

ASPECTE HISTOPATOLOGICE ALE CIROZEI HEPATICE ȘI SPLENOPATIEI PORTALE DE INTERES CHIRURGICAL

Vladimir CAZACOV¹, Vladimir HOTINEANU¹,
Marius RAICA², V.-T. DUMBRAVA³,
Adrian HOTINEANU¹, Eugeniu DARII¹, Victor JUC,

¹Clinica 2 Chirurgie, USMF N. Testemițanu,

²Departamentul Morfopatologie,
UMF Timișoara Victor Babeș,

³Clinica 2 medicală, USMF N. Testemițanu

Summary

Features of the morphological picture of the liver and spleen in patients with chronic liver cirrhosis operated on portal genesis splenopathy

The study included 104 patients operated for portal genesis splenopathy, who underwent splenectomy and azygo-portal devascularization. Presented results of studies of the liver and spleen morphological picture in patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis of viral etiology that is necessary for differential diagnosis, therapy appointments and prognosis of the disease.

Keywords: liver cirrhosis, portal splenopathy genesis, histological and immunohistochemical markers

Резюме

Особенности морфологической картины печени и селезенки у больных хроническим циррозом печени, оперированных по поводу спленопатии портального генеза

Исследование включило 104 больных оперированных по поводу спленопатии портального генеза, которым выполнена азыгопортальная деваскуляризация и спленэктомия. Представлены результаты исследования особенностей морфологической картины печени и селезенки у больных хроническим гепатитом и циррозом печени вирусной этиологии, что необходимо для проведения дифференциальной диагностики, назначения терапии и оценки прогноза заболевания.

Ключевые слова: цирроз печени, спленопатия портального генеза, гистологические и иммуногистохимические маркеры

Introducere

Modificările histologice în ciroza hepatică (CH) reprezintă criteriul cel mai valoros pentru confirmarea diagnosticului, identificarea etiologiei, aprecierea expresiei leziunilor hepato-splenice și implicațiilor prognostice [1, 4]. Evoluția naturală a cirozei poate fi împărțită în două faze: preclinică și clinică. Hipertensiunea portală este esențială în trecerea de la stadiul preclinic la cel clinic al cirozei și este determinată de creșterea atât a rezistenței vasculare intrahepatice, cât și a fluxului venos portal [5, 7, 9, 10].

Rezistența vasculară intrahepatică e cauzată de distrugerea arhitecturii ficatului, rezultată în urma fibrozei și creșterii tonusului sinusoidal. Creșterea fluxului venos portal se datorează unei combinații între statusul circulator hiperdinamic și volumul plasmatic crescut [6]. O analiză cantitativă a arterelor terminale ale pulpei roșii-penicilate, capilare a fost realizată în splenomegalia congestivă din hepatitele cronice active, ciroza hepatică și hipertensiunea portală idiopatică, comparându-se cu splina îndepărtată chirurgical posttraumatic [1, 3, 6, 7, 9].

Mărirea volumului pulpei roșii pare să se asociază cu o lungire progresivă a arteriolelor terminale. Mai mult, a fost observată o aranjare diferită a componentelor arborelui arterial: procentul și volumul absolut al arteriolelor și capilarelor a indicat o creștere accentuată a acestora [1, 3, 8, 9]. Acest studiu a demonstrat implicarea arteriolelor terminale în rearanjarea patologică a pulpei roșii în splina congestivă, deci susține ipoteza că splenomegalia nu este rezultatul unei simple congestii pasive [3].

Studiul anterior a demonstrat faptul că fluxul sangvin al arterelor și venelor splenice este crescut la pacienții cu ciroză hepatică, indicând congestia activă a splinei [2, 9, 10]. Mecanismele hemodinamice asociate cu microcirculația și statusul congestiv al splinei în ciroza hepatică rămân necunoscute (Yamaguchi și colab., 2007). Întrucât există date puține și contradictorii referitoare la structura vaselor sangvine ale pulpei roșii și la modificările acestor vase la pacienții cu ciroză hepatică, ne-am propus să evaluăm structura peretelui vaselor splenice la pacienții cu ciroză hepatică.

Material și metode

A fost analizat un lot de 104 pacienți cu hepatopatii cronice de etiologie virală, hipertensiune portală și splenopatie secundară, clasa Child A – 19, B – 69, C – 16, operați în Departamentul Chirurgie Hepatobiliopancreatică, în perioada 2000-2013, la care s-a studiat buletinul histopatologic al biopsiilor hepatice și splenice, gradarea și stadializarea leziunilor fiind făcute după scorul Knodell. Fragmentele biopsice au fost fixate 48 de ore în formalină tamponată 10% , apoi incluse în parafină. S-au realizat secțiuni seriate de 5 micrometri din fiecare bloc, fiind apoi fixate pe lame silanate. Secțiunile de la fiecare caz au fost colorate prin metoda hematoxilină-eozină pentru evaluarea histopatologică.

Studiul imunohistochimic a inclus anticorpi anti-vimentină, actină de tip mușchi neted, CD34, Ki67. Aplicarea anticorpilor primari vimentina (clona V9), actina de tip mușchi neted (clona 1A4), CD34 (Qbend 10), Ki67 (MIB1) a fost precedată de demascarea prin căldură, în soluție pH 6 (5 minute pentru actină, vimentină; 30 de minute pentru CD34, Ki67), și inhibarea peroxidazei endogene cu apă oxigenată

3% 5 minute. După incubarea cu anticorpii primari 30 de minute, a fost utilizat sistemul de lucru *EnVision*, iar pentru vizualizare a fost folosită 3,3 diaminobenzidina. Contracolorarea s-a realizat cu hematoxină Lille modificată. Întreaga tehnică imunohistochimică s-a efectuat cu *DakoCytomation Autostainer*. Examinarea microscopică a fost realizată cu microscopul *Nikon Eclipse E600*. Imaginile au fost preluate și prelucrate folosind sistemul *Lucia G*.

Rezultate obținute

Diagnosticul anatomo-patologic precizat intraoperator și confirmat ulterior la parafină a documentat prezența CH macronodulare în 50 cazuri, micronodulare – în 23 și micromacronodulare – în 31 cazuri. Pe probele de biopsie hepatică am analizat și am gradat necroza portală și periportală, inflamația (portală și lobulară) și fibroza. Evaluarea morfologică și scorificarea biopstatelor hepatice au relevat:

- *hepatită cronică* (9 cazuri), reprezentând 8,6 % din lotul total examinat;
- *CH incompletă* (28 cazuri) care au încadrat expansiunea fibrozei din spațiile porto cu punți de fibroză porto-portale și porto-centrale, delimitate de noduli;
- *CH completă* (67 cazuri) – noduli de regenerare cu fibroză în jur și activitate necroinflamatorie intensă.

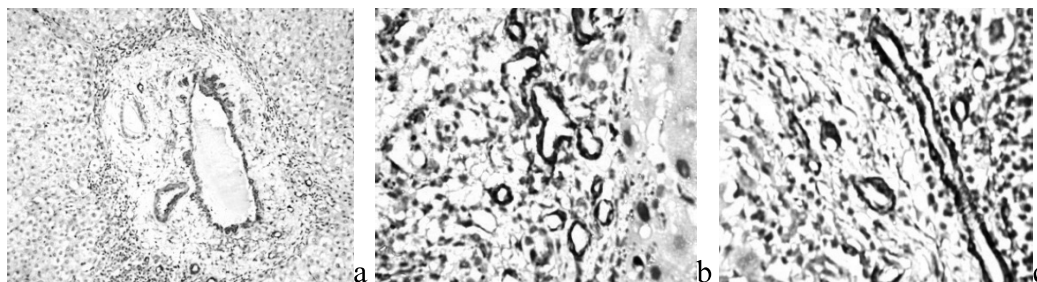


Figura 1. *Hepatită cronică: spațiul port (a, x100). Hipeplazie a vaselor portale (b, x400). Arteriolă portală în secțiune longitudinală (c, x400)*

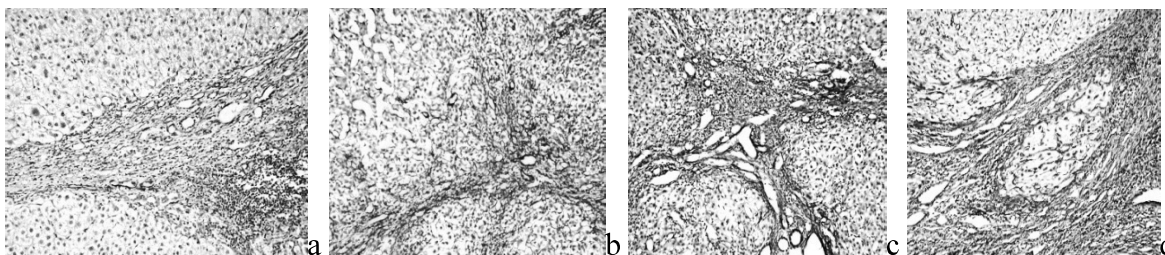


Figura 2. *Ciroză hepatică. Deformarea prin distensie a spațiului port, cu infiltrat inflamator și benzi de celule actin pozitive (a). Reacție în punte cu extensii spre cordoanele de hepatocite (b). Benzi de celule actin pozitive ramificate (c). Micronodul cirotic înconjurat de fascicule de celule intens pozitive (d). Imunoreacție pentru actina de tip mușchi neted, X100*

Componentul autoimun a fost prezent în 23 de cazuri, exprimat prin prezența dominantă a plasmocitelor în biopstate, creșterea markerilor imunoserologici, IgG și CIC. Examinarea microscopica a splinei celor 104 de cazuri a evidențiat faptul că pe preparatele colorate prin metoda hematoxină-eozină, vasele sangvine sunt dificil de identificat (figura 1). Din aceste considerente, în 20 cazuri am folosit metode imunohistochimice (figura 3).

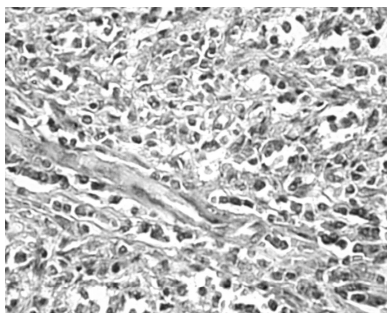


Figura 3. *Pulpa roșie – vase sangvine; celulele endoteliale, ob. 40X*

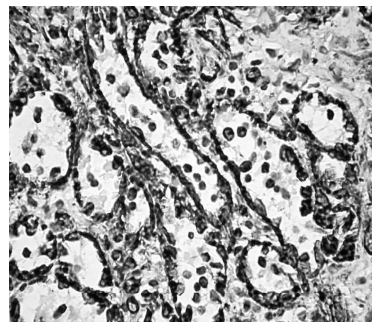


Figura 4. *Expresie intensă a vimentinei în colorație, hematoxină-eozină, ob. 40X*

Pe preparatele colorate cu vimentină, am observat o reacție intensă și constantă a celulelor endoteliale pentru acest marker (*figura 4*), aspect caracteristic pentru toate cele 20 de cazuri incluse în studiu. Referitor la expresia actinei de tip mușchi neted, la pacienții cu hepatită cronică, o reacție perivasculară intensă a fost notată în vasele pulpei albe (*figura 5*).

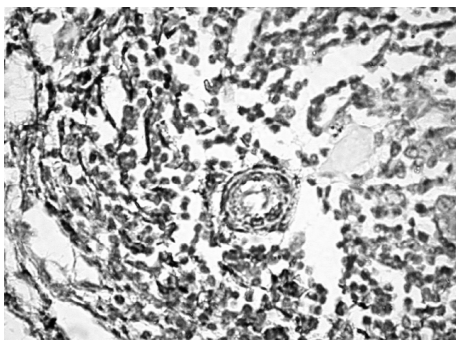


Figura 5. Expresia anticorpului anti-actină

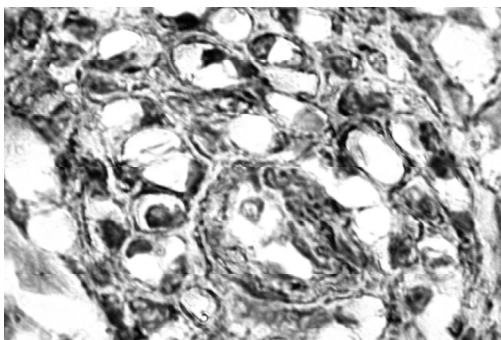


Figura 6. Expresia anticorpului anti-de tip mușchi neted, perivascular, la nivelul actină de tip mușchi neted în vasele vaselor din pulpa albă, ob. X40 de la nivelul pulpei roșii, la pacienții cu CH, ob. X100

La pacienții cu hepatită cronică, mai puțin de 50% din vasele pulpei roșii aveau structuri perivascularare actin pozitive. Am notat, de asemenea, reacția negativă din celulele cordoanelor splenice. La bolnavii cu ciroză hepatică am observat același model de expresie al actinei de tip mușchi neted la nivelul vaselor situate în pulpa albă.

În ceea ce privește expresia acestui marker la nivelul vaselor din pulpa roșie a cazurilor cu ciroză hepatică, majoritatea vaselor au prezentat reacție pozitivă, cel mai adesea în strat continuu (*figura 6*). Acest aspect sugerează prezența celulelor perivascularare – pericite și celule musculare netede. Evaluarea expresiei CD34 la pacienții fără ciroză hepatică a indicat pozitivarea celulelor endoteliale în strat continuu. În anumite arii am găsit strat discontinuu de celule endoteliale CD34 pozitive, aspect ce susține circulația deschisă (*figura 7*). De asemenea, nu am observat diferențe semnificative între expresia imunohistochimică a CD34 la pacienții cu și fără ciroză hepatică.

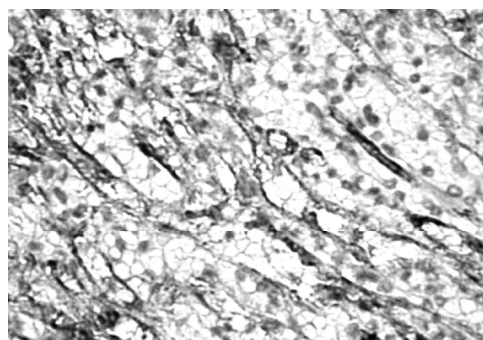


Figura 7. Reacție pozitivă pentru CD 34

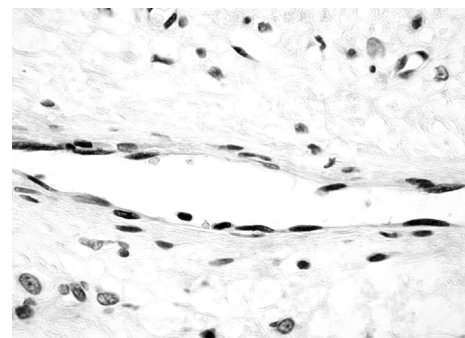


Figura 8. Celule endoteliale Ki 67 pozitive în la pacienții cu ciroză hepatică, ob. X40 vasele pulpei roșii la pacienții cu CH, ob. X10

Expresia Ki 67 în celulele endoteliale din vasele sangvine ale splinei a fost diferită la pacienții cu hepatită cronică comparativ cu cei cu ciroză hepatică. La pacienții fără ciroză hepatică, rata de pozitivare pentru Ki 67 a fost foarte redusă în toate zonele pulpei roșii. Am notat reacția intensă din centrul germinativ al foliculilor limfoizi, aspect care constituie și controlul pozitiv intern al recției. Mai puțin de 1% din celulele endoteliale s-au pozitivat în urma folosirii acestui marker. Prin comparație, în cazul pacienților cu ciroză hepatică (*figura 8*), am observat că numeroase vase de la nivelul pulpei roșii au prezentat celule endoteliale Ki 67 pozitive.

Discuții

Ciroza reprezintă una dintre cele mai frecvente boli letale în țările europene, constituind, împreună cu carcinomul hepatocelular, cea de a treia cauză de deces la pacienții cu vârsta peste 50 de ani; acești pacienți prezintă indicație pentru peste 90% din cele 5000 de transplanturi hepatice realizate anual în Europa. Bolile hepatice cronice sunt caracterizate de remodelarea vaselor intrahepatice, cu capilarizarea sinusoidelor, fibrogeneză și dezvoltarea șunturilor intrahepatice care vor duce la creșterea rezistenței hepatice, deci a presiunii portale și scăderea perfuzării hepatocitelor, cu instalarea insuficienței hepatice.

Hipertensiunea portală este o complicație majoră a cirozei hepatice și o cauză importantă de

deces. Un aspect important al hipertensiunii portale este dezvoltarea unui status circulator hiperdinamic, cu creșterea fluxului sangvin în organele splanhnice și, consecutiv, creșterea fluxului sangvin al venei porte. Mecanismele ce însoțesc hiperemia splanhică nu sunt pe deplin cunoscute, dar este implicată supraproducția unor factori endogeni vasodilatatori și scăderea reactivității vasculare la vasoconstrictoare [19, 21].

Studiul nostru a indicat pozitivarea celulelor endoteliale pentru CD34 în strat continuu. În anumite arii am observat strat discontinuu de celule endoteliale CD34 pozitive, aspect ce susține circulația deschisă. Între expresia imunohistochimică a CD34 la pacienții cu ciroză hepatică și cei cu hepatită cronică nu am remarcat diferențe semnificative. Referitor la expresia anticorpului antiactină de tip mușchi neted la nivelul vaselor din pulpa roșie a cazurilor cu ciroză hepatică, majoritatea vaselor au prezentat reacție pozitivă, cel mai adesea în strat continuu, aspect ce indică prezența celulelor perivasculare.

Concluzii

1. Reacția pozitivă pentru Ki67 în celulele endoteliale susține proliferarea acestora la pacienții cu ciroză hepatică. Această observație poate avea legătură cu remodelarea vasculară din timpul creșterii în volum a splinei ce se întâlnește la pacienții cu ciroză hepatică.

2. Expresia CD34 și actinei de tip mușchi neted a demonstrat că majoritatea vaselor din pulpa roșie a pacienților cu ciroză hepatică este de tip matur – a fost notată prezența celulelor perivasculare: pericite și celule musculare netede.

3. Implicarea splinei în degradarea trombocitelor, poate susține ipoteza existenței unei substanțe implicate în maturarea timpurie a vaselor sangvine din splina pacienților cu ciroză hepatică.

4. Luate împreună, potențialul proliferativ al celulelor endoteliale ale splinei și caracterul matur al vaselor, pot fi consecința unui proces rapid de maturare.

5. Coroborând examenele imunohistochimice cu cele morfometrice efectuate, se poate elabora un

protocol de diagnostic histopatologic complet al cirozei hepatice asociate cu splenopatie portală, util în stabilirea tratamentului de elecție postchirurgical la pacienții splenectomizați.

Bibliografie

1. Bolognesi M., Merkel C., Sacerdoti D., Nava V., Gatta A. *Role of spleen enlargement in cirrhosis with portal hypertension*. In: *Digest Liver Dis.*, 2002; nr. 34, p. 144-150.
2. Cavalli G., Re G., Casali A.M. *Red pulp arterial terminals in congestive splenomegaly. A morphometric study*. In: *Pathology, research and practice*, 1984; nr. 178(6), p. 590-594.
3. Clauburn A. *The spleen: anatomy and anatomical function*. In: *Semin. Hematol.*, 2000; nr. 37, p. 13-21.
4. Figg W.D., Folkman J. *Angiogenesis: an integrative approach from science to medicine*. 2008, nr. 9; p. 43-47.
5. Roberto de Franchis, Massimo Primignani. *Natural history of portal hypertension in patients with cirrhosis*. In: *Clinics in Liver Disease*, August 2001, p. 645-663.
6. Ralph Giorno. *Immunohistochemical analysis of the distribution of vimentin in human peripheral lymphoid tissues*. In: *The Anatomical Record*, v. 211, issue 1, p. 43-47, Published Online: 2005.
7. Merkel C., Gatta A., Arnaboldi L., Zuin R. *Splenic haemodynamics and portal hypertension in patients with liver cirrhosis and spleen enlargement*. In: *Clin. Physiol.*, 1985, nr. 5, p. 531-539.
8. Birte Steiniger, Vitus Stachniss, Hans Schwarzbach. *Phenotypic differences between red pulp capillary and sinusoidal endothelia help localizing the open splenic circulation in humans*. In: *Histochemistry and Cell Biology*, vol. 128, November, 2007, p. 391-398.
9. Takagi K., Ahida H., Utsunomiya J. *The effect of splenomegaly on splanchnic hemodynamics in non-alcoholic cirrhosis after distal splenorenal shunt and splenopancreatic disconnection*. In: *Hepatology*, 1994, nr. 20, p. 342-348.
10. Zwiebel W.J., Mountford R.A., Halliwell M.J. *Splanchnic blood flow in patients with cirrhosis and portal hypertension: investigation with duplex Doppler*. In: *US Radiology*, 1995, nr. 194, p. 807-812.

Vladimir Cazacov, conferențiar universitar,
Catedra 2 chirurgie, USMF N. Testemițanu
Chișinău, str. N. Testemițanu 13/2, ap. 16
Tel.: (022) 791203; Mob.: 069143363
E-mail: cazacov1@yahoo.com