

BIOPSIJA JETRE KOD HEPATITISA C

LIVER BIOPSY IN HEPATITIS C INFECTION

Dražen Kovač¹

SAŽETAK

Biopsija jetre iglom, najbolji je dijagnostički postupak koji daje uvid u stvarno oštećenje jetrenoga parenhima, ne samo kod hepatitisa C već i kod drugih bolesti koje pogađaju jetru. Materijal dobiven punkcijom koristi se uglavnom za patohistološku analizu, ali može se koristiti i za elektronsko mikroskopiranje, te za molekularnu analizu. Materijal mora biti najmanje duljine 1,5 cm i širine 0,2 cm, a određuje li se stupanj oštećenja jetre numeričkim indeksom HAI (engl. histology activity index), mora sadržavati bar 6 cjelovitih portalnih prostora. Godine 1995. Ishak i suradnici uveli su numerički indeks koji koristi grading i staging. Grading označava stupanj oštećenja jetre (piecemeal nekroze, konfluirajuće i premošćujuće nekroze, žarišne nekroze i apoptoze, te portalna upala), a staging označava promjene u građi jetre, količinu fibroze, odnosno cirozu kao krajnju fazu bolesti. Ukupni zbroj bodova kliničaru daje podatke o stanju jetrenoga tkiva, te se na osnovi toga određuje terapijski protokol.

Ključne riječi: biopsija jetre, fibroza, stupanj oštećenja jetre (grading i staging)

SUMMARY

Liver needle biopsy is the best diagnostic procedure to estimate a profound of liver damage, not only in C-hepatitis, then in the other liver diseases. Specimen provided by liver needle biopsy is used generally for pathological analysis, but also could be used for electron microscopy and molecular analysis. Specimen has to be 1,5 cm long and 0,2 cm wide at least and must contain 6 whole portal areas for assessing HAI (histology activity index). HAI is a numerical score for evaluation the grade of liver damage. In 1995, Ishak and colleagues were introduced a numerical score which used a terms grading and staging. Grading means the degree of liver damage (piecemeal necrosis, confluent and bridging necrosis, focal necrosis and apoptosis, portal inflammation), staging means architectural changes, fibrosis and cirrhosis. Total score is a guideline for a clinician to choose an exact therapeutic protocol.

Key words: liver biopsy, grading, staging, liver damage, fibrosis

UVOD

Biopsija jetre najbolji je dijagnostički postupak koji daje uvid u stvarno stanje oštećenja jetrenoga parenhima. Uz to, biopsija jetre može otkriti i vrstu oštećenja, iako su u slučaju virusnih hepatitisa, pa tako

i hepatitisa C, serološke pretrage najpouzdanije za otkrivanje etiologije oštećenja jetre. Prava procjena stupnja oštećenja jetrenoga parenhima i napredovanja bolesti omogućuje dobru klasifikaciju, izbor najprikladnije terapije, te procjenu prognoze u svakoga pojedinačnoga bolesnika. Također, danas se na pojedinačnome bolesniku izvode i višestruke biopsije prije liječenja i nakon liječenja, te se tako može vidjeti učinak terapije na histološke promjene jetre.

Danas se koristi perkutana punkcijska biopsija jetre uz kontrolu ultrazvukom, ili bez te kontrole.

¹Zavod za patologiju i opću anatomiju Medicinskoga fakulteta u Rijeci

Primljeno: 1. kolovoza 2007.

Prihvaćeno: 15. kolovoza 2007.

Adresa za dopisivanje: prof. dr. sc. Dražen Kovač, Zavod za patologiju i opću anatomiju Medicinskoga fakulteta Sveučilišta u Rijeci, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka, tel.: 051 325 811, e-mail: drazen.kovac@medri.hr

Osim za dijagnostiku i procjenu stupnja oštećenja kod hepatitisa C, takva se biopsija koristi i za druge oblike hepatitisa (virusni, toksični, autoimuni), kod različitih metaboličkih i autoimunih bolesti (deficit α -1 antitripsina, hemokromatoza, kolo-statske bolesti, NASH i drugo), te kod žarišnih oštećenja, uključujući novotvorine.

Dobiveni materijal koristi se uglavnom za patohistološku analizu, no ponekad može se ispitati i elektronskim mikroskopom, raznim molekularnim tehnikama, a kemijskim se postupcima kvantitativno može odrediti i sadržaj određene tvari (primjerice željezo, ili bakar).

Vrlo je važno dobiti reprezentativni uzorak koji će patologu omogućiti pouzdani, te kliničaru korisni nalaz. To znači da cilindar dobiven punkcijom mora biti jetreno tkivo (u manjem broju slučajeva u cilindru se može naći koža, potkožno tkivo, ili poprečnoprugasto mišićje), najmanje duljine 1,5 cm, promjera ne manjeg od 0,2 cm. Određuje li se HAI (engl. histology activity index), u uzorku treba biti najmanje 6 cjelovitih portalnih prostora¹. U slučaju žarišnih oštećenja, materijal je potrebno uzeti s više mjesta.

Uz kvalitetan uzorak jetrenoga parenhima i uz uputnu dijagnozu, dobro je imati na uputnici navedene kliničke i laboratorijske nalaze.

Histološka obrada

Važno je napomenuti da s tkivom valja pažljivo rukovati, nastojati izbjeći mehanička oštećenja (primjerice pincetom), te tkivo čim prije ubaciti u fiksativ (10%-tni puferirani formalin pH 7,2). Trajanje fiksacije ovisi o debljini tkiva. Na sobnoj temperaturi i uz normalni tlak, za cilindar jetrenoga tkiva fiksacija traje približno tri sata. Danas postoje uređaji koji na povišenoj temperaturi (do 50°C) i u vakuumu takav cilindar fiksiraju tijekom triju minuta.

Nakon fiksacije provodi se dehidracija u nizu alkohola, prožimanje ksilolom, te prožimanje parafinom. Ručno, postupak traje 24 sata, u histokinet-uređaju traje 18 sati, a u prije navedenim suvremenim uređajima traje tek jedan sat. Nakon toga materijal se zalije tekućim parafinom, te se oblikuje parafinska kocka koju je potrebno ohladiti. Slijedi rezanje na mikrotomu (rezovi debljine 4 – 6 mikrometara), postavljanje rezova na stakalce, te bojenje. Za bojenje uobičajeno se primjenjuje hemalaun-eozin. Uz to, na Zavodu za patologiju i opću anatomiju Medicinskoga fakulteta Sveučilišta u Rijeci, biopsije jetre uobičajeno se boje na elastična vlakna, kolagen, granule kod

deficita α -1 antitripsina, željezo, ground glass hepatocite, te na protein koji veže bakar. Valja napomenuti da se histokemijsko bojenje primjenjuje na svim uzorcima jetrenoga tkiva, uključujući uzorke tkiva oboljelih od hepatitisa C.

Uz histokemijsko bojenje, te ovisno o potrebi, preparati se mogu bojiti imunohistokemijskim postupcima pomoću monoklonalnih ili poliklonalnih protutijela kojima se mogu dokazati specifični antigeni u stanici, na membrani, ili izvan stanice, te se mogu vizualizirati pigmentom.

Patohistološka analiza biopsije jetre kod hepatitisa C

Patohistološke promjene u jetrenome tkivu mogu biti jedva zamjetne, a mogu pokazivati osobitosti izrazito važne za konačni zaključak, odnosno za bioptički nalaz. Uz promjene na razini stanice, za konačni nalaz bitno je stanje lobularne građe jetre, te stanje svih građevnih jedinica jetre. To je važno za sve patološke promjene, uključujući promjene koje se pojavljuju kod hepatitisa C.

U portalnim prostorima procjenjuje se količina fibroze, proširenost portalnih prostora, količina upalnoga infiltrata, te prodor upalnoga infiltrata u parenhim, što se naziva piecemeal nekrozom. Kod hepatitisa C, u portalnim se prostorima često nalazi obilan upalni infiltrat (prevladavaju limfociti, ali može se naći i poprilično eozinofila), koji u većem broju slučajeva oblikuje limfni folikul. To se često može vidjeti, ali nije svojstveno za hepatitis C. U početku fibroza proširuje portalne prostore, a poslije mogu se vidjeti vezivni tračci koji se šire u parenhim, te se protijekom vremena između portalnih prostora oblikuju vezivne sponje. U razvijenoj cirozi prevladava vezivno tkivo, a parenhim je sveden na otočiće.

Uz navedeno, u portalnim prostorima valja procijeniti i stanje žučnih vodova, odnosno potrebno je vidjeti koliko ih ima (trebao bi biti samo jedan žučni vod), potom kakav je epitel, ima li upale, jesu li žučni vodovi prošireni, ima li žučnih čepova, te drugo. Kod hepatitisa C, u ranim fazama bolesti žučni su kanalići oštećeni, stoga može doći do njihova nestajanja ili duktopenije koja je uobičajeno prisutna u kasnijim fazama bolesti.

U parenhimu procjenjuje se izgled hepatocita, nakupljanje vode, glikogena, masti, željeza, bilirubina i drugog. Promatra se količina nekrotičnih hepatocita, te upalni infiltrat. Nekroze mogu biti u rasponu od pojedinačnih, odnosno žarišnih nekroza, preko konfluirajućih i piecemeal nekroza do premošćujućih (bridging) nekroza, te omanjih i masivnih nekroza. Pozornost valja

usmjeriti i na apoptotička (Councilmanova) tjelešca. Regeneracija hepatocita uobičajeno je razvijena, te se očituje u većoj ili manjoj polimorfiji, ili čak displaziji hepatocita. Potrebno je ustanoviti količinu upalnoga infiltrata, sinusoida s Kupferovim stanicama, te središnje vene. Kod hepatitisa C često se može vidjeti mikrovezikularna, pogotovu makrovezikularna steatoza, odnosno nakupljanje masnih čestica u citoplazmi hepatocita. Također, može se vidjeti i takozvano baloniranje citoplazme, odnosno nakupljanje vode. U periportalnim hepatocitima može se uočiti Mallorijev hijalin (eozinofilne tvorbe oko jezgara hepatocita, odnosno nakupljanje intermedijarnoga filameta).

TUMAČENJE JETRENIH BIOPSIJA KOD HEPATITISA C

Kronični hepatitis najčešći je patološki pokazatelj infekcije hepatitisom C. Zadaća je patologa odrediti težinu promjena u biopatu jetre kod kronične infekcije hepatitisom C.

Prvu histološku podjelu kroničnoga hepatitisa izradili su DeGrote i suradnici godine 1968. Tom su podjelom bili obuhvaćeni hepatitis A, hepatitis B, te hepatitis non-A, non-B (tada uzročnik hepatitisa C još nije bio otkriven). Podjela je bila jednostavna – dijelila je kronični hepatitis u dvije skupine: kronični perzistentni hepatitis (KPH), te kronični agresivni hepatitis (KAH). Dok je KPH bio blaži oblik s boljom prognozom i bez nekroza, te s upalnim infiltratom jedino u portalnim prostorima, KAH je bio oblik s lošijom prognozom, s nekrozama, te sa širenjem nekroza u parenhim, uz fibrozu. Terapija je bila primjenjivana u slučaju KAH-a.

Na osnovi sve učestalijih biopsija jetre, patolozi su uvidjeli da postoje i drugi histološki oblici kroničnoga hepatitisa, te je protijekom vremena takva podjela postala manjkava. Postupno, prevladalo je mišljenje o tomu da se u biopatumima zapravo vide različite faze razvoja kroničnoga hepatitisa, a ne posebni statični histološki oblici. Otkriće uzročnika hepatitisa C godine 1991., dovelo je do velikih promjena u poimanju histoloških oštećenja i njihove kliničke važnosti. Naime, u mnogih bolesnika s hepatitisom C, koji su prije otkrića bili svrstavani u non-A, non-B hepatitis, a prema histološkome su obliku bili KPH, nakon određenoga broja godina

ciroza se ipak razvila. To je upućivalo na činjenicu da su za razvitak i prognozu presudni uzročnik hepatitisa i reakcija organizma, a ne jedino histološki oblik. Patohistološka analiza jetrenih biopsija zadržala je svoju važnost (ta se važnost može i povećala), iako je bilo potrebno promijeniti način tumačenja.

Usporedno s manjkavostima prijašnje podjele, došlo je do razvoja antivirusnih lijekova, odnosno liječenje te bolesti umnogome je napredovalo korištenjem kombinacija novih lijekova. Pritom je biopsija jetre dobila novu važnost – postala je pokazateljem uspješnosti terapije preko izvođenja uzastopnih biopsija u pojedinačnoga bolesnika. Uz izvođenje biopsije s histološkim nalazom, dobivena je dinamika promjena u jetri, stoga opisni subjektivni utisak o tomu je li kakva promjena oskudna ili obilna više nije bio dovoljan, odnosno nije bio dovoljno točan za kliničara. Pokazala se potreba za numeričkim indeksima, odnosno uz određenu histološku promjenu dodavao se bod prema određenoj tablici, a zbroj bodova svrstavao bi histološki nalaz u određenu skupinu težine oštećenja, te bi se na toj osnovi primjenjivala i određena terapija primjerena stupnju oštećenja.

Prvi takav indeks bio je numerički indeks HAI (engl. histological activity index), koji je pokazivao stupanj oštećenja jetre, a izradili su ga Knodell i suradnici godine 1981. Kriteriji aktivnosti kroničnoga hepatitisa za prvu skupinu bile su piecemeal, premošćujuće i multilobularne nekroze (0 – 10 bodova), drugom skupinom bile su obuhvaćene žarišne nekroze i apoptoze unutar lobula (0 – 4 boda), treću skupinu obilježavala je obilnost upalnoga infiltrata u portalnome prostoru (0 – 4 boda), a četvrtu skupinu količina vezivnoga tkiva (0 – 4 boda). Knodellov su indeks vrlo brzo prihvatili patolozi i kliničari, te se i danas primjenjuje.

Suvremeniji terapijski protokoli doveli su do toga da je moguće postići određenu regresiju fibroze, stoga je bilo potrebno odvojiti numerički indeks za aktivnost oštećenja od numeričkoga indeksa za količinu fibroze i poremećaja lobularne građe jetre.

Godine 1995. Ishak i suradnici uveli su pojmove grading, odnosno numerički indeks za aktivnost oštećenja, te staging, odnosno numerički indeks za fibrozu i za cirozu². Nakon višestrukih izmjena, taj sustav u cijelosti izgleda ovako³:

1. Grading	
A. Periportalne i periseptalne piecemal nekroze (interface hepatitis)	
– odsutne	0
– oskudne (fokalne, pojedini portalni prostori)	1
– oskudne/srednje (fokalne, većina periportalnih prostora)	2
– srednje obilne (kontinuirane u ≤50% periportalnih prostora)	3
– obilne (kontinuirane u ≥50% periportalnih prostora)	4

B. Konfluirajuće i premošćujuće nekroze	
– odsutne	0
– fokalne spojene nekroze	1
– spojene nekroze oko pojedinih središnjih vena	2
– spojene nekroze oko većine središnjih vena	3
– mjestimične portocentralne premošćujuće nekroze	4
– višestruke premošćujuće nekroze	5
– multilobularne nekroze	6

C. Fokalne nekroze, apoptoza, žarišna upala	
– odsutne	0
– jedno žarište/jedno vidno polje maloga povećanja	1
– 2 do 4 žarišta	2
– 5 do 10 žarišta	3
– više od 10 žarišta	4

D. Portalna upala	
– odsutna	0
– oskudna	1
– umjerena u pojedinim portalnim prostorima	2
– umjerena/obilna u svim portalnim prostorima	3
– obilna u svim portalnim prostorima	4
Maksimalno 18 bodova	

2. Staging	
– bez fibroze	0
– fibroza pojedinih portalnih prostora	1
– fibroza većine portalnih prostora	2
– fibroza većine portalnih prostora s mjestimičnim portoportalnim vezivnim septama	3
– fibroza portalnih prostora s obilnim portoportalnim i portocentralnim vezivnim septama	4
– obilna vezivna septa s mjestimičnim regenerativnim čvorićima (nepotpuna ciroza)	5
– ciroza	6
Maksimalno 6 bodova	

To je djelomična kvantitativna procjena težine kroničnoga hepatitisa, te se može dati patohistološki nalaz o aktivnosti oštećenja, koja mogu biti minimalna, blaga, umjerena i teška. Zbroj bodova ne uzima se u apsolutnoj vrijednosti, već se u obzir uzima relativna važnost pojedinih oštećenja. Primjerice, smatra li se aktivnost minimalnom ili blagom, portalna upala može varirati od 0 do 4, ali konfluirajuće i premošćujuće nekroze moraju biti 0, a piecemal nekroze i žarišne nekroze ne smiju prelaziti 1. Iako granice ne smiju biti shvaćene apsolutno, godine 1994. Desmet i suradnici postavili su okvirne granice aktivnosti kroničnoga hepatitisa:

- bodovi 1 – 3 minimalni kronični hepatitis
- bodovi 4 – 8 blagi kronični hepatitis
- bodovi 9 – 12 umjereni kronični hepatitis
- bodovi 13 – 18 teški kronični hepatitis

Tijekom određivanja faze aktivnosti, analizira se količina vezivnoga tkiva i poremećaj lobularne građe, od gotovo zanemarljive fibroze do jasne, očite ciroze. Numerički indeks dobro usmjerava kliničara prema pravomu terapijskomu protokolu kako bi mogao djelovati na aktivnost kroničnoga hepatitisa poradi smanjenja oštećenja, ali i nastojanja mogućega zaustavljanja fibrotičnih promjena, čak i njihova smanjenja.

LITERATURA

1. Desmet JV, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of Chronic Hepatitis: Diagnosis, Grading and Staging. *Hepatology* 1994;19: 1513-20.
2. Ishak KG, Baptista A, Bianchi I. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatology* 1995;22:696-9.
3. Scheuer PJ. Chronic hepatitis: what is activity and how should be assessed. *Histopathology* 1997;30:103-5.
4. Ferrell LD, Theise ND, Scheuer PJ. Acute and Chronic viral hepatitis. U: Mac Sween RNM, Burt AD, Portmann BC, Ishak KG, Scheuer PJ, Anthony PP. *Pathology of the liver*. London, Edinburgh, New York, Philadelphia, St. Louis, Sidney, Toronto: Churchill-Livingstone 2002:325-34.