

ИННОВАЦИОННЫЕ МЕТОДЫ ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ХРОНИЧЕСКОГО ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В

Шешенна А.В.

Научный руководитель: д.м.н., проф. Сазонов С.В.

Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Росздрава», ГУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий» г.Екатеринбург

Вирус гепатита В (HBV) остается одним из основных этиологических факторов гепатоцеллюлярной карциномы печени, что поддерживает актуальность проблемы оценки иммуноопосредованного влияния антигенов вируса на повреждение клеток печени [12]. Наиболее распространенными в настоящее время методами этиологической диагностики хронического вирусного гепатита В (ХВГ В) являются серологический анализ и метод полимеразной цепной реакции. Гистологическое исследование печени при ХВГ В признано важным в оценке степени активности и стадии фиброза, при этом не всегда возможной и достоверной считается оценка этиологических маркеров HBV-инфекции в биопсийном материале. Однако существует и противоположное мнение по поводу значения морфологического метода в оценке этиологических факторов, основанное на высокой сопоставимости сывороточных и иммуногистохимических (ИГХ) тестов при параллельном определении маркеров гепатотропных вирусов В и С. Кроме того остается популярной гистохимическая реакция выявления HBsAg в цитоплазме гепатоцитов и синусоидальных клетках по методу Т.Шиката (1974), достоверность которой доказана иммуноморфологически [2]. Инфекция вирусом гепатита В уникальна тем, что после очищения крови от HBsAg, ответственного в том числе за проникновение вируса внутрь гепатоцита, инфект может надолго оставаться в печени [5]. В этой связи чрезвычайно актуальным является определение этиологических маркеров вируса в печени больных ХВГ В.

Цель исследования – оценить диагностическое значение гистохимической и иммуногистохимической верификации HBsAg в печени больных в хронической HBV-инфекцией.

Материал и методы исследования

В исследовании включены 126 пациентов с хронической моно-HBV-инфекции, с наличием в сыворотке крови HBsAg, проходивших обследование с проведением пункционной биопсии печени (к.м.н. Н.А.Серов). У пациентов, включенных в исследование, были установлены две основные клинические формы: хронический активный вирусный гепатит В либо «неактивное» носительство HBsAg. Морфологическое исследование гепатобиоптатов выполнено на базе ЦНИЛ ГОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Росздрава» (с.н.с., к.м.н. Н.Б.Крохина). Гепатобиоптаты подвергали стандартной гистологической обработке, в биоптате определяли индекс гистологической активности (ИГА) по Knodell R.G, степень фиброза с использованием гистологического индекса склероза (ГИС) по Desmet J.V. [4].

Иммуногистохимические исследования выполнены в лаборатории иммуногистохимии ГУЗ СО Институт медицинских клеточных технологий (зав. лаб. – д.м.н., проф. С.В.Сазонов) на депарафинизированных срезах гепатобиоптатов 40 больных с использованием автоматической системы Universal Staining System для проведения ИГХ окрашивания Autostainer Dako (Дания) и моноклональных мышиных антител Anti-Virus Hepatitis B Virus Surface Antigen (HBsAg, Clone:3E7, DakoCytomation) в рабочем разведении (1:30). Для ИГХ исследования материал фиксировали в 10% нейтральном формалине не более 24 ч., затем подвергали стандартной гистологической обработке. Демаскировка антигенных детерминант проводилась в миниавтоклаве Pascal (DakoCytomation), условия: 10 мин. при 15 psi (121°C) в Target Retrieval Solution (Dako, S1699). Используемая система визуализации: EnVision+ Dual Link System – HRP (Dako, K4061). Антигенреактивные клетки контрастировали хромогенным субстратом (3,3-диаминобензидин в буферном растворе - DAB). DAB-позитивные клетки идентифицировали по коричневому гранулярному окрашиванию цитоплазмы клеток. Проводили постановку негативного контроля на тех же срезах исследуемой группы. Оценку ИГХ реакции проводили полуколичественным методом: специфическая зернистость в цитоплазме клеток в виде единичных гранул расценивали как слабую экспрессию (+); очаговый характер зернистости - умеренная экспрессия (++); если гранулы субтотально заполняли цитоплазму клеток – выраженная экспрессия (+++).

Для выявления HBsAg также проводили гистохимическую окраску срезов орсеином по Шиката [2]. С целью определения объемной доли гепатоцитов с положительной гистохимической реакцией на HBsAg проводили морфометрическое исследование гепатобиоптатов с использованием 100-точечной сетки Автандилова Г.Г. [1]. Расчеты и анализ цифровых данных выполняли с использованием набора специализированных программ из пакета MS Office XP.

Результаты исследования и их обсуждение

При гистологическом исследовании печени больных обнаружены признаки хронического гепатита различной степени активности, с признаками фиброза от слабого до значительных нарушений гистоархитектоники печени, цирроза. По результатам гистохимической окраски биоптатов орсеином по Шиката положительная реакция на HBsAg установлена 59 (46,8%) больных ХВГ В. В гепатобиоптатах больных определялись коричневые нежно-сетчатые включения в цитоплазме гепатоцитов. Кроме того, окрашивались эластические волокна в строме портальных трактов и в составе септ, а также в ряде случаев - мелкие орсеин-позитивные гранулы в цитоплазме гепатоцитов и синусоидальных клеток, расцененные как неспецифические медь-белковые комплексы. HBsAg-позитивные гепатоциты располагались диффузно, в ряде случаев

разрозненно, либо в виде сливных полей, занимающих значительную часть печеночной паренхимы. Гепатоциты с положительной реакцией Шиката определялись в разных отделах печеночной дольки, по данным морфометрического исследования, средняя объемная доля положительно окрашенных гепатоцитов в биоптате варьировала в пределах от 7% до 31,5%.

У 67 (53,2%) пациентов при гистохимической реакции Шиката HBsAg не обнаружен, в гепатобиоптате больных определялось коричневое окрашивание эластических волокон в портальной и внутридольковой строме и в составе фиброзных септ. При ИГХ исследовании печени больных ХВГ В положительная реакция на HBsAg установлена у 35(87,5%) больных в виде коричневого DAB-позитивного окрашивания нежно-сетчатых структур в цитоплазме гепатоцитов.

У 11 (31,43%) больных наблюдалась слабая степень экспрессии HBsAg в гепатоцитах, у 18 (51,43%) – умеренная экспрессия, у 6 (17,14%) – выраженная экспрессия. Учитывая, что у всех обследованных нами пациентов определялась положительная серологическая реакция на HBsAg, полученные результаты позволили провести сопоставление параллельных результатов гистохимической и ИГХ реакции в гепатобиоптате. При сравнительном анализе показателей установлена различная диагностическая чувствительность используемых гистологических методов. Так, в печени 21 пациента (52,5%) выявленная ИГХ экспрессия HBsAg подтвердила положительную гистохимическую реакцию Шиката. У 5 больных (12,5%), несмотря на наличие в сыворотке крови HBsAg, данный маркер не выявлен в гепатоцитах ни одним из использованных методов. Такой результат, по-видимому, связан с преобладанием внепеченочной репликации вируса, поскольку известно, что вирусы могут реплицироваться преимущественно в клетках крови или в гепатоцитах [5]. Важно отметить, что у 14 из 40 обследованных (35%) больных при отрицательном результате гистохимической окраски по Шиката с помощью ИГХ реакции в цитоплазме гепатоцитов идентифицирован HBsAg, что свидетельствует о значительно более высокой чувствительности данного метода.

Таким образом, в результате проведенного исследования диагностическое значение гистохимической идентификации HBsAg в печени больных различными клиническими формами хронической HBV-инфекции по методу Шиката можно расценивать как незначительное, так как лишь у 46,8% пациентов установлена положительная реакция. Применение в гистологической практике с целью оценки этиологических факторов нового метода - иммуногистохимического определения HBsAg позволило существенно увеличить общую частоту выявляемости данного вирусного белка в печени больных до 87,5%, по нашим данным, а также показало более высокую чувствительность данного метода по сравнению с гистохимической реакцией.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г.Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики болезней в аспектах морфометрии. М.: Медицина. 1984. –288 с.
2. Логинов А.С., Аруин Л.И. Клиническая морфология печени. – М.: Медицина, 1985. -
3. Эллиниди В.Н. Практическая иммуногистоцитохимия / В.Н. Эллиниди, Н.В. Аникеева, Н.А. Максимова// Санкт-Петербург, 2002. - 36 с.
4. Knodell R.G. et al // Hepatology. – 1981. –Vol.1. - P.431-435.
5. Schmidt M.V., Stapleton J.T., La Brecque D.R. et al. // J.Infect.dis. -1997.-Vol.176,№1. –P.27-33.

РАЗРАБОТКА, МОДИФИКАЦИЯ И КЛИНИЧЕСКИЕ ИСПЫТАНИЯ ДВУХФАЗНОГО ГЛИКОЛЕВОГО ПИЛИНГА В ЭСТЕТИЧЕСКОЙ КОСМЕТОЛОГИИ.

Ширкалина А. Е., Гаврилов А.С¹.

1-Уральская Государственная Медицинская академия, г. Екатеринбург;

2- ИП «Макропулос»», г. Екатеринбург.

Доказано, что при хроническом стрессе из-за постоянного выброса адреналина происходит сужение сосудов, в результате чего ухудшается доступ крови к клеткам кожи - она становится более сухой и чувствительной. Второй стрессовый гормон, кортизон, значительно замедляет процессы регенерации кожи, приостанавливая синтез коллагеновых и эластиновых волокон, гиалуроновой кислоты. При этом защитная система кожи ослабевает и уже не может противостоять неблагоприятным внешним воздействиям.

Все это приводит к возникновению различных патологических состояний: так, увеличение концентрации гормона роста может вызвать гиперпигментацию, гиперкератоз, повышение секреции кожного сала. Высокий уровень глюкокортикоидов, тестостерона ведет к возникновению атрофических процессов в коже, нарушению заживления ран. Могут возникнуть такие явления, как акне, гирсутизм, алопеция, повреждение барьерных функций.

Цель исследования – доказать, что при минимальной агрессивности пилинга возможно достигнуть следующего:

- Улучшение текстуры кожи;
- Улучшение цвета обработанной поверхности;