002. – № 3. – С. 75–78.
8. Справочник по прикладной статистике: В 2 т. /Под ред. Э. Ллойда, У. Ледермана. – М.: Финансы и статистика, 1989.
9. Лук'янова О.М., Березенко В.С., Задорожна Т.Д. Морфологічні, ультраструктурні та імуногістохімічні особливості апонекрозу і апоптозу в гепатоцитах при хронічних вірусних гепатитах у дітей // Перинатологія і педіатрія. – 2006. – № 2 (26). – С. 59–63
10. Лук'янова О.М., Задорожна Т.Д., Денисова М.Ф. Клініко-морфологічні особливості склерогенезу печінки у дітей, хворих на хронічні гепатити // Журн. АМН України. – 2003. – Т. 9, № 2. – С. 72–81.