

DOI: 10.15825/1995-1191-2021-1-8-14

СТЕАТОЗ ПЕЧЕНИ ДОНОРОВ СО СМЕРТЬЮ МОЗГА

Д.В. Воронов¹, М.Г. Минина¹, А.К. Чомаев², И.М. Ильинский², О.М. Цирульникова^{2, 3}

¹ ГБУЗ «Городская клиническая больница имени С.П. Боткина Департамента здравоохранения города Москвы», Московский координационный центр органного донорства, Москва, Российская Федерация

² ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр трансплантологии и искусственных органов имени академика В.И. Шумакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

³ ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Российская Федерация

Цель исследования – изучение частоты жирового гепатоза в биоптатах печени последовательных доноров со смертью мозга до холодовой консервации. **Материалы и методы.** Исследованы биоптаты печени (до холодовой консервации) 300 последовательных доноров со смертью головного мозга. Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином, а также проводили трехцветную окраску по Массону. **Результаты.** Частота различных степеней жирового гепатоза у мужчин и женщин отличалась незначительно ($>0,05$). Жировая дистрофия гепатоцитов отсутствовала более чем в половине наблюдений ($n = 182$; 60,7%). Легкая степень жировой дистрофии диагностирована у 57 (19,0%) доноров. В совокупности вполне пригодными для трансплантации были 239 (79,7%) донорских печеней. Умеренная степень стеатоза, с которой связывают ранние билиарные осложнения, выявлена в 18 (6,0%) наблюдениях, а тяжелая степень, являющаяся противопоказанием использования органа для трансплантации, – в 43 (14,3%) наблюдениях. **Заключение.** До холодовой консервации печень от доноров со смертью головного мозга относительно редко бывает непригодной для трансплантации.

Ключевые слова: печень донора, биопсия, стеатоз.

LIVER STEATOSIS IN BRAIN DEATH DONORS

D.V. Voronov¹, M.G. Minina¹, A.K. Chomaev², I.M. Iljinsky², O.M. Tsirulnikova^{2, 3}

¹ Botkin City Clinical Hospital, Moscow coordinating center of organ donation, Moscow, Russian Federation

² Shumakov National Medical Research Center of Transplantology and Artificial Organs, Moscow, Russian Federation

³ Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Aim. To study the frequency of fatty hepatitis in liver biopsies of consecutive brain death donors before cold preservation. **Materials and methods.** Liver biopsies (before cold preservation) of 300 consecutive donors with brain death were studied. Histological preparations were stained with hematoxylin and eosin, and tricolor Masson staining was performed. **Results.** The frequency of different degrees of fat hepatitis in men and women did not differ significantly (>0.05). Fat dystrophy of hepatocytes was absent in more than half of the cases ($n = 182$; 60.7%). A slight degree of fatty degeneration was diagnosed in 57 (19.0%) donors. In total, 239 (79.7%) donor livers were absolutely suitable for transplantation. Moderate degree of steatosis, which is associated with early biliary complications, was detected in 18 (6.0%) cases, and severe degree, which is a contraindication to the use of the organ for transplantation, was detected in 43 (14.3%) cases. **Conclusion.** Before cold preservation, liver from brain death donors is relatively rarely unsuitable for transplantation.

Key words: donor liver, biopsy, steatosis.

Для корреспонденции: Ильинский Игорь Михайлович. Адрес: 123182, Москва, ул. Щукинская, д. 1. Тел. (999) 877-60-95. E-mail: iiljinsky@mail.ru

Corresponding author: Igor Iljinsky. Address: 1, Shchukinskaya str., Moscow, 123182, Russian Federation. Phone: (999) 877-60-95. E-mail: iiljinsky@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Стеатоз донорской печени является одним из важных морфологических критериев, определяющих пригодность органа для трансплантации. С увеличением числа лиц, страдающих диабетом и ожирением, неалкогольная жировая болезнь печени становится все более распространенной, затрагивая четверть взрослых во всем мире [1]. Это заболевание проявляется или простым стеатозом, или неалкогольным стеатогепатитом [2]. В настоящее время стали использовать для трансплантации донорские печени со стеатозом. Использование стеатозной печени связано как с нехваткой донорских органов, так и с ростом распространенности жировой болезни печени в общей популяции населения [3, 4].

Как хорошо известно, увеличение степени макровезикулярного стеатоза донорской печени выше 30% связано с риском усиления реперфузионного повреждения, что увеличивает частоту встречаемости первично не функционирующего трансплантата и делает более низкой его выживаемость [1, 5, 6]. Однако появляется все больше данных о том, что при тщательном отборе реципиентов донорская печень с умеренной и тяжелой степенью макровезикулярного стеатоза может быть успешно использована для трансплантации [1, 5, 6]. После трансплантации печени со стеатозом наблюдается уменьшение его степени [5].

Тем не менее донорская печень со стеатозом более восприимчива к ишемическому повреждению во время холодовой консервации [7]. Такие органы плохо восстанавливаются после трансплантации. Ишемическое и реперфузионное повреждение нарушает микроциркуляцию из-за нарушения эндотелиальной выстилки сосудов [8], повышает окислительное повреждение митохондрий, а также повышает агрегацию нейтрофилов и приводит к дисбалансу высвобождения цитокинов [6]. Все это увеличивает риск дисфункции органа после трансплантации [7].

В настоящее время интенсивно изучаются терапевтические подходы к расширению использования для трансплантации донорской печени со стеатозом. Предварительное кондиционирование донорской печени позволяет уменьшить накопление ксантина и подавить активность оксидазы ксантина, которые повышаются при стеатозе во время холодной ишемии, и тем самым защитить ее от повреждения. Было показано, что некоторые фармакологические препараты также эффективны для защиты донорской печени со стеатозом от ишемического и реперфузионного повреждения.

Цель исследования – изучение характера и степени стеатоза в печени доноров со смертью мозга до ее холодовой консервации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено гистологическое исследование биоптатов печени 300 последовательных доноров со смертью головного мозга. Биопсии выполнены до холодовой консервации донорской печени. Биоптаты фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин. Из парафиновых блоков готовили гистологические срезы толщиной 4–5 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, а также по методу Массона. Препараты изучали в светлом поле микроскопа Leica DM 6000B. Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ Statistica 7.0 (StatSoft, США), и MS Office EXCEL (Microsoft, США). Достоверность отличий оценивали по критерию Стьюдента. Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Качественную оценку стеатоза печени осуществляли на основании определения размера жировых вакуолей в цитоплазме гепатоцитов. Мы различали мелкокапельный, среднекапельный и крупнокапельный стеатоз. Многие исследователи [9] не выделяют среднекапельный стеатоз. Однако, на наш взгляд, это целесообразно делать, так как при среднекапельном жировом гепатозе имеет место жировая дистрофия гепатоцитов, но они сохраняют жизнеспособность, и после прекращения воздействия повреждающих факторов (часто после трансплантации печени) происходит их полная репарация.

Наличие в печени только мелких везикул в цитоплазме гепатоцитов, даже если имело место их диффузное распространение, по нашему мнению, не является жировым гепатозом, а представляет собой простую жировую инфильтрацию, которая имеет транзиторный характер и чаще всего алиментарное происхождение. По данным литературы [10], функция гепатоцитов сохраняется.

При крупнокапельном стеатозе большие жировые везикулы занимают практически все пространство цитоплазмы, оттесняя ядро на периферию гепатоцитов. Они находятся в состоянии парабиоза, и чаще всего наступает их гибель.

Степень тяжести стеатоза печени полуколичественно оценивают по процентному содержанию гепатоцитов, содержащих липиды [11]. Обычно при стеатозе в цитоплазме гепатоцитов печени присутствуют везикулы различного размера (мелкие, средние и крупные). Поэтому мы тяжесть жирового гепатоза определяли по количеству гепатоцитов, в которых преобладала средне- или крупнокапельная жировая дистрофия.

Наличие жировых везикул менее чем в 5% гепатоцитов мы, так же как и другие исследователи [11], не относили к категории стеатозной печени. Легкую степень жирового гепатоза диагностировали при условии, что от 5 до 30% гепатоцитов содержали средне- и/или крупнокапельные жировые вакуоли. Такая печень вполне пригодна для трансплантации, при условии отсутствия в ней других патологических процессов. Приводим собственное наблюдение.

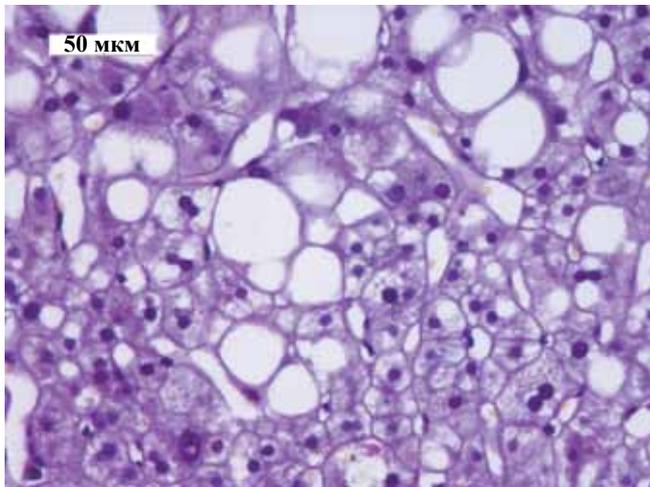


Рис. 1. Донор Д., женщина 62 лет. Небольшая группа крупнокапельной жировой дистрофии гепатоцитов. Трехцветная окраска по Массону. $\times 40$

Fig. 1. Donor D., female, 62. A small group of macrovesicular fatty dystrophy of hepatocytes. Masson's trichrome stain. $\times 40$

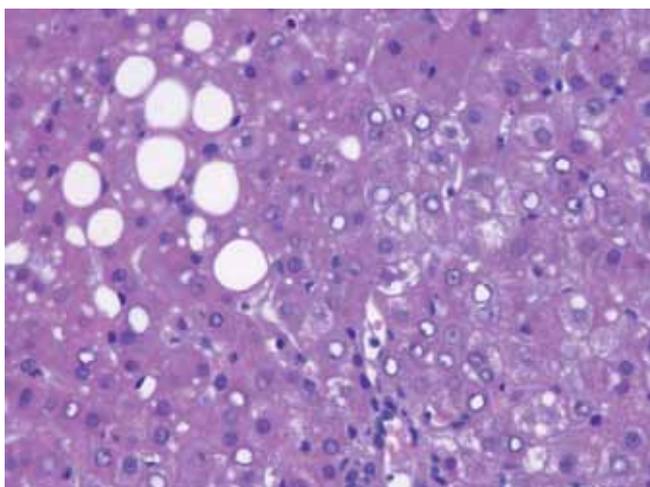


Рис. 2. Донор С., мужчина 46 лет. Небольшая группа крупнокапельной жировой дистрофии гепатоцитов. Большое количество гепатоцитов с песочными ядрами. Трехцветная окраска по Массону. $\times 40$

Fig. 2. Donor S., male, 46. A small group of macrovesicular fatty dystrophy of hepatocytes. A large number of hepatocytes with sand poisons. Masson's trichrome stain. $\times 40$

Донор Д., женщина 62 лет (биопсия № 7010-18 от 09.08.19 г.). Смерть наступила из-за острого нарушения мозгового кровообращения по геморрагическому типу. Некоторые биохимические показатели на момент биопсии: билирубин 11, 7; АЛТ/АСТ = 21/23. Размеры печени средние, цвет желтый, край закругленный. При гистологическом исследовании выявлена крупнокапельная жировая дистрофия менее чем в 30% гепатоцитов (рис. 1). Заключение: легкая степень жирового гепатоза, фиброз отсутствует (F0).

К сожалению, легкая степень жирового гепатоза может сочетаться с другой патологией, что ставит под сомнение возможность ее трансплантации. Например, у донора С., мужчины 46 лет (биопсия № 7277-79 от 16.08.19 г.), смерть которого наступила из-за острого нарушения мозгового кровообращения по геморрагическому типу (билирубин 38,9; АЛТ/АСТ = 16,8/13,3), размеры печени были средние, цвет серо-коричневый, края острые. При гистологическом исследовании обнаружена крупнокапельная жировая дистрофия менее чем в 30% гепатоцитов. Они преимущественно располагались в перипортальных зонах. Однако, кроме того, многие гепатоциты были с песочными ядрами, что является проявлением тяжелой дистрофии. Портальные тракты были фиброзированы с многочисленными септами (рис. 2, 3). На основании этого сделано следующее заключение: легкая степень жирового гепатоза, дистрофия гепатоцитов, умеренный фиброз печени (F2).

Умеренную (среднюю) степень жирового гепатоза диагностировали при наличии от 30 до 60% гепато-

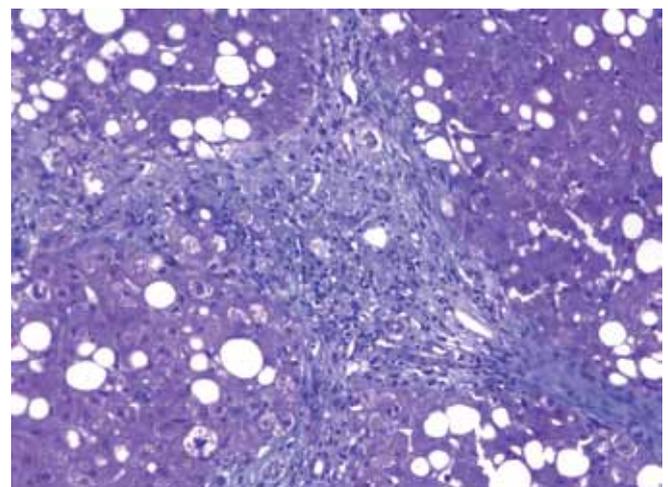


Рис. 3. Склерозированный порталный тракт с септами. В перипортальных гепатоцитах – полиморфная жировая дистрофия. Трехцветная окраска по Массону. $\times 40$

Fig. 3. The same specimen. Sclerosed portal tract with septa. In periportal hepatocytes – polymorphic fatty dystrophy. Masson's trichrome stain. $\times 40$

цитов с жировыми вакуолями. Умеренная степень, особенно средневезикулярного стеатоза, является относительным противопоказанием для трансплантации печени. Донор П., мужчина 56 лет (биопсия № 5644-45 от 03.10.17 г.). Смерть головного мозга в результате закрытой черепно-мозговой травмы. Билирубин общий – 41,1, АСТ/АЛТ = 18,2/47,0. Размеры печени нормальные, цвет – желто-серый, умеренная отечность, с закругленным краем. При гистологическом исследовании выявлена крупнокапельная жировая дистрофия менее чем в 60% гепатоцитов (рис. 4, 5). Легкая степень фиброза печени. Заключение. Умеренная степень крупнокапельного жирового гепатоза. F1.

Умеренная степень стеатоза является относительным противопоказанием для трансплантации печени, если в биоптате печени отсутствуют другие повреждения. Приводим одно из наших наблюдений, в котором было сочетание умеренной степени средневезикулярного стеатоза с тяжелой степенью ишемического повреждения. Донор Р., мужчина 33 лет (биопсия № 1217-19 от 08.02.19 г.). Смерть мозга наступила в результате закрытой черепно-мозговой травмы. Билирубин общий – 20,2. АСТ/АЛТ = 2200/1990. Результаты гистологического исследования показали нарушение балочного и долькового строения печени. Крупные очаги (до 50% площади препарата) тяжелой баллонной дистрофии и некроза гепатоцитов. Жировая дистрофия остальных гепатоцитов (рис. 6, 7). Заключение: тяжелая степень ишемического повреждения печени; умеренная степень

средневезикулярного жирового гепатоза; фиброз отсутствует (F0).

Если количество гепатоцитов с ожирением было 60% и выше, то такую печень относили в категорию тяжелого жирового гепатоза. Донор Л., мужчина 50 лет (биопсия № 7019-21 от 09.08.19 г.). Смерть мозга наступила из-за острого нарушения мозгового кровообращения по геморрагическому типу. Основные клинические данные (на момент биопсии): АЛТ/АСТ = 47/89, билирубин 20,3. Размеры печени

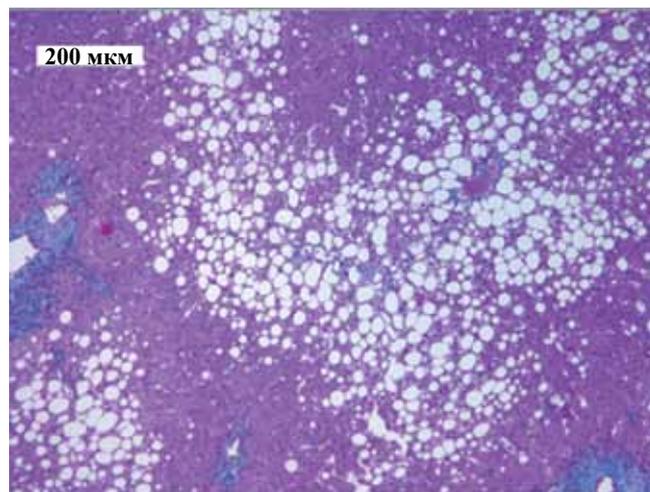


Рис. 4. Полиморфная жировая дистрофия менее чем в 60% гепатоцитов. Трехцветная окраска по Массону. ×10

Fig. 4. Polymorphic fatty dystrophy in less than 60% of hepatocytes. Masson's trichrome stain. ×10

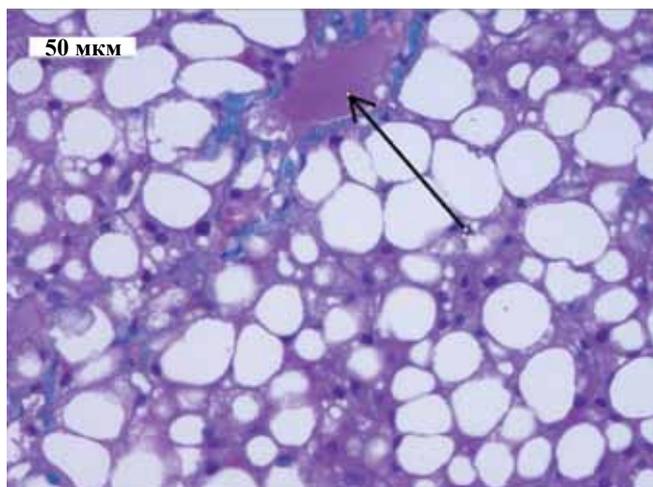


Рис. 5. Полиморфная жировая дистрофия гепатоцитов под большим увеличением микроскопа. Стрелкой указана центральная вена. ×40

Fig. 5. Polymorphic fatty dystrophy of hepatocytes under high magnification of the microscope. The arrow indicates the central vein. ×40

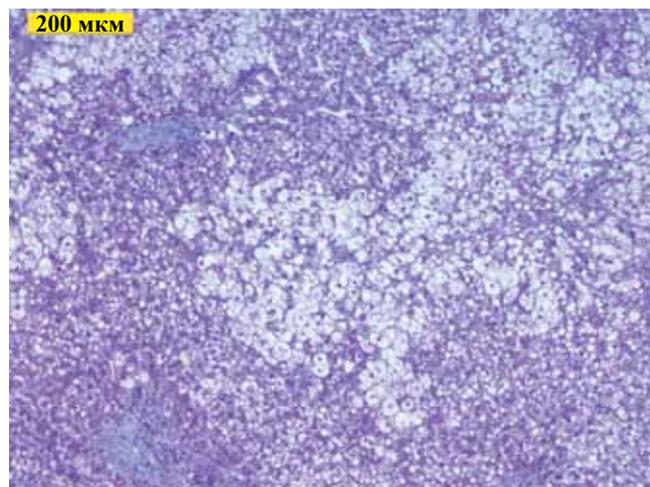


Рис. 6. Очаг баллонной дистрофии гепатоцитов, по периферии которого среднекапельная жировая дистрофия менее 60% гепатоцитов. Трехцветная окраска по Массону. ×10

Fig. 6. The focus of balloon dystrophy of hepatocytes, on the periphery of which medium-drop fatty dystrophy is less than 60% of hepatocytes. Masson's trichrome stain. ×10

увеличены, цвет желтый, край острый. При гистологическом исследовании обнаружена полиморфная жировая дистрофия около 80% гепатоцитов (рис. 8). Заключение: тяжелая степень жирового гепатоза. F0.

При тяжелой степени жирового гепатоза в некоторых наблюдениях имело место перерастание жирового гепатоза в стеатогепатит. Приводим одно из таких наблюдений. Донор В., мужчина 65 лет (биопсия № 7244-52 от 22.08.19 г.). Острое нарушение мозгового кровообращения по геморрагическому

типу. Смерть мозга. Билирубин 46,3, АЛТ/АСТ = 50/43. Размеры печени увеличены, цвет серо-желтый. Результаты гистологического исследования выявили крупнокапельную жировую дистрофию более чем в 60% гепатоцитов. Остальные гепатоциты были с гидропической белковой дистрофией. Портальные тракты склерозированы с образованием септ, умеренной пролиферацией желчных протоков и с выраженной полиморфной лейкоцитарной (преимущественно мононуклеарной) инфильтрацией (рис. 9). На рис. 10

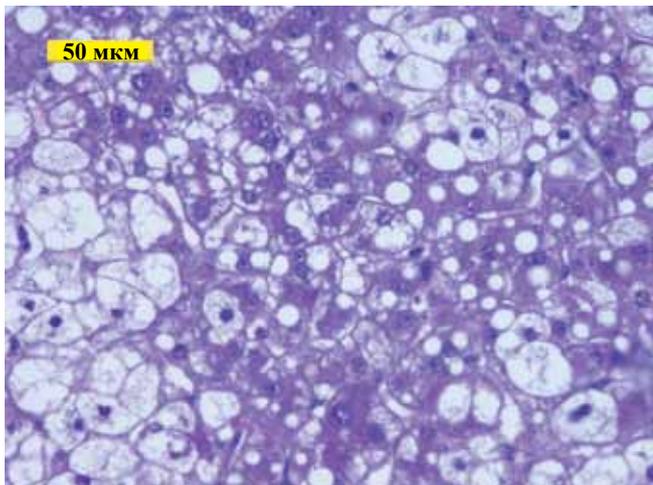


Рис. 7. Препарат тот же. ×40

Fig. 7. The same specimen. ×40

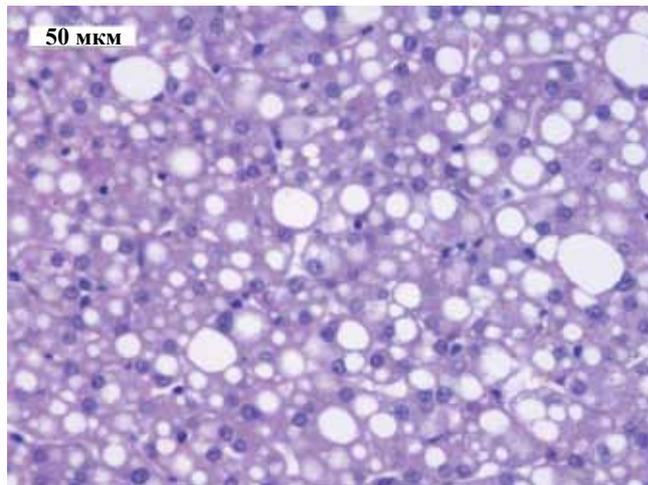


Рис. 8. Полиморфная жировая дистрофия около 80% гепатоцитов. Трехцветная окраска по Массону. ×40

Fig. 8. Polymorphic fatty dystrophy of about 80% of hepatocytes. Masson's trichrome stain. ×40

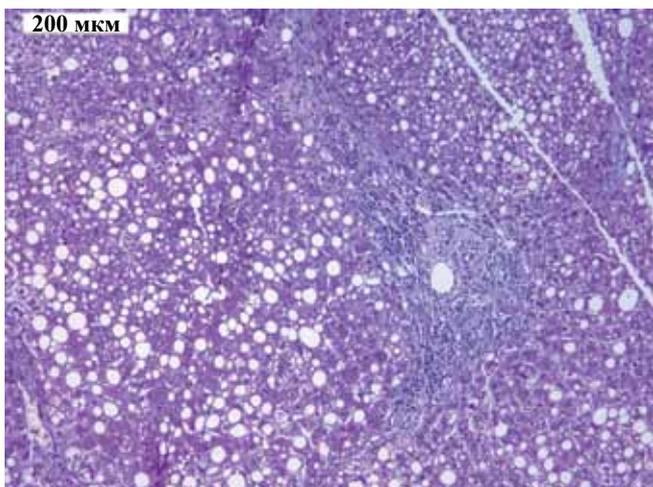


Рис. 9. Полиморфная, преимущественно среднекапельная жировая дистрофия более 60% гепатоцитов. Склероз портального тракта с септами. Трехцветная окраска по Массону. ×10

Fig. 9. Polymorphic, mostly middle vesicle fat dystrophy of more than 60% of hepatocytes. Sclerosis of the portal tract with septa. Masson's trichrome stain. ×10

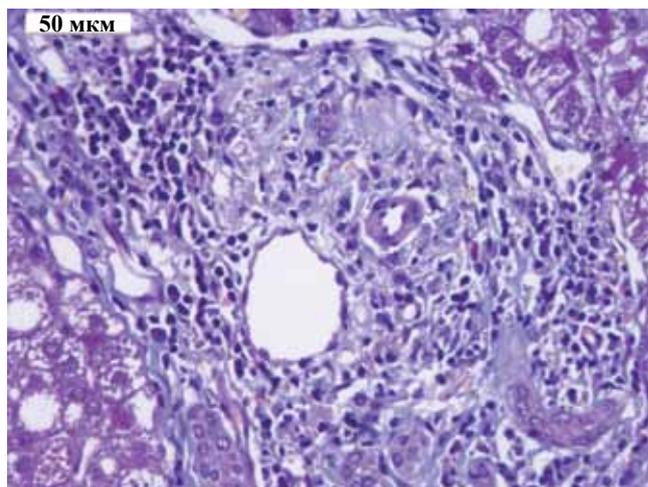


Рис. 10. В склерозированном портальном тракте густая воспалительная инфильтрация мононуклеарными клетками. Трехцветная окраска по Массону. ×40

Fig. 10. In the sclerosed portal tract, there is a dense inflammatory infiltration by mononuclear cells. Masson's trichrome stain. ×40

и 11 при большом увеличении микроскопа представлена детализация патологии. Заключение: стеатогепатит, умеренная степень фиброза печени (F2).

Полученные результаты исследования различных степеней жирового гепатоза у доноров со смертью головного мозга до холодовой консервации представлены на рис. 12. Жировая дистрофия гепатоцитов отсутствовала более чем в половине наблюдений (n = 182; 60,7%). Легкая степень жировой дистрофии, диагностированная у 57 (19,0%) доноров, не является противопоказанием для трансплантации печени. Итак, изначально пригодными для трансплантации было 239 (79,7%) из 300 донорских печеней. Умеренная степень (II), с которой связывают ранние билиарные осложнения, выявлена в 18 (6,0%) наблюдениях. Тяжелая степень (III), являющаяся противопоказанием использования органа для трансплантации, была диагностирована у 43 (14,3%) доноров. К числу доноров с расширенными критериями мы отнесли доноров с умеренной и тяжелой степенью жирового гепатоза (n = 61; 20,3%). Частота различных степеней жирового гепатоза у мужчин и женщин отличалась незначимо (>0,05). Поэтому мы не разделяли группы по половому признаку.

С увеличением спроса на донорские органы все большее количество донорских печеней со стеатозом используется в трансплантации печени [12]. Недавние исследования показали, что трансплантация донорской печени со стеатозом существенно не увеличивает риск плохих исходов после трансплантации [6]. J.A. Steggerda et al. (2020) [13] повысил порог степени макровезикулярного стеатоза до 50%. Степень стеатоза резко снижается после трансплантации печени [14], что является дополнительным аргументом в пользу возможности использования для

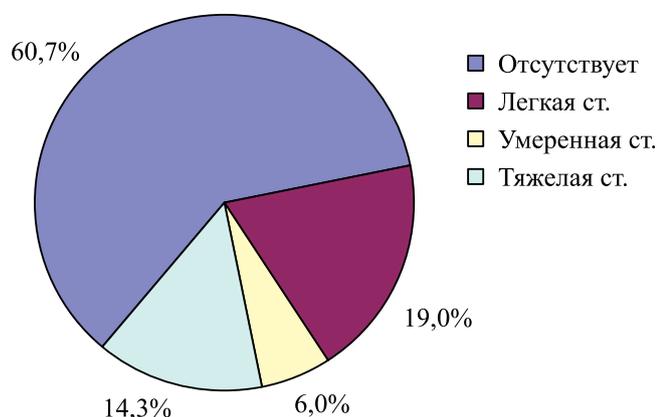


Рис. 12. Различные степени стеатоза в печени доноров со смертью головного мозга до холодовой консервации

Fig. 12. Various degrees of steatosis in livers of brain death donors before cold preservation

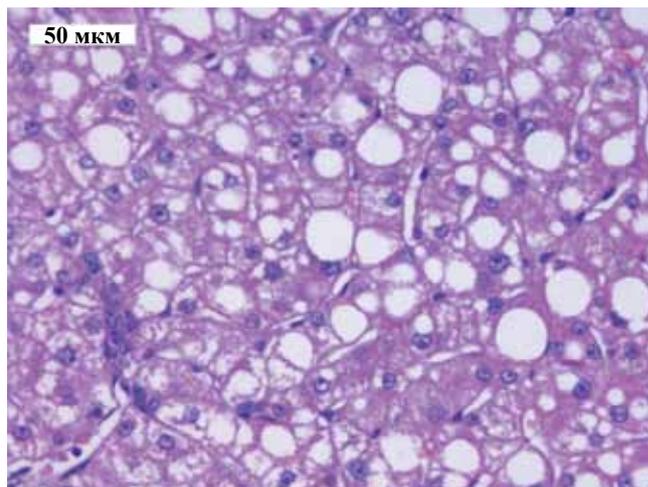


Рис. 11. Полиморфная, преимущественно среднекапельная жировая дистрофия более 60% гепатоцитов. Трехцветная окраска по Массону. ×40

Fig. 11. Polymorphic, mainly medium-vesicular, fat dystrophy of more than 60% of hepatocytes. Masson's trichrome stain. ×40

пересадки донорской печени с умеренным и тяжелым стеатозом [6].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Из последовательных 300 доноров у 239 (79,7%) отсутствовал жировой гепатоз или он был легкой степени, что не является противопоказанием для трансплантации печени.
2. Относительное противопоказание к использованию донорской печени для трансплантации было у 18 (5%) доноров с умеренной степенью стеатоза. Абсолютным противопоказанием для трансплантации является осложненный стеатоз с воспалением и фиброзом (стеатогепатит).
3. Тяжелая степень жирового гепатоза диагностирована у 43 (14,3%) доноров. Трансплантация такой печени допустима при исключительных обстоятельствах (ургентные операции), когда существует высокий риск смерти реципиента в ближайшее время и отсутствует более приемлемая донорская печень.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare no conflict of interest.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Linares I, Hamar M, Selzner N, Selzner M. Steatosis in Liver Transplantation: Current Limitations and Future Strategies. *Transplantation*. 2019 Jan; 103 (1): 78–90. doi: 10.1097/TP.0000000000002466.

2. Zhou JH, Cai JJ, She ZG, Li HL. Noninvasive evaluation of nonalcoholic fatty liver disease: Current evidence and practice. *World J Gastroenterol*. 2019 Mar 21; 25 (11): 1307–1326. doi: 10.3748/wjg.v25.i11.1307.
3. Moosburner S, Gassner JMGV, Nösser M, Pohl J, Wyrwal D, Claussen F et al. Prevalence of Steatosis Hepatis in the Eurotransplant Region: Impact on Graft Acceptance Rates. *HPB Surg*. 2018 Nov 1; 2018: 6094936. doi: 10.1155/2018/6094936.
4. Zhang QY, Zhang QF, Zhang DZ. The Impact of Steatosis on the Outcome of Liver Transplantation: A Meta-Analysis. *Biomed Res Int*. 2019 May 14; 2019: 3962785. doi: 10.1155/2019/3962785.
5. Nair A, Hashimoto K. Extended criteria donors in liver transplantation – from marginality to mainstream. *Hepatobiliary Surg Nutr*. 2018 Oct; 7 (5): 386–388. doi: 10.21037/hbsn.2018.06.08.
6. Wu C, Lu C, Xu C. Short-term and long-term outcomes of liver transplantation using moderately and severely steatotic donor livers: A systematic review. *Medicine (Baltimore)*. 2018 Aug; 97 (35): e12026. doi: 10.1097/MD.00000000000012026.
7. Boteon YL, Wallace L, Boteon APCS, Mirza DF, Mergental H, Bhogal RH, Afford S. An effective protocol for pharmacological defatting of primary human hepatocytes which is non-toxic to cholangiocytes or intrahepatic endothelial cells. *PLoS One*. 2018 Jul 25; 13 (7): e0201419. doi: 10.1371/journal.pone.0201419.
8. Beijert I, Mert S, Huang V, Karimian N, Geerts S, Hafiz EOA et al. Endothelial Dysfunction in Steatotic Human Donor Livers: A Pilot Study of the Underlying Mechanism During Subnormothermic Machine Perfusion. *Transplant Direct*. 2018 Apr 23; 4 (5): e345. doi: 10.1097/TXD.0000000000000779.
9. Avolio AW, Frongillo F, Nicolotti N, Mulè A, Vennarecci G, De Simone P, Agnes S. Successful use of extended criteria donor grafts with low to moderate steatosis in patients with model for end-stage liver disease scores below 27. *Transplant Proc*. 2009 Jan-Feb; 41 (1): 208–212. doi: 10.1016/j.transproceed.2008.10.050.
10. Andert A, Ulmer TF, Schöning W, Kroy D, Hein M, Alizai PH et al. Grade of donor liver microvesicular steatosis does not affect the postoperative outcome after liver transplantation. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2017 Dec 15; 16 (6): 617–623. doi: 10.1016/S1499-3872(17)60064-X.
11. Chu MJ, Dare AJ, Phillips AR, Bartlett AS. Donor Hepatic Steatosis and Outcome After Liver Transplantation: a Systematic Review. *J Gastrointest Surg*. 2015 Sep; 19 (9): 1713–1724. doi: 10.1007/s11605-015-2832-1.
12. Wong TC, Fung JY, Chok KS, Cheung TT, Chan AC, Sharr WW et al. Excellent outcomes of liver transplantation using severely steatotic grafts from brain-dead donors. *Liver Transpl*. 2016 Feb; 22 (2): 226–236. doi: 10.1002/lt.24335.
13. Steggerda JA, Bloom MB, Nouredin M, Brennan TV, Todo T, Nissen NN et al. Higher thresholds for the utilization of steatotic allografts in liver transplantation: Analysis from a U.S. national database. *PLoS One*. 2020 Apr 2; 15 (4): e0230995. doi: 10.1371/journal.pone.0230995.
14. McCormack L, Petrowsky H, Jochum W et al. Use of severely steatotic grafts in liver transplantation: a matched case-control study. *Ann Surg*. 2007; 246: 940–946.

*Статья поступила в редакцию 2.12.2020 г.
The article was submitted to the journal on 2.12.2020*