

*Р.А. Ушакова¹, О.П. Ковтун¹, Н.Б. Крохина², Е.С. Беликов³, Я.М. Кобелева³,
Л.М. Зигулева⁴, С.Н. Тупоногов⁴, М.А. Шварц⁴*

НЕОНАТАЛЬНЫЙ ХОЛЕСТАЗ И МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАТОЛОГИИ ПЕЧЕНИ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ

*Уральская государственная медицинская академия,
²Институт иммунологии и физиологии УрО РАН,
³Свердловское областное патологоанатомическое бюро,
⁴Областная детская клиническая больница №1, г.Екатеринбург*

За последние 20 лет наши представления о патофизиологии и лабораторно-морфологической оценке тяжести поражений печени и желчевыводящей системы у детей значительно расширились. Вероятность формирования неонатального холестаза не следует исключать у новорождённых с желтухой, продолжающейся более двух недель [1, 10, 15]. Нарастание интенсивности желтухи и гипербилирубинемия, постепенное увеличение размеров печени с изменением её плотности, появление ахолии стула и тёмной окраски мочи становятся основными клиническими признаками неонатального холестаза. Распространённость данного состояния по приблизительным подсчётам составляет 1 случай на 2500 новорождённых [10]. К сожалению, желтуха с затяжной гипербилирубинемией недооценивается педиатрами как фактор дебюта тяжелых повреждений гепатобилиарного тракта. Причины задержки направления детей к специалисту по проблемам заболевания печени и желчевыводящей системы следующие:

1. отсутствие мониторинга биохимического анализа крови на функциональные пробы печени, в том числе на маркёры холестаза;
2. неправильная трактовка конъюгированной гипербилирубинемии, как желтуха грудного вскармливания, синдром избыточной контаминации кишечника или лекарственно-индуцированное состояние;
3. ложная уверенность в диагнозе «конъюгационная желтуха», когда отмечается тенденция на снижение концентрации общего билирубина при отсутствии первоначальных признаков цитолиза или ахоличного стула;
4. недооценка степени поражения гепатобилиарной системы (ГБС) у детей первого года жизни при выявлении холестатической желтухи и гепатолиенального синдрома.

Правильная тактика, направленная на раннее выявление причины желтухи, определяет своевременность и адекватность терапии. Несмотря на многообразие нозологических форм.

протекающих с синдромом желтухи, следует выделить наиболее часто встречающиеся заболевания неонатального периода, таблица 1.

Таблица 1

Причины желтухи в периоде новорождённости

День жизни	Неконъюгированная желтуха	Конъюгированная желтуха
1	Предполагается ГБН, пока не доказано другое заболевание	Неонатальный гепатит Врождённая ЦМВ-инфекция Врождённый сифилис Врождённая краснуха
2-5	ГБН по резус- или АВО-конфликту Физиологическая желтуха Дефицит глюкозо-6-ФДГ Наследственный сфероцитоз	То же, что в п.1 Бактериальная инфекция Сепсис
5-10	То же, что в п.2 Сепсис бактериальный Желтуха грудного вскармливания Галактоземия Гипотиреоз Наркотическая абстиненция Кефалогематома	То же, что в п.1 Бактериальная инфекция Сепсис
Более 10	Сепсис бактериальный Инфекция мочевых путей Желтуха у недоношенного ребёнка Гипотиреоз Дефицит глюкозо-6-ФДГ Наследственный сфероцитоз	Идиопатический (гигантоклеточный) неонатальный гепатит Билиарная атрезия Киста холедоха Стеноз привратника желудка TORCH-инфекции Синдром Аллажиля Болезнь Байлера Болезнь Кароли Кистозный фиброз печени Недостаточность α 1-антитрипсина

В тот период, когда ребёнок находится на грудном вскармливании или у него изначально предполагают физиологическую желтуху, важно помнить о том, что желтуха продолжительностью более 14 дней не может быть отнесена только на счёт этих причин. Клини-

чески выраженная желтуха у любого младенца старше двух недель должна вызвать подозрение на заболевание ГБС и побуждать врача к проведению соответствующего алгоритма обследования [1, 10, 15]. Лабораторным критерием неонатального холестаза является повышение показателя прямой фракции билирубина более 10% от уровня общего билирубина, увеличение концентрации холестерина, β -липопротеидов, щелочной фосфатазы (ЩФ) и γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП) в биохимическом анализе крови.

Наиболее распространённые причины холестатической желтухи в первые месяцы жизни младенца – билиарная атрезия и неонатальный гепатит, на долю которых приходится большинство случаев. Неонатальным гепатитом называют гистологически подтверждённое выявление гигантских клеток в гепатобиоптате. Несмотря на это утверждение, гигантоклеточные трансформации нельзя назвать специфическим признаком, т.к. они могут обнаруживаться при инфекционных и метаболических поражениях печени, а также встречаться при атрезии желчевыводящих путей. Билиарная атрезия (БА) характеризуется обструкцией желчных протоков, которая выявляется в течение неонатального периода [7]. Исследования, проведённые по изучению морфогенеза нормальных и изменённых желчных протоков с формированием фиброза печени, позволяют выделить три линии этиопатогенеза БА: роль генетических факторов, нарушение процесса эмбриогенеза желчевыводящих путей и участие вирусов цитомегалии, респираторно-синцитиального вируса, вируса Эпштейна-Барр и папилломы человека [2, 4, 5, 7, 9, 12]. Причинами холестаза у новорожденных могут быть наследственно-генетические заболевания: гемохроматоз, галактоземия, недостаточность α -антитрипсина и другие ферментопатии, кистозный фиброз печени при муковисцидозе, идиопатический врожденный фиброз, болезнь Нимана-Пика тип С и др.

Известны сложности оценки результатов биопсии печени у детей первого года жизни, связанные с неспецифичностью гистологических изменений вследствие стереотипного ответа печени на воздействие любого патологического агента. Особенности морфологических изменений печени новорожденного являются наличие гигантоклеточного метаморфоза гепатоцитов, преобладание фиброза над воспалительными изменениями, сохраняющиеся очаги эритропоэза [3, 6].

В последнее десятилетие наблюдается тенденция к увеличению регистрации случаев цирроза печени у детей [5]. Внедрение новых подходов к диагностике и лечению, накопленный клинический опыт позволили установить целый ряд новых нозологических форм, которые до недавнего времени обозначались термином идиопатический неонатальный гепатит. Учитывая, что эффективность лечения врожденных заболеваний печени зависит от срока и адекватности выбора первоначальной терапевтической тактики, особую значимость приобретает проблема ранней диагностики в детализации этиологических факторов.

Цель работы: по материалу гепатобиопсии изучить степень и характер морфологических изменений в печени у детей первого года жизни с клиническими проявлениями неонатального гепатита и холестаза.

Материал и методы исследования

Проведён анализ и гистологическое исследование гепатобиоптатов, полученных путём проведения чрезкожной пункционной биопсии печени у 21 ребенка (15 мальчиков и 6 девочек) в возрасте от 25 дней до 5 месяцев, проходивших обследование и лечение в ОДКБ №1 г. Екатеринбурга в 2004-2006 г.г. (главный врач, к.м.н. С.Н. Боярский). Критерием отбора пациентов для хирургического вмешательства явилось формирование неонатального холестаза неясного генеза и подозрение на билиарную атрезию. Морфологическое исследование биоптатов печени проводилось на базе Свердловского областного патологоанатомического бюро (заведующий, к.м.н. Е.С.Беликов). Гепатобиоптаты подвергали стандартной гистологической обработке с окраской серийных срезов гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Гизону, проводили ШИК-реакцию с целью окраски базальных мембран желчных протоков и включений в цитоплазме гепатоцитов, реакцию Перлса для выявления гемосидерина, окраску на медь рубеоноводородной кислотой. В гистологическом заключении использовали полуколичественную оценку степени активности по Knodell [11] и фиброза по Desmet [8]. На основании результатов гистологического изучения гепатобиоптатов формировалась база данных в Excel (MS Office). Статистическая обработка данных проводилась с использованием критериев Манна-Уитни и хи-квадрат ($p=0,05$) в программе Statistica (StatSoft, Inc), а также метода Фишера.

Результаты исследования и их обсуждение

У 11 (52,4%) младенцев в биоптате печени обнаружены гистологические признаки симпластической трансформации гепатоцитов с выраженной воспалительной реакцией в портальной и внутридольковой строме, что расценено нами как гигантоклеточный гепатит (ГКГ). У 7 детей (33,3%) в гепатобиоптате наблюдалась морфологическая картина хронического гепатита (ХГ) без гигантоклеточного метаморфоза, с преимущественной лимфоцитозитарной инфильтрацией портальных трактов и склерозом различной степени выраженности. У 2 детей (9,5%) выявлена изолированная несиндромальная форма гипоплазии внутрипеченочных желчных протоков (ВПЖП) без гигантоклеточного метаморфоза гепатоцитов, у 1 ребёнка (4,8%) обнаружены признаки врожденного кистозного фиброза печени (ВКФП) со сформированным вторичным билиарным циррозом печени.

Известно, что для атрезии внепеченочных желчных путей характерна пролиферация протоков портальной зоны и фиброз, а относительное уменьшение числа протоков в портальных зонах более характерно для внутрипеченочной атрезии [6]. В печени 11 (52,4%) об-

следованных больных изолированно или в сочетании с гигантоклеточным и хроническим гепатитом наблюдались признаки гипоплазии либо атрезии междольковых холангиол. Не наблюдалось пролиферации междольковых желчных протоков, указывающей на внепеченочную атрезию.

В структуре ГКГ у обследованных детей в 5 случаях из 11 (45,5%) гистологическая картина гигантоклеточной трансформации гепатоцитов сочеталась с выраженной атрезией ВПЖП и внутрипеченочным холестазом. В 2 случаях из 11 (18,2%) гипоплазия ВПЖП не наблюдалась или носила очаговый характер, при этом отмечалась лейкоцитарная перидуктулярная инфильтрация, свидетельствующая о холангиолите междольковых желчных протоков, имела место вторичная их обструкция и стеноз. У 2 детей (18,2%) ГКГ развивался или сопутствовал гистологическим проявлениям ферментопатии, которая с учетом гистохимических реакций по наличию в цитоплазме гепатоцитов ШИК-позитивных глобул расценена как недостаточность $\alpha 1$ -антитрипсина [3]. У 2 детей (18,2%) при симпластической трансформации гепатоцитов обнаружены признаки ВКФП, а именно: выраженный склероз портальной стромы с кистозным расширением желчных протоков и их воспалением, с сопутствующим гиперсидерозом и стеатозом.

В группе больных с морфологической картиной ХГ описаны признаки стеноза ВПЖП (изолированно) у 3 детей (42,9%), холестаза (изолированно) – у 1 ребёнка (14,3%), стеноза ВПЖП в сочетании с холестазом – у 1 ребёнка (14,3%). Гистологических проявлений болезней накопления у данной категории больных не обнаружено. У 7 (33,3%) детей исследуемой группы, определялись признаки гистологической активности в виде лимфогистиоцитарной инфильтрации портальных трактов, перипортальных и внутридольковых некрозов гепатоцитов. При ХГ выявлена минимальная активность у 2 детей (28,6%), умеренная – у 14 (71%), высокой степени активности не наблюдалось.

В печени больных с ГКГ наблюдались выраженные воспалительно-некротические изменения, характерные для высокой степени гистологической активности. В результате анализа активности в исследуемых группах больных было выявлено, что у детей с ГКГ показатель активности достоверно выше, чем у больных детей с ХГ (критерий Манна-Уитни, $Z = -3.49$, $p < 0,05$).

Степень склеротических изменений в биоптатах печени при ГКГ новорожденных и ХГ оценивалась с помощью системы полуколичественного счета по Desmet (рис.1).



Рисунок 1. Сравнительная характеристика степени фиброза печени у детей с гигантоклеточным и хроническим гепатитом

По нашим данным, среди больных с ГКГ у 5 детей (50%) зафиксирован слабый фиброз, из них 2 – при ферменопатии, 3- при атрезии ВПЖП. У 2 больных (20%) отмечен умеренный фиброз при атрезии ВПЖП и ВКФП, у 1 ребёнка (10%) – тяжелый фиброз при атрезии ВПЖП. У 2 детей (20%) обнаружен цирроз печени, который имел черты вторичного билиарного цирроза и сформировался к возрасту 5 месяцев жизни как следствие врожденного кистозного фиброза у одного ребенка и в условиях атрезии ВПЖП – у другого ребенка. В данной группе наблюдался один случай летального исхода от цирроза печени, сформировавшегося в течение 11,5 месяцев жизни у больной с гигантоклеточным гепатитом, что составило 4,8% от числа обследованных детей.

Распределение детей с ХГ по степени склеротических изменений в печени отличалось от такового при гигантоклеточном гепатите: слабый фиброз выявлен у 2 детей (28,6%), умеренный фиброз – у 1 ребёнка (14,3%), тяжелый фиброз отмечен у 4 детей (57,1%), цирроз печени не был установлен. Однако при статистическом анализе гистологического индекса склероза достоверных различий между группами не обнаружено (критерий хи-квадрат, $p > 0,05$), можно лишь отметить тенденцию к преобладанию более тяжелых форм фиброза при ГКГ.

Среди обследованных у 16 больных (76,2%) установлены гистологические признаки внутрипеченочного холестаза, которые отмечались как у детей с гигантоклеточным гепатитом у 9 из 11 (81,8%), так и при морфологической картине ХГ - у 4 из 7 (57,1%) (рис.2). При сравнении частоты встречаемости холестаза между группами достоверных различий не выявлено (критерий хи-квадрат, $p > 0,05$). Однако при сравнении процентных долей холестаза внутри каждой из групп по методу Фишера установлено, что холестаз является достоверным

признаком ГКГ, чем ХГ. Наличие такого гистологического признака, как атрезия и гипоплазия ВПЖП, отмечается при ХГ и ГКГ с одинаковой частотой (критерий хи-квадрат, $p > 0,05$). Возможно, значительный вклад в формирование холестаза при ГКГ наряду с обструкцией ВПЖП вносит цитолитическое повреждение гепатоцитов в результате симпластической трансформации и некроза. ВКФП и изолированная внутрипеченочная билиарная атрезия во всех случаях сопровождались гистологическими проявлениями холестаза.

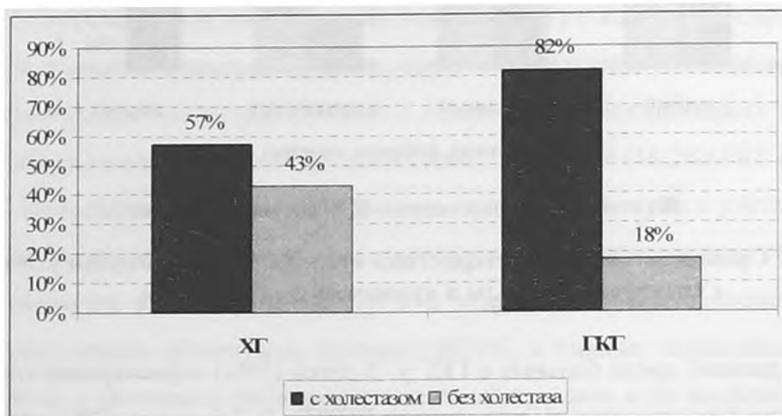


Рисунок 2. Сравнительная оценка частоты встречаемости холестаза при хроническом и гигантоклеточном гепатите

Важно отметить, что среди выявленной патологии у детей крайне тяжелые нарушения морфологической структуры печени отмечались при врожденном кистозном фиброзе. Так, у 1 больного наблюдался ВКФП с гигантоклеточным гепатитом без цирроза печени, у 1 - ВКФП с гигантоклеточным гепатитом со сформированным вторичным билиарным циррозом, у 1 - ВКФП без гигантоклеточного метаморфоза с циррозом печени. Следовательно, морфологические критерии ВКФП установлены у 3 детей, что составило 14,3% от общего числа обследованных, при этом признаки трансформации во вторичный билиарный цирроз отмечены у 2 детей двухмесячного возраста (66,7%).

Таким образом, на основании проведенного аналитического обзора по материалам гепатобиопсий у детей первого года жизни с клиническими проявлениями идиопатического гепатита с синдромом холестаза, выявленные морфологические изменения можно объединить в две основные группы: гигантоклеточного гепатита и хронического гепатита. Указанные группы относятся к числу ранее описанных основных форм морфологических нарушений при неонатальном гепатите [2, 13]. По-видимому, симпластическая трансформация гепатоцитов становится проявлением врожденного гепатита с внутрипеченочным холестазом. может сопровождать внутрипеченочную билиарную атрезия, болезни накопления и врожденный кистозный фиброз печени, что находит подтверждение в литературе [2, 3, 6]. В гис-

тологической картине хронического гепатита у детей первого года жизни также зафиксировано повреждение ВПЖП в виде воспалительной обструкции и вторичной облитерации, приводящее к холестазу и поражению печеночной паренхимы. Морфологические признаки хронического процесса в печени, вероятно, могут быть инициированы внутриутробным инфицированием, которое к моменту рождения ребёнка и в первые месяцы его жизни, как правило, принимает латентное или субклиническое течение [4, 5, 9, 12].

При оценке степени фиброза печени у детей исследуемой возрастной группы в структуре гигантоклеточного гепатита больше степень повреждения паренхимы печени и выше процент случаев (20%) цирротической трансформации по сравнению с хроническим гепатитом (0%). Учитывая относительно небольшую численность обследованных детей, нами выявлена лишь тенденция к сочетанию гигантоклеточного гепатита с высоким риском прогрессирования фиброза. По нашим данным, процент летальности в течение первого года жизни от цирроза печени равен 4,8%, что совпадает с результатами других исследователей и составляет 5,8% [14].

В заключение следует отметить, что результаты проведённого морфологического исследования имеют прогностическое значение. Изучение гепатобиоптатов у детей первого года жизни с клиническими проявлениями неонатального холестаза позволяет обнаружить основные гистологические признаки тяжёлого поражения ГБС и выявить ранние признаки риска по формированию цирроза печени, а именно: гигантоклеточный гепатит, врожденный кистозный фиброз, распространенный внутripеченочный холестаз, высокая степень воспалительно-некротической активности гепатита. На наш взгляд, стандартные морфологические исследования имеют достаточно низкое диагностическое значение в оценке этиологического фактора, вызвавшего патологический процесс в печени, поэтому возникает потребность в повышении эффективности выявления причины болезни путём внедрения новых диагностических технологий на морфологическом уровне. Активная позиция педиатра, направленная на раннее выявление до 6 недель жизни младенца этиологических факторов риска, формирующих затяжную желтуху и холестатический гепатит, даёт возможность успешно проводить терапию метаболических и инфекционных заболеваний печени, устранять обструкцию внепеченочных желчных протоков методом хирургической коррекции.

Литература

1. Дяттерева А.В., Мухина Ю.Г., Володин Н.Н. Проект протокола дифференциальной диагностики и лечения синдрома холестаза у новорожденных детей [Электронный ресурс].- Режим доступа: <http://www.rusmg.ru> .- 2008.
2. Комарова Д.В., Цинзерлинг В.А.. Морфологическая диагностика инфекционных пораже-

- ний печени/ Практическое руководство.- СПб.:Сотис.- 1999. - 245 с.
3. Серов В.В., Лапиш К. Морфологическая диагностика заболеваний печени /АМН СССР . М.:Медицина.- 1989.- с.336.
 4. Туманова Е.Л., Дягтерева А.В., Мухина Ю.Г. и др. Роль врожденной ЦМВ инфекции в формировании пороков развития гепатобилиарной системы у детей// В сб. «Труды II Съезда Российского общества патологоанатомов».- Т.1. - М.: МВД.- 2006.- С.383-385.
 5. Чуелов С.Б., Гаспарян М.О., Смирнов А.В. Клиника, диагностика и течение циррозов печени, не связанных с вирусными гепатитами, у детей//Детские инфекции.- 2006.- №2.- том 5.- С.35-38.
 6. Шерлок Ш., Дули Дж. Заболевания печени и желчных путей: Практич. рук.: Пер. с англ. / Под ред. З.Г.Апросиной, Н.А.Мухина.- М.:ГЭОТАР-МЕД.- 2002.- 864 с.
 7. Chardot C. Biliary atresia. Orphanet encyclopedia. <http://www.orpha.net/data/patho/GB/uk-BiliaryAtresia>.- Oktober.- 2005.
 8. Desmet V.J. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging/ V.J.Desmet, M.Cerber, J.H.Hoofnagle et al.//Hepatology.- 1994.- №19.- P.1513.
 9. Goedhals D, Kriel J, Hertzog ML, Janse van Rensburg MN. Human cytomegalovirus infection in infants with prolonged neonatal jaundice// J Clin Virol.- 2008. - 43(2).- P.216-8.
 10. Guideline for the Evaluation of Cholestatic Jaundice in Infants: Recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition//J. of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.- August 2004.- vol 39, №2.- P.115-128.
 11. Knodell R.S., Ishak K.G., Black W.C. et al. Formulation and application of a numerical scoring system for assessing histological activity in asymptomatic active hepatitis// JAMA. - 1985. - 253. - P.627.
 12. Mahjoub F., Shahsiah R. et al. Detection of Epstein Barr Virus by Chromogenic In Situ Hybridization in cases of extrahepatic biliary atresia// Diagn.Pathol. - 2008. - 3. - P.19.
 13. Monajemzaden M., Tabriz H.M. et al. Liver needle biopsy in Iranian pediatric patients: Diagnostic significance and pattern of liver disease/ Indian J Pathol Microbiol.- 2009.- 52(1).- P.10-3.
 14. Rafeey M, Golzar A, Javadzadeh A. Cholestatic syndromes of infancy// Pak J Biol Sci. – 2008.- 11(13).- P.1764-7.
 15. Venigalla S., Gourley G.R. Neonatal Cholestasis //J.Arab Neonatal Forum.- 2005.- P.53-59.