

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ У ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ МУЛЬТИОРГАННЫХ ДОНОРОВ СО СМЕРТЬЮ МОЗГА

УДК 616.36—089.843—092

Поступила 2.08.2011 г.

© **Л.В. Шкалова**, зав. патологоанатомическим отделением¹;
В.Е. Загайнов, к.м.н., зав. кафедрой хирургии ФОИС²; главный специалист по хирургии¹;
С.А. Васенин, зав. хирургическим отделением трансплантации органов¹;
М.Г. Минина, руководитель³;
И.М. Ильинский, д.м.н., профессор, руководитель отдела клинической патологии⁴;
О.М. Цирульникова, д.м.н., главный научный сотрудник⁴

¹Приволжский окружной медицинский центр ФМБА России, Н. Новгород;

²Нижегородская государственная медицинская академия, Н. Новгород;

³Московский координационный центр органного донорства, Москва;

⁴Федеральный научный центр трансплантологии и искусственных органов им. академика В.И. Шумакова, Москва

Цель исследования — разработка патоморфологических критериев оценки состояния печени у потенциальных мультиорганночных доноров со смертью мозга для уменьшения субъективности при исключении донорских органов.

Материалы и методы. Проведено гистологическое исследование 30 биоптатов печени эффективных и 30 — неэффективных потенциальных посмертных доноров. Срезы ткани печени окрашивали гематоксилином и эозином, трихромом по Массону, проводили PAS-реакцию. Для анализа гистологических препаратов использовали систему компьютерной количественной морфометрии и статистические методы исследования.

Результаты. Разработан протокол морфологической оценки печени потенциального посмертного донора. В соответствии с ним патологию печени доноров следует оценивать по восьми гистологическим критериям (стеатоз, белковая дистрофия и некроз гепатоцитов; эндотелиит центральных вен; эндартериит, флебит и воспалительная инфильтрация в портальных трактах; фиброз печени). Установлено, что у эффективных доноров по сравнению с неэффективными статистически значимо ниже процент стеатоза ($p < 0,001$), белковой дистрофии ($p < 0,001$) и некроза гепатоцитов ($p < 0,001$); менее выражены степень воспалительной инфильтрации ($p < 0,001$), флебита ($p = 0,028$) и эндартериита ($p = 0,028$) в портальных трактах и степень фиброза печени ($p < 0,001$).

Ключевые слова: потенциальный посмертный донор печени, морфологическое исследование.

English

Pathologic criteria to estimate the state of the liver in potential multi-organ donors with brain death

L.V. Shkalova, Head of the Department of Morbid Anatomy¹;
V.E. Zagainov, PhD, Head of the Department of Surgery, FOA²; Chief Specialist on Surgery¹;
S.A. Vasenin, Head of the Department of Surgery Organ Transplantation¹;
M.G. Minina, Chief³;
I.M. Ilyinsky, D.Med.Sc., Professor, Head of the Department of Clinical Pathology⁴;
O.M. Tsurulnikova, D.Med.Sc., Chief Research Worker⁴

¹Volga Regional Medical Center of the FMBA of Russia, Nizhny Novgorod;

²Nizhny Novgorod State Medical Academy, Nizhny Novgorod;

³Moscow Coordination Centre of Organ Donation, Moscow;

⁴Federal Scientific Centre of Transplantation and Artificial Organs named after Academician V.I. Shumakov, Moscow

Для контактов: Шкалова Любовь Владимировна, тел. моб. +7 903-848-51-97; e-mail: L_Shkalova@mail.ru

The aim of the investigation is to develop pathologic criteria to estimate the condition of the liver in potential multi-organ donors with brain death to decrease the subjectivity when excluding donor's organs.

Materials and Methods. There has been carried out the histological study of 30 effective liver biopsy samples and 30 non-effective biopsy material of potential postmortal donors. Liver tissue sections were stained by hematoxylin and eosin, using Masson's Trichrome staining, and PAS stain. To analyze histological material there have been used the computer quantitative morphometry system and statistical techniques.

Results. The protocol of morphological estimation of the liver of potential postmortal donor was developed. According to the protocol, donors' liver pathology is to be estimated by eight histological criteria (steatosis, proteinosis and necrosis of hepatocytes; endotheliitis of central veins; endarteritis; phlebitis and inflammatory infiltration in portal tracts; hepatic fibrosis). Effective donors compared to non-effective ones were stated to have statistically significantly lower percentage of steatosis ($p<0.001$), proteinosis ($p<0.001$) and necrosis of hepatocytes ($p<0.001$); and there were less expressed the degree of inflammatory infiltration ($p<0.001$), phlebitis ($p=0.028$) and endarteritis ($p=0.028$) in portal tracts and the degree of hepatic fibrosis ($p<0.001$).

Key words: potential postmortal liver donor, morphological investigation.

Успех трансплантации печени во многом зависит от использования для пересадки функционально полноценного донорского органа [1, 2]. При оценке пригодности донорской печени для трансплантации предпочтительно проведение морфологического исследования. Известно, что биоптат печени считается адекватным, если в гистологических срезах в среднем не менее 10 портальных трактов при длине биоптата от 1 до 1,5 см [3, 4]. Гистологическое исследование донорской печени должно включать в себя оценку степени и характера поражения гепатоцитов, клеточной инфильтрации и фиброза [5], но четкой информации о морфологических критериях в литературе не представлено. До сих пор большинство трансплантологов интересуется лишь процентом стеатоза в печени потенциальных посмертных доноров как основной критерий пригодности органа для пересадки [6–10].

Цель исследования — разработка патоморфологических критериев оценки состояния печени у потенциальных мультиорганных доноров со смертью мозга для уменьшения субъективности при исключении донорских органов.

Материалы и методы. Проведено гистологическое исследование 60 биоптатов печени, выполненных на сохраненном кровотоке от 60 потенциальных посмертных доноров (41 — мужчины, 19 — женщины) в возрасте от 19 до 69 лет (средний возраст — $45,7 \pm 1,6$ года). Причиной смерти мозга у 37 человек было острое нарушение мозгового кровообращения, у 23 — черепно-мозговая травма. Потенциальные посмертные доноры были разделены на две группы: эффективные (ЭД) — 30 и неэффективные (НД) — 30. Группы ЭД и НД сравнивались между собой по морфологическим изменениям в биоптатах печени. Для гистологического исследования препараты окрашивали гематоксилином и эозином, трихромом по Массону, проводили PAS-реакцию с последующим изучением на микроскопе Leica DM 5000 и использованием системы ImageScore M. Данные обрабатывали при помощи лицензионной программы Statistica/W, программного обеспечения StatEx-2004.2 и электронных таблиц Excel и представляли в виде $M \pm m$, где M — средняя арифметическая вариационного ряда, m — ошибка средней арифметической. При нормальном распределении результаты оценивали с помощью критерия Стьюдента для независимых или связанных выборок, при отсутствии нормального (параметричес-

кого) распределения — с помощью критерия Крускала–Уоллиса.

Результаты и обсуждение. На основании собственного опыта был выбран блок количественных и полуколичественных оценочных критериев, охватывающих состояние гепатоцитов, кровеносных сосудов, портальных трактов и выраженность воспалительной инфильтрации в печени. Для этого изучены: процент стеатоза, белковой дистрофии, некроза и холестаза гепатоцитов; степень эндотелиита в центральных венах; степень флебита, эндартериита, фиброза стенки печеночных артерий и воспалительной инфильтрации в портальных трактах; а также стадия фиброза в печени (по системе METAVIR).

На сегодняшний день наиболее обсуждаемым противопоказанием к трансплантации печени является масштаб макровезикулярного стеатоза у потенциального посмертного донора, так как сочетание тяжелой степени стеатоза с ишемически-реперфузионным повреждением повышает риск дисфункции аллотрансплантированной печени [11–13]. Полученные нами данные свидетельствуют, что в группе НД не только процент стеатоза, но и процент белковой дистрофии и некроза гепатоцитов были статистически значимо выше по сравнению с группой ЭД (табл. 1, рис. 1–3).

При сравнении процента холестаза в исследуемых группах статистически значимых различий мы не обнаружили ($p>0,05$). Внутриклеточный холестаз в биоптатах у ЭД встретился в 11 наблюдениях (36,7%) и составил от 1–3,5%, у НД — в 9 наблюдениях (30%), был более выражен, но так же, как и в группе ЭД, не превышал 3,5%.

Т а б л и ц а 1

Сравнительная характеристика количественных морфологических критериев патологии гепатоцитов у эффективных и неэффективных потенциальных посмертных доноров ($M \pm m$)

Критерий, %	НД (n=30)	ЭД (n=30)	p
Стеатоз	$56,50 \pm 5,69$	$8,90 \pm 1,75$	$<0,001$
Белковая дистрофия	$59,07 \pm 4,86$	$26,50 \pm 3,67$	$<0,001$
Некроз	$11,26 \pm 0,86$	$1,06 \pm 0,28$	$<0,001$
Холестаз	$2,15 \pm 0,46$	$2,91 \pm 0,46$	0,262

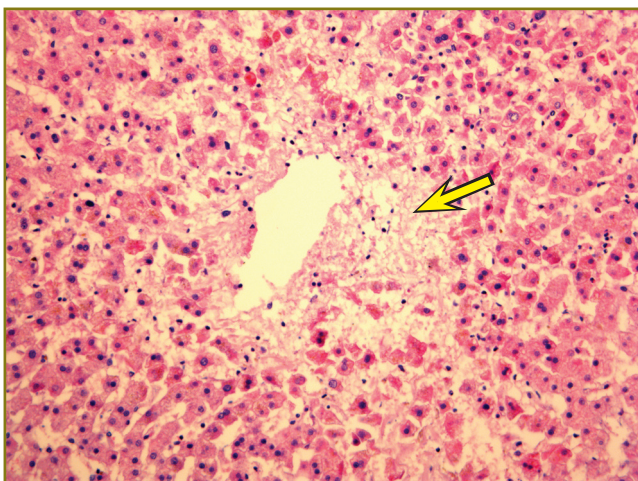


Рис. 1. Печень неэффективного потенциального посмертного донора. Некроз гепатоцитов в 3-й зоне ацинуса (желтая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

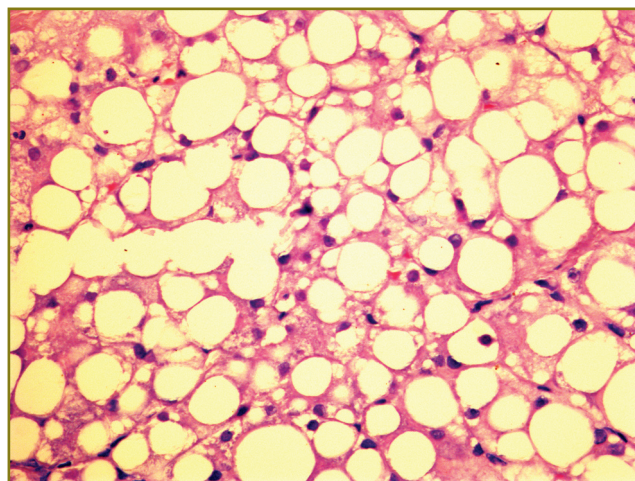


Рис. 2. Печень неэффективного потенциального посмертного донора. Диффузный макро- и микровезикулярный стеатоз. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

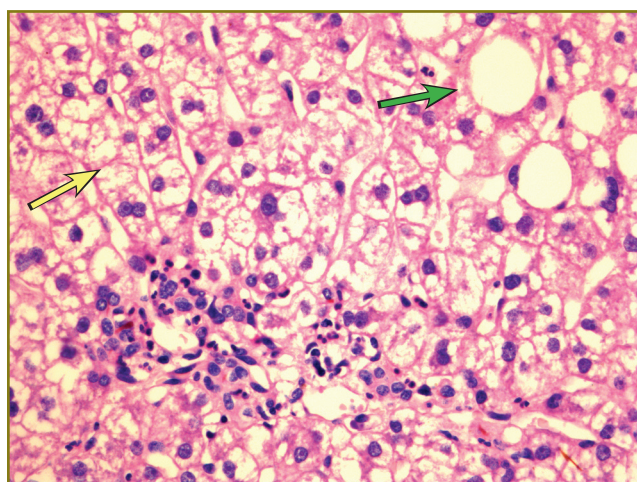


Рис. 3. Печень неэффективного потенциального посмертного донора. Диффузная белковая дистрофия гепатоцитов вплоть до гидропической (желтая стрелка), очаговый макро- и микровезикулярный стеатоз (зеленая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

Ряд морфологических критериев печени у потенциальных посмертных доноров (степень эндартериита, флебита и воспалительной инфильтрации в портальных трактах, степень эндотелиита в центральных венах) в доступной нам литературе не освещен. В настоящее время воспалительную инфильтрацию в печени у потенциальных посмертных доноров рассматривают в неразрывной связи с фиброзом печени и как следствие вирусных гепатитов. По данным многих исследователей [14–17], получены неудовлетворительные результаты ортотопической трансплантации печени, особенно у HCV-позитивных доноров, при сочетании фиброза стадий F3–F4 с диффузной воспалительной инфильтрацией. С целью изучения и стандартизации указанных морфологических параметров в биоптатах печени мы разработали полуколичественный метод оценки (табл. 2).

В результате проведенного исследования установлено, что большинство полуколичественных морфологических критериев (эндартериит, флебит и воспалительная инфильтрация в портальных трактах) у ЭД или отсутствовали, или были выражены слабее по сравнению с группой НД (рис. 4). Статистическая обработка материала подтвердила эти различия (табл. 3).

При оценке степени центрального эндотелиита и фиброза стенки печеночной артерии субъективно складывалось впечатление, что в группе НД (рис. 4, 5) указанные изменения более выражены по сравнению с группой ЭД (рис. 6). Однако морфометрическое исследование с последующей статистической обработкой результатов не выявило статистически значимых различий в группах ($p > 0,05$).

Для оценки фиброза в биоптатах печени у ЭД и НД мы использовали систему оценки METAVIR [18].

Таблица 2

Полуколичественный метод оценки ряда морфологических критериев патологии печени у потенциальных посмертных доноров

Критерий	Оценка	Балл
Воспалительная инфильтрация в портальных трактах	Отсутствие	0
	Легкая степень (преимущественно лимфоцитарное воспаление в меньшей части триад)	1
	Умеренная степень (смешанный воспалительный инфильтрат из лимфоцитов, полиморфно-ядерные лейкоциты в большей части триад)	2
	Тяжелая степень (то же, что для умеренной степени, с вовлечением перипортальных зон)	3
Флебит в портальных трактах	Отсутствие	0
	Легкий/умеренный (воспаление до 25% периметра поперечного сечения вены)	1
	Тяжелый (воспаление более 25% периметра поперечного сечения вены)	2
	Некроз стенки вены и/или трансмуральный флебит	3
Эндартериит в портальных трактах	Отсутствие	0
	Легкий/умеренный (воспаление до 25% периметра поперечного сечения артерии)	1
	Тяжелый (воспаление более 25% периметра поперечного сечения артерии)	2
	Некроз стенки печеночной артерии и/или трансмуральный эндартериит с некрозом стенки	3
Фиброз стенки печеночных артерий	Отсутствие	0
	Сужение просвета сосуда до 25%	1
	Сужение просвета сосуда до 26–50%	2
	Сужение просвета сосуда более 50%	3
Эндотелиит центральных вен	Отсутствие	0
	Легкий/умеренный (воспаление до 25% периметра поперечного сечения вены)	1
	Тяжелый (воспаление более 25% периметра поперечного сечения вены)	2
	Некроз стенки центральной вены и/или трансмуральный центральный эндотелиит	3

Таблица 3

Сравнительная характеристика полуколичественных морфологических критериев состояния печени у эффективных и неэффективных потенциальных посмертных доноров (M±m)

Критерий	Баллы в группе НД (n=30)				Баллы в группе ЭД (n=30)				p
	0	1	2	3	0	1	2	3	
Воспалительная инфильтрация в портальных трактах	—	4	23	3	—	20	9	1	<0,001
Флебит в портальных трактах	20	10	—	—	27	3	—	—	0,028
Эндартериит в портальных трактах	20	10	—	—	27	3	—	—	0,028
Фиброз стенки печеночных артерий	25	5	—	—	22	8	—	—	0,355
Эндотелиит центральных вен	10	20	—	—	17	13	—	—	0,071

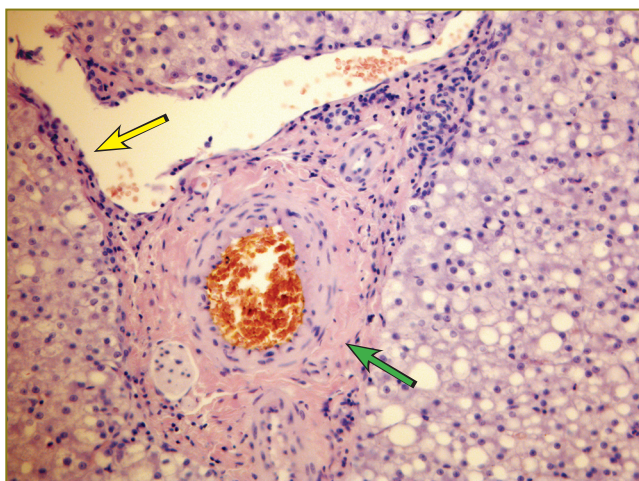


Рис. 4. Печень неэффективного потенциального посмертного донора. В портальном тракте — умеренная степень воспалительной инфильтрации (2 балла), флебит тяжелой степени (2 балла, желтая стрелка); полнокровие, эндартериит легкой степени (1 балл) и фиброз стенки печеночной артерии (2 балла, зеленая стрелка). Окраска гематоксилином и эозином. ×200

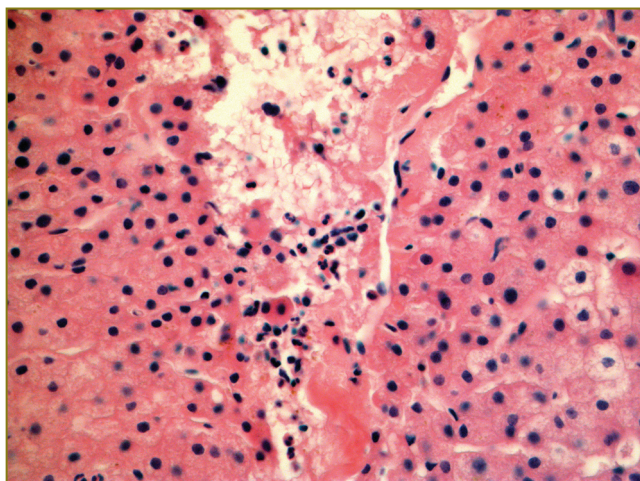


Рис. 5. Печень неэффективного потенциального посмертного донора. Центральный эндотелиит тяжелой степени (2 балла). Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$

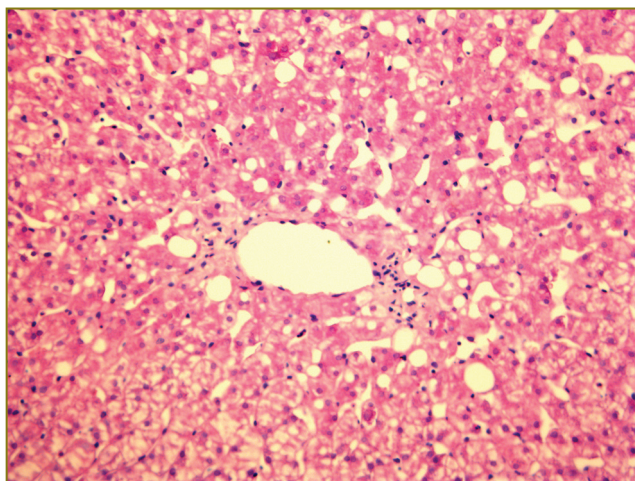


Рис. 6. Печень эффективного потенциального посмертного донора. Центральный эндотелиит легкой степени (1 балл). Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$

Таблица 4

Полуколичественная оценка фиброза печени у потенциальных посмертных доноров по системе METAVIR

Группы	Стадия фиброза портальных трактов				
	Отсутствует	F1	F2	F3	F4
НД (n=30)	2	12	13	2	1
ЭД (n=30)	16	12	2	—	—
p			<0,001		

Таблица 5

Протокол морфологической оценки печени посмертного донора

№ п/п	Морфологические признаки	Критерии	Балл
1	Стеатоз (0–3 балла)	Отсутствует	0
		I степень (до 33%)	1
		II степень (до 66%)	2
		III степень (более 66%)	3
2	Белковая дистрофия (0–3 балла)	Отсутствует	0
		Легкая степень (очаговая)	1
		Умеренная степень (очагово-диффузная)	2
		Тяжелая степень (диффузная гидропическая)	3
3	Некроз гепатоцитов (0–3 балла)	Отсутствует	0
		Единичные клетки	1
		Очаговый	2
		Обширный центролобулярный	3
4	Эндотелиит центральных вен (0–3 балла)	Отсутствует	0
		Легкий/умеренный (воспаление до 25% периметра поперечного сечения вены)	1
		Тяжелый (воспаление более 25% периметра поперечного сечения вены)	2
		Некроз стенки центральной вены и/или трансмуральный эндотелиит	3
5	Фиброз портальных трактов (0–4 балла)	Отсутствует	0
		F1	1
		F2	2
		F3	3
		F4	4

Продолжение табл. 5

№ п/п	Морфологические признаки	Критерии	Баллы
6	Воспалительная инфильтрация в портальных трактах (0–3 балла)	Легкая степень (преимущественно лимфоцитарное воспаление в меньшей части триад)	1
		Умеренная степень (смешанный воспалительный инфильтрат из лимфоцитов, полиморфно-ядерные лейкоциты в большей части триад)	2
		Тяжелая степень (то же, что для умеренной степени, с вовлечением перипортальных зон)	3
7	Эндартериит в портальных трактах (0–3 балла)	Отсутствует	0
		Легкий/умеренный (воспаление до 25% периметра поперечного сечения артерии)	1
		Тяжелый (воспаление более 25% периметра поперечного сечения артерии)	2
		Некроз стенки печеночной артерии и/или трансмуральный эндартериит с некрозом стенки	3
8	Флебит в портальных трактах (0–3 балла)	Отсутствует	0
		Легкий/умеренный (воспаление до 25% периметра поперечного сечения вены)	1
		Тяжелый (воспаление более 25% периметра поперечного сечения вены)	2
		Некроз стенки печеночной вены и/или трансмуральный флебит	3

ИТОГО: _____ (БАЛЛОВ) ОСОБЕННОСТИ: _____

ПАТОЛОГИЯ ДОНОРСКОЙ ПЕЧЕНИ: легкой степени (0–10 баллов); умеренной степени (11–15 баллов); тяжелой степени (16–25 баллов).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: _____

Ф.И.О. врача-патологоанатома _____ Подпись _____ Ф.И.О. лаборанта _____

Дата: _____ / _____ / 20 _____ г.

Из полученных результатов (табл. 4) следует, что в группе НД стадия фиброза печени достоверно выше, чем в группе ЭД ($p < 0,05$).

Учитывая существующие различия в оценке морфологической картины печени разными морфологами, а также тот факт, что при повторной оценке биоптата одним и тем же морфологом совпадения трактовки патологии составляют только 20% [19], мы разработали протокол морфологической оценки печени потенциального посмертного донора в баллах (табл. 5). Данный протокол хорошо воспроизводим и удобен при морфологическом определении пригодности донорской печени для пересадки, подразумевает учет восьми наиболее значимых гистологических параметров и основан на комплексном суммировании патологии донорской печени в баллах. При этом патология донорской печени умеренной и тяжелой степеней (сумма баллов свыше 10) в случаях положительного решения о пересадке такого органа требует повышенного внимания к пациенту в отношении развития у него ишемически-реперфузионного повреждения умеренной и тяжелой степеней в раннем посттрансплантационном периоде.

Заключение. Предложенный протокол полуколичественной оценки патологии донорской печени позволяет успешно проводить отбор эффективных доноров. Результаты проведенного исследования показали, что при морфологическом определении пригодности донорской печени для трансплантации кроме стеатоза и фиброза существуют и другие значимые критерии (белковая дистрофия и некроз гепатоцитов; эндотелиит центральных вен; эндартериит, флебит и воспалительная инфильтрация в портальных трактах).

Литература

1. Готье С.В., Константинов Б.А., Цирульникова О.М. Трансплантация печени. Руководство для врачей. М: ООО «Медицинское информационное агентство»; 2008; 248 с.
2. Ransford R., Gunson B., Mayer D. et al. Effect on outcome of the lengthening waiting list for liver transplantation. Gut 2000; 47: 441–443.
3. Demetris A.J., Ruppert K. Pathologist's perspective on liver needle biopsy size? J Hepatol 2003; 39(2): 275–277.
4. Bravo A., Seth S., Chopra S. Liver biopsy. N Engl J Med 2001; 344: 495–500.
5. Ravaioli M., Grazi G.L., Cescon M. et al. Liver transplantations with donors aged 60 years and above: the low liver damage strategy. Transplant International 2009; 22(4): 423–433.
6. Fernandez-Merino F.J., Nuno-Garza J., Lopez-Hervas P. et al. Impact of donor, recipient and graft features on the development of primary dysfunction in liver transplants. Transplant Proc 2003; 35(5): 1793–1794.
7. Ijaz S., Yang W., Winslet M.C. et al. Impairment of hepatic microcirculation in fatty liver. Microcirculation 2003; 10(6): 447–456.
8. Verran D., Dilworth P., Tang P., McCaughan G. Use of severely steatotic grafts in liver transplantation. Ann Surg 2008; 248(1): 142–144.
9. Verran D., Kussyk T., Painter D. et al. Clinical experience gained from the use of 120 steatotic donor livers for orthotopic liver transplantation. Liver Transpl 2003; 9(5): 500–505.
10. Feng S. Steatotic livers for liver transplantation-life-saving

- but at a cost. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2008; 5(7): 360–361.
11. Галанкина И., Зимина Л. Патологоанатомические аспекты аллотрансплантированных органов. В кн.: Трансплантация органов и тканей в многопрофильном научном центре. Под ред. М.Ш. Хубутия. М: АирАрт; 2011; с. 347–378.
 12. Непомнящих Д.Л., Айдагулова С.В., Непомнящих Г.И. Биопсия печени: патоморфогенез хронического гепатита и цирроза. М: Издательство РАМН; 2006; 368 с.
 13. Adani G.L., Vaccarani U., Sainz-Barriga M. et al. The role of hepatic biopsy to detect macrovascular steatosis during liver procurement. *Transplant Proc* 2006; 38(5): 1404–1406.
 14. Ермолов А.С., Чжао А.В., Гуляев В.А. и др. Возможности использования инфицированных трупных доноров для выполнения трансплантаций печени. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова* 2006; 3: 72–77.
 15. Saab S., Ghobrial R.M., Ibrahim A.B., Kunder G. et al. Hepatitis C positive grafts may be used in orthotopic liver transplantation: a matched analysis. *Am J Transplant* 2003; 3(9): 1167–1172.
 16. Salizzoni M., Franchello A., Zamboni F. et al. Marginal grafts: finding the correct treatment for fatty livers. *Transpl Int* 2003; 16(7): 486–493.
 17. Nocito A., El-Badry A.M., Clavien P.A. When is steatosis too much for transplantation? *Hepato* 2006; 45(4): 494–499.
 18. Bedossa P., Poynard T. An algorithm for the grading of activity in chronic hepatitis C. *Hepatology* 1996; 24: 289–293.
 19. Некрасова Т.П. Морфологическое исследование в оценке степени фиброза печени при хронических вирусных заболеваниях печени. *Гепатологический форум. Приложение к журналу «Клиническая фармакология и терапия»* 2007; 2: 11–13.