

## МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СТРОМАЛЬНОГО ТА ПАРЕНХІМАТОЗНОГО КОМПОНЕНТІВ ПЕЧІНКИ ДІТЕЙ ВІКОМ ВІД 6 ДО 12 МІСЯЦІВ ВІД ВІЛ-МОНО-ІНФІКОВАНИХ МАТЕРІВ

Панов С. І.

Пошта для листування: StanislavPanov@karazin.ua

**Резюме.** ВІЛ-інфекції наданий статус пандемії, тому проблемі ВІЛ-інфекції приділяється підвищена увага і витрачається колосальна кількість ресурсів у всіх країнах світу. Будь-які наукові дослідження, будь-які наукові дані привертають до себе підвищену увагу з боку наукового медичного співтовариства, преси та урядових структур. ВІЛ вражає всі верстви населення, людей будь-якої статі і віку, включаючи плодів і новонароджених від ВІЛ-інфікованих матерів. **Мета.** Вивчити морфологічні особливості стромального та паренхіматозного компонентів печінки дітей віком від 6 до 12 місяців від ВІЛ-моно-інфікованих матерів. **Матеріали та методи.** Досліджено 87 біоптатів тканини печінки померлих дітей віком до 1 року від ВІЛ-моно-інфікованих матерів. Усі морфометричні показники стромально-паренхіматозного компонента печінки обчислювали за допомогою мікроскопічної морфометричної сітки Автандилова, яка складалася з 100 рівновіддалених крапок і вставлялася в окуляр мікроскопу при загальному збільшенні мікроскопа  $\times 200$ . Підраховувалася кількість крапок, які припали на відповідні структури строми та паренхіми. У кожному препараті було вивчено по 10 випадково обраних полів зору, а потім отримані дані обчислювалися і були представлені у вигляді відсотків. **Результати.** Морфометричні показники гепатоцитів: одноядерні гепатоцити –  $90.2 \pm 7.6$  % [контроль –  $93.5 \pm 7.1$ ], двоядерні гепатоцити –  $9.8 \pm 1.2$  % [контроль –  $6.5 \pm 1.2$ ], ДОГК –  $0.10 \pm 0.02$  [контроль –  $0.06 \pm 0.01$ ], гепатоцити з жировими вакуолями –  $19.6 \pm 2.1$  % [контроль –  $0.5 \pm 0.2$ ]. Стромально-паренхіматозні показники печінки: паренхіма –  $56.1 \pm 3.3$  % [контроль –  $74.2 \pm 4.3$ ], строма (включаючи судини і ЖП) –  $43.9 \pm 3.7$  % [контроль –  $25.8 \pm 2.6$ ], СПП –  $0.78 \pm 0.02$  [контроль –  $0.34 \pm 0.01$ ]. Морфометричні показники всіх компонентів печінки: гепатоцити –  $56.1 \pm 3.3$  % [контроль –  $74.2 \pm 4.3$ ], портальні тракти –  $26.4 \pm 2.1$  % [контроль –  $3.1 \pm 0.6$ ], центральні вени –  $8.1 \pm 1.2$  % [контроль –  $9.3 \pm 1.4$ ], синусоїди –  $7.3 \pm 1.2$  % [контроль –  $10.5 \pm 1.3$ ], жовчні протоки –  $2.1 \pm 0.1$  % [контроль –  $2.9 \pm 0.2$ ]. Показники рівня експресії: фібронектин –  $73.2 \pm 4.2$  % [контроль –  $17.3 \pm 2.5$ ], колаген I типу –  $15.9 \pm 1.2$  % [контроль –  $9.7 \pm 1.9$ ], колаген III типу –  $20.1 \pm 2.6$  % [контроль –  $10.1 \pm 0.9$ ], колаген IV типу –  $7.3 \pm 0.2$  % [контроль –  $5.9 \pm 0.2$ ]. **Висновки.** В печінці дітей від ВІЛ-інфікованих матерів у паренхіматозному компоненті печінки реєструвалися ознаки його значної редукції, підвищення рівня регенераторної активності гепатоцитів, жировий гепатоз з ознаками реактивного стеатогепатиту. В стромальному компоненті печінки реєструвалися ознаки його прогресивного розростання та колагенізації за рахунок підвищеної продукції та накопичення фібронектину, колагенів I, III типів в стромі портальних трактів і сформованих септ, та капіляризації синусоїдів за рахунок накопичення колагену IV типу в просторах Діссе за ходом синусоїдів.

**Ключові слова:** ВІЛ, печінка дитини, паренхіма печінки, строма печінки

### Інформація про авторів

Панов Станіслав Ігорович, асистент кафедри анатомії людини медичного

факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна, майдан Свободи, 6, Україна, Харків 61022

e-mail: [StanislavPanov@karazin.ua](mailto:StanislavPanov@karazin.ua)  
<https://orcid.org/0000-0001-9264-0088>

**Вступ.** ВІЛ-інфекції наданий статус пандемії, тому проблемі ВІЛ-інфекції приділяється підвищена увага і витрачається колосальна кількість ресурсів у всіх країнах світу. Будь-які наукові дослідження, будь-які наукові дані привертають до себе підвищену увагу з боку наукового медичного співтовариства, преси та урядових структур. ВІЛ вражає всі верстви населення, людей будь-якої статі і віку,

включаючи плодів і новонароджених від ВІЛ-інфікованих матерів.

За даними офіційного бюлетеня Об'єднаної Програми Організації Об'єднаних Націй з ВІЛ/СНІД (UNAIDS) за 2018 рік, в світі живе 36.9 мільйонів (31.1-43.9 мільйонів) ВІЛ-інфікованих осіб, серед яких 35.1 мільйонів (29.6-41.7 мільйонів) складають дорослі і 1.8 мільйонів (1.3-2.4 мільйонів) – діти молодше 15 років. Кількість ВІЛ-інфікованих жінок

старше 15 років становить 18.2 мільйонів (15.6-21.4 мільйонів). В Україні станом на 2018 рік живе 240 тисяч (230-260 тисяч) ВІЛ-інфікованих осіб, серед яких 5000 (4500-5900) складають діти молодше 15 років. Кількість ВІЛ-інфікованих жінок старше 15 років становить 110 тисяч (100-120 тисяч) осіб [1, 2].

Серед ВІЛ-інфікованих пацієнтів переважають дорослі, тому в науковій літературі простежується очевидний дефіцит даних щодо дітей від ВІЛ-інфікованих матерів. Враховуючи специфіку взаємодії ВІЛ з організмом, вивченню підлягає в основному лімфо-ретикулярна система та опортуністичні інфекції у дітей, які були індуковані ВІЛ [3].

Печінка є складним і багатокомпонентним органом, який виконує безліч різних завдань, і який, як показали дослідження у дорослих ВІЛ-інфікованих пацієнтів, є важливою таргетною структурою для ВІЛ [4, 5]. У науковій літературі немає інформації щодо предметного аналізу як структури печінки дітей та яким чином залучаються до патологічного процесу при ВІЛ-інфекції. Тому, вивчення стану стромального та паренхіматозного компонентів печінки дітей від ВІЛ-інфікованих матерів є важливою проблемою, яка потребує розв'язання.

**Метою** даного дослідження являється вивчення морфологічних особливостей стромально-паренхіматозного компонента печінки дітей віком від 6 до 12 місяців від ВІЛ-моно-інфікованих матерів.

#### **Матеріали та методи дослідження**

Досліджено 87 біоптатів тканини печінки померлих дітей віком від 6 до 12 місяців від ВІЛ-моно-інфікованих матерів (група N12) та 45 біоптатів тканини печінки здорових доношених новонароджених, які народилися від здорових матерів з фізіологічним перебігом вагітності (група К). Термін гестації дітей групи К становив 37–40 тижнів. Діти групи К загинули внаслідок важкої черепно-мозкової травми (новонароджені) або передчасного відшарування нормально розташованої плаценти (мертвонароджені) у пологах; тривалість життя новонароджених не перевищувала 24 годин. Діти групи N12 мали офіційно підтверджений ВІЛ-позитивний статус та загинули від опортуністичних

інфекцій (пневмоцистна пневмонія, аспергильоз легень) за рахунок гострої легенево-серцевої недостатності. Дослідження матеріалу автопсій проводилося відповідно до вимог «Інструкції про проведення розтинів» (Наказ МОЗ України № 6 від 17.01.1995); відповідно до вимог, норм та типових положень з питань етики МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.; «Порядку вилучення біологічних об'єктів у померлих, тіла яких підлягають судово-медичній експертизі і патологоанатомічному дослідженню, для наукових цілей» (2018). Матеріал був зібраний за період з 1998 по 2018 р. в Одеському та Дніпропетровському обласних патологоанатомічних бюро.

Вік ВІЛ-моно-інфікованих матерів в середньому склав  $26.0 \pm 4.1$  років (22.0-30.0). Це були жінки низького соціально-економічного рівня, які не планували вагітність, ніколи не обстежувалися до та не відвідували жіночу консультацію під час вагітності. Практично всі жінки дізналися про свій ВІЛ-позитивний статус або незадовго до пологів, або відразу після них, і відмовилися отримувати антиретровірусну терапію. Троє жінок самостійно народили дітей в домашніх умовах і дізналися про свій ВІЛ-позитивний статус тільки після того, як звернулися за медичною допомогою з приводу важких і загрозливих для життя своїх дітей опортуністичних інфекцій. Всі жінки, чиї загинули діти склали групу дослідження N12, мали офіційно підтверджену ВІЛ-моно-інфекцію без будь-яких клінічних проявів СНІДу та без будь-яких інших ко-інфекцій. Всі жінки на момент вагітності та пологів не були ін'єкційними наркоманками, не приймали алкоголь в значних кількостях і мали постійне місце проживання.

Для морфологічного дослідження шматочки печінки фіксувалися в 10 % розчині нейтрального формаліну, а потім матеріал підлягав стандартній проводці через спирти зростаючої концентрації, рідину Никифорова (96% спирт і діетиловий ефір у співвідношенні 1:1), хлороформ, після чого заливався парафіном. З приготованих у такий спосіб блоків робили серійні зрізи завтовшки 3-5 мкм на мікротомі Microm HM – 340. Для

оглядової мікроскопії отримані серійні зрізи забарвлювалися гематоксиліном і еозином.

Регенераторну активність паренхіми печінки оцінювали за кількістю одно- та двоядерних гепатоцитів. Кількість одно- та двоядерних гепатоцитів обчислювали за допомогою мікроскопічної морфометричної сітки Автандилова, яка складалася з 100 рівновіддалених крапок і вставлялася в окуляр мікроскопу при збільшенні мікроскопа  $\times 200$ . Підраховувалася кількість крапок, які припали на одно- та двоядерних гепатоцити. У кожному препараті було вивчено по 10 випадково обраних полів зору, а потім отримані дані обчислювалися та були представлені у вигляді відсотків [4]. Також, обчислювався коефіцієнт двоядерні/однойдерні гепатоцити (ДОГК) за формулою:

$$\text{ДОГК} = \frac{\text{Кількість двоядерних гепатоцитів (\%)}}{\text{Кількість однойдерних гепатоцитів (\%)}}$$

Для морфометричної оцінки стану стромального, паренхіматозного, судинного та жовчовивідного компонентів печінки також використовували мікроскопічну морфометричну сітку Автандилова, яка складалася з 100 рівновіддалених крапок і вставлялася в окуляр мікроскопу при збільшенні мікроскопа  $\times 200$ . Підраховувалася кількість крапок, які припали на стромальний (портальні тракти, септи), паренхіматозний (гепатоцити), судинний (портальні судини, центральні вени, синусоїди) та жовчовивідний (жовчні капіляри) компоненти печінки. У кожному препараті було вивчено по 10 випадково обраних полів зору, а потім отримані дані обчислювалися та були представлені у вигляді відсотків. Також, з отриманих даних обчислювався стромально-паренхіматозний індекс (СПІ) за формулою:

$$\text{СПІ} = \frac{\text{Показник строми (\%)}}{\text{Показник паренхіми (\%)}}$$

Імуногістохімічні особливості строми печінки вивчали за допомогою непрямого імунопероксидазного методу на парафінових зрізах завтовшки 3-5 мкм. У всіх випадках і у кожному препараті було проведено по 10 випадково обраних полів зору, а позитивні сигнали (позитивна експресія у вигляді коричневого

забарвлення) були виміряні за допомогою мікроскопічної морфометричної сітки Автандилова, яка складалася з 100 рівновіддалених крапок і вставлялася в окуляр мікроскопу при збільшенні мікроскопа  $\times 200$ . Підраховувалася кількість крапок, які припали на позитивний сигнал, а потім отримані дані обчислювалися та були представлені у відсотках. У кожному препараті було вивчено по 10 випадково обраних полів зору, а потім отримані дані обчислювалися та були представлені у вигляді відсотків. Препарати вивчалися за допомогою оптичного мікроскопа ВХ43 (Olympus Corporation, Токіо, Японія), а експресію аналізували за допомогою системи кількісного аналізу зображень (Image-Pro Plus 6.0; Media Cybernetics Inc., Rockville, MD, США).

Для оцінки рівня експресії фібронектину використовували антитіла проти фібронектину (поліклональні миші; 1:100; sc-8422; Santa Cruz Biotechnology, Inc.). Блоки нагрівали протягом 60 хвилин при температурі 60 °С, депарафінізували ксилолом і промивали у спиртах з пониженням їхньої концентрації. Антигени отримували за допомогою цитратного буфера (рН 6.0) у мікрохвильовій печі протягом 5 хвилин. Після обробки 1.5% розчином  $\text{H}_2\text{O}_2$  при температурі 37 °С протягом 30 хвилин для блокування ендогенної активності пероксидази, препарати інкубували з первинними антитілами протягом ночі при температурі 4 °С, а потім інкубували із вторинними антитілами (PV-9002; OriGene Technologies, Inc., Пекін, Китай) протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Нарешті, зрізи фарбували з використанням діамінобензидина з подальшим контрастуванням гематоксиліном.

Для оцінки рівня експресії колагенів I та III типів використовували антитіла проти колагенів I та III типів (поліклональні кролі; 1:600; Abcam, Cambridge, Великобританія). Блоки нагрівали протягом 60 хвилин при температурі 60 °С, депарафінізували ксилолом і промивали у спиртах з пониженням їхньої концентрації. Препарати спочатку попередньо інкубували у 3%

розчині  $H_2O_2$  протягом 10 хвилин при кімнатній температурі для блокування ендогенної активності пероксидази, а потім проводили витяг антигену за допомогою цитратного буфера (рН 6.0) у мікрохвильовій печі при температурі 95-98 °С протягом 12 хвилин, з подальшим інкубуванням протягом 5 хвилин при кімнатній температурі для блокування неспецифічного фонового фарбування. Потім, проводили інкубацію при кімнатній температурі протягом 30 хвилин з первинним кролячими поліклональними антитілами проти колагенів I та III типів. Отримані препарати промивали чотири рази буфером, обробляли стрептавідином, пероксидазою та хромогеном DAB. Нарешті, зрізи фарбували з використанням діамінобензидина з подальшим контрастуванням гематоксиліном.

Для оцінки рівня експресії колагену IV типу використовували антитіла проти колагену IV типу (поліклональні миші; 1:100; Leica Biosystems, Newcastle, UK:PHM-12, Великобританія). Блоки нагрівали протягом 60 хвилин при температурі 60 °С, депарафінізували ксилолом і промивали у спиртах з пониженням їхньої концентрації. Антигени отримували за допомогою цитратного буфера (рН 6.0) у мікрохвильовій печі протягом 5 хвилин, а потім охолоджували при кімнатній температурі протягом 20 хвилин. Після обробки 3% розчином  $H_2O_2$  при температурі 37 °С протягом 30 хвилин для блокування ендогенної активності пероксидази, зрізи інкубували з первинними антитілами протягом ночі при температурі 4 °С, а потім інкубували із вторинними антитілами (K-ASSAY Collagen Type IV Staining Kit, Kamiya Biomedical Company, США) протягом 30 хвилин при кімнатній температурі. Нарешті, зрізи фарбували з використанням діамінобензидина з подальшим контрастуванням гематоксиліном. Статистична обробка результатів проводилася за допомогою стандартного пакета статистичних програм «STATISTICA 10.0» і «MS Excel». Для отриманих показників розраховувалися середнє арифметичне (M), стандартна

помилка середнього (m). Для оцінки ступеня достовірності відмінностей між групами використовували U-критерій Манна-Уїтні.

### Результати

Мікроскопічно в печінці групи К простежувалося звичайна балочно-радіарна будова, нерівномірне повнокров'я синусоїдів і центральних вен, та нечисленні невеликі осередки екстремедулярного кровотворення. Гепатоцити мали злегка зернисту еозинофільну цитоплазму та округле базофільне ядро.

Мікроскопічно в печінці групи N12 простежувалася нечітка балочно-радіарна будова, повнокров'я та «звивистість» синусоїдів, центральних вен та дрібновогнищеві лімфоїдні інфільтрати як за ходом синусоїдів, так і в стромі порталних трактів. Гепатоцити мали світлу пінисту цитоплазму та гіперхромні, зміщені до периферії клітини, ядра. Багато гепатоцитів по всій паренхімі печінки мали дрібно- і середньокаліберні жирові вакуолі у вигляді оптичних пустот; місцями зустрічалися невеликі групи двоядерних гепатоцитів.

В печінці групи N12 по всій паренхімі в цитоплазмі гепатоцитів та в просторах Діссе за ходом синусоїдів виявлявся матриксний протеїн фібронектин у різко підвищеній кількості у порівнянні з групою К (рис. 1 та рис. 2).

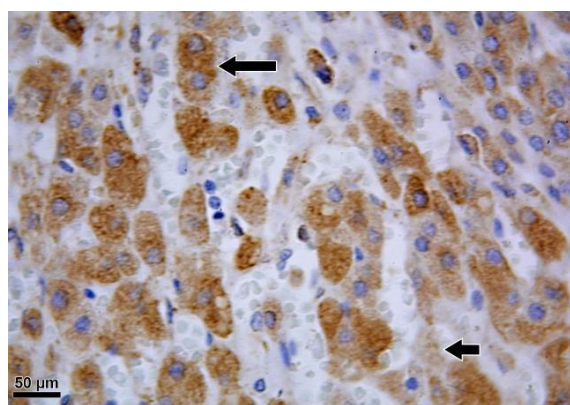


Рис. 1. Печінка дитини групи К. Матриксний протеїн фібронектин у цитоплазмі гепатоцитів (довга стрілка) та в просторах Діссе за ходом синусоїдів (коротка стрілка). Непрямий імунопероксидазний метод.  $\times 400$ .

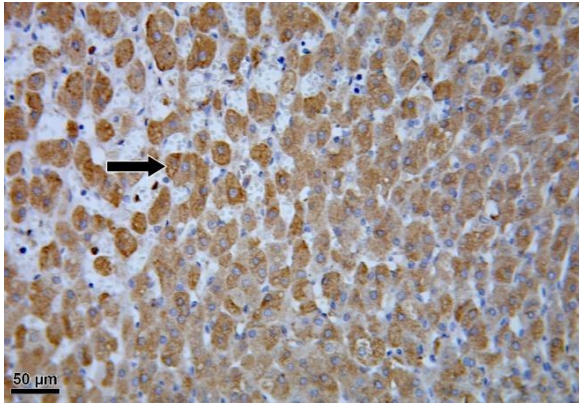


Рис. 2. Печінка дитини групи N12. Матриксний протеїн фібронектин у цитоплазмі гепатоцитів (стрілка) та в просторах Діссе за ходом синусоїдів. Непрямий імунопероксидазний метод.  $\times 200$

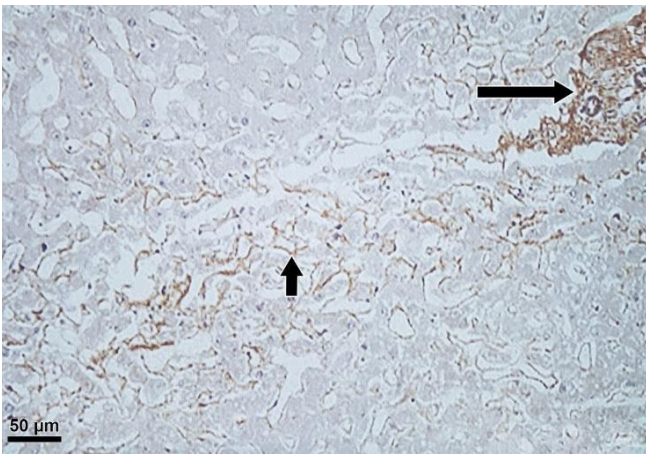


Рис. 3. Печінка дитини групи К. Експресія колагену I типу в стромі портальних трактів (довга стрілка) і в просторах Діссе за ходом синусоїдів (коротка стрілка). Непрямий імунопероксидазний метод.  $\times 200$

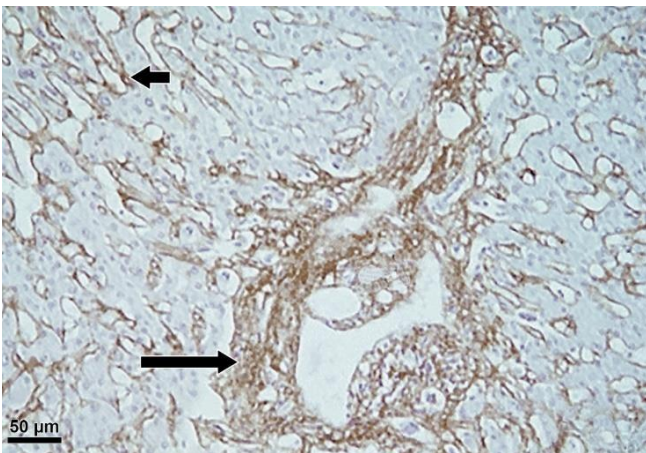


Рис. 4. Печінка дитини групи N12. Підвищена експресія колагену I типу в стромі портальних трактів (довга стрілка) і підвищення його експресії в просторах Діссе за ходом синусоїдів

(коротка стрілка). Непрямий імунопероксидазний метод.  $\times 200$

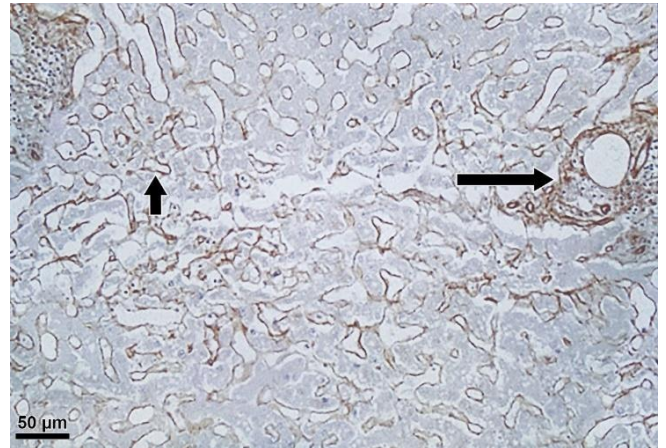


Рис. 5. Печінка дитини групи К. Експресія колагену III типу в стромі портальних трактів (довга стрілка) і в просторах Діссе за ходом синусоїдів (коротка стрілка). Непрямий імунопероксидазний метод.  $\times 200$ .

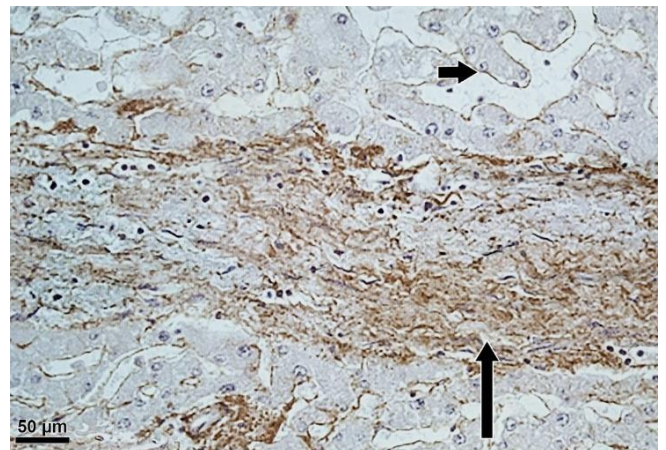


Рис. 6. Печінка дитини групи N12. Підвищена експресія колагену III типу в стромі портальних трактів з початком формування чіткої міжчасточкової септи (довга стрілка) і підвищення його експресії в просторах Діссе за ходом синусоїдів (коротка стрілка). Непрямий імунопероксидазний метод.  $\times 400$ .

В стромі портальних трактів печінки групи N12 виявлялися колагени I (рис. 3 та рис. 4) та III (рис. 5 та рис. 6) типів з підвищеним рівнем експресії у порівнянні з групою К, які були представлені пухкими фібрилами з виразним паралельним орієнтуванням. Також, в групі N12 колагени I та III типів виявлялися в просторах Діссе за ходом синусоїдів в підвищеній кількості. Колаген III типу в групі N12 формував виразні міжчасточкові септи, які, однак, ще не з'єднували сусідні портальні тракти.

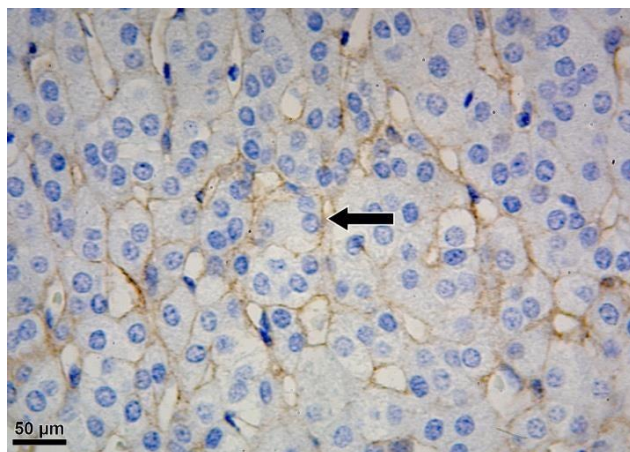


Рис. 7. Печінка дитини групи К. Експресія колагену IV типу в просторах Діссе за ходом синусоїдів (стрілка). Непрямий імунопероксидазний метод.  $\times 400$ .

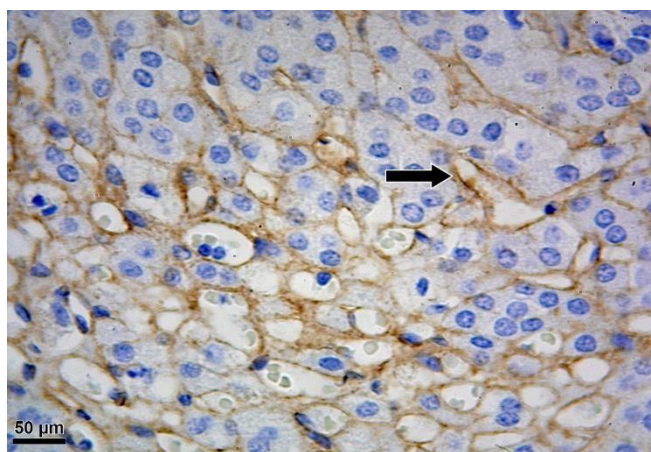


Рис. 8. Печінка дитини групи N12. Підвищена експресія колагену IV типу в просторах Діссе за ходом синусоїдів з формуванням щільних, компактних, переривчастих фібрил (стрілка). Непрямий імунопероксидазний метод.  $\times 400$

Навколо центральних вен, порталних судин і, особливо, в просторах Діссе за ходом синусоїдів в групі N12 виявлялася підвищена експресія колагену IV типу у порівнянні з групою К (рис. 7 та рис. 8), який формував щільні, компактні, переривчасті фібрили.

Морфометричні показники гепатоцитів дітей від ВІЛ-інфікованих матерів і дітей групи контролю представлені у таблиці 1.

Стромально-паренхіматозні показники печінки дітей від ВІЛ-інфікованих матерів і дітей групи контролю представлені у таблиці 2.

Морфометричні показники всіх компонентів печінки дітей від ВІЛ-інфікованих матерів і дітей групи контролю представлені у таблиці 3.

Показники рівня експресії фібронектину, колагенів I, III і IV типів у стромальному

компоненті печінки дітей від ВІЛ-інфікованих матерів і дітей групи контролю представлені у таблиці 4.

Таблиця 1. Морфометричні показники гепатоцитів дітей від ВІЛ-інфікованих матерів і дітей групи контролю ( $M \pm m$ )

| Показник                 | Група дослідження |                  |
|--------------------------|-------------------|------------------|
|                          | К                 | N12              |
| Одноядерні гепатоцити, % | 93.5 $\pm$ 7.1    | 90.2 $\pm$ 7.6   |
| Двоядерні гепатоцити, %  | 6.5 $\pm$ 1.2     | 9.8 $\pm$ 1.2 *  |
| ДОГК                     | 0.06 $\pm$ 0.01   | 0.10 $\pm$ 0.02* |
| Гепатоцити з ЖВ, %       | 0.5 $\pm$ 0.2     | 19.6 $\pm$ 2.1*  |

\*  $p < 0.05$  в порівнянні з аналогічними показниками групи К

Таблиця 2. Стромально-паренхіматозні показники печінки дітей від ВІЛ-інфікованих матерів і дітей групи контролю ( $M \pm m$ )

| Показник                            | Група дослідження |                   |
|-------------------------------------|-------------------|-------------------|
|                                     | К                 | N12               |
| Паренхіма, %                        | 74.2 $\pm$ 4.3    | 56.1 $\pm$ 3.3 *  |
| Строма (включно з судинами і ЖП), % | 25.8 $\pm$ 2.6    | 43.9 $\pm$ 3.7 *  |
| СПІ                                 | 0.34 $\pm$ 0.01   | 0.78 $\pm$ 0.02 * |

\*  $p < 0.05$  в порівнянні з аналогічними показниками групи К

Таблиця 3. Морфометричні показники всіх компонентів печінки дітей від ВІЛ-інфікованих матерів і дітей групи контролю ( $M \pm m$ )

| Компонент печінки   | Група дослідження |                  |
|---------------------|-------------------|------------------|
|                     | К                 | N12              |
| Гепатоцити, %       | 74.2 $\pm$ 4.3    | 56.1 $\pm$ 3.3 * |
| Портальні тракти, % | 3.1 $\pm$ 0.6     | 26.4 $\pm$ 2.1 * |
| Центральні вени, %  | 9.3 $\pm$ 1.4     | 8.1 $\pm$ 1.2    |
| Синусоїди, %        | 10.5 $\pm$ 1.3    | 7.3 $\pm$ 1.2 *  |
| Жовчні протоки, %   | 2.9 $\pm$ 0.2     | 2.1 $\pm$ 0.1 *  |
| Всього, %           | 100               | 100              |

\*  $p < 0.05$  в порівнянні з аналогічними показниками групи К

Таблиця 4. Показники рівня експресії фібронектину, колагенів I, III і IV типів у стромальному компоненті печінки дітей від ВІЛ-інфікованих матерів і дітей групи контролю (M±m)

| Показник               | Група дослідження |            |
|------------------------|-------------------|------------|
|                        | К                 | N12        |
| Фібронектин, %         | 17.3±2.5          | 73.2±4.2*  |
| Колаген I типу,<br>%   | 9.7±1.9           | 15.9±1.2*  |
| Колаген III типу,<br>% | 10.1±0.9          | 20.1±2.6 * |
| Колаген IV типу,<br>%  | 5.9±0.2           | 7.3±0.2 *  |

\*  $p < 0.05$  в порівнянні з аналогічними показниками групи К

**Обговорення отриманих результатів.** Як видно з таблиці 1, в печінці в нормі одноядерні форми гепатоцитів переважають над двоядерними формами (93.5 % проти 6.5 % відповідно). У дітей групи N12 реєструвалося підвищення двоядерних гепатоцитів в 1.5 рази в порівнянні з контрольною групою ( $p < 0.05$ ), що було розцінене як ознака підвищення регенераторної активності печінки у відповідь на її ушкодження.

Багато авторів вказують на те, що по мірі прогресування ВІЛ-інфекції, у пацієнтів розвивається жировий гепатоз. Жировий гепатоз вважається доброякісним станом і може регресувати при припиненні дії патогенного стимулу, але факт наявності жирового гепатозу вказує на важкі метаболічні порушення в гепатоцитах, що призводить до підвищеного накопичення жирних кислот в їхньої цитоплазмі. При наявності жирового гепатозу може розвиватися реактивний стеатогепатит, який є хронічним запаленням з поступовим розвитком фіброзу, який вже вважається незворотнім процесом [7, 8]. У даному дослідженні був задокументований різко виражений жировий гепатоз в печінці дітей від ВІЛ-інфікованих матерів з ознаками реактивного стеатогепатиту. Кількість гепатоцитів, що містять жирові вакуолі (група

N12), була різко підвищена в порівнянні з контролем в 39.2 рази ( $p < 0.05$ ).

Як видно з таблиці 2, у дітей від ВІЛ-інфікованих матерів (група N12) реєструвалося різке зниження паренхіматозного та різке підвищення стромального компонентів печінки ( $p < 0.05$  в обох випадках). Як видно з таблиці 3, у дітей від ВІЛ-інфікованих матерів (група N12) підвищення стромального компонента печінки відбувалося за рахунок достовірного підвищення обсягу портальних трактів в 8.5 разів у порівнянні з контролем ( $p < 0.05$ ).

Екстрацелюлярний матрикс (ЕКМ) є ключовим компонентом печінки. Утворюючи сполучнотканинний каркас, ЕКМ є поверхнею для адгезії різних типів клітин; простором для проліферації та міграції клітин; резервуаром для сигнальних молекул [9]. Безперервний ремоделінг ЕКМ при хронічному пошкодженні печінки включає в себе надмірне накопичення матриксних протеїнів, протеогліканів і вуглеводів, що призводить до розвитку фіброзу печінки з подальшою печінковою недостатністю [10]. Як показують дані світової літератури, незалежно від причин пошкодження печінки, активовані зірчасті клітини запускають продукцію та депонування в екстрацелюлярному матриксі великі кількості колагену I, III, IV типів і фібронектину, і цей процес посилюється при наявності дисбалансу матриксних металопротеїназ, що продукують макрофаги, і тканинного інгібітора металопротеїназ (ТІМР), який продукують самі зірчасті клітини [11, 12, 13]. ВІЛ-інфекція є потужним як прямим, так і опосередкованим чинником пошкодження печінки, що активує зірчасті клітини печінки [14, 15].

Колагени I та III типів переважали у стромі портальних трактів і формували товсті септи, а також вони виявлялися в просторах Діссе за ходом синусоїдів. Як видно з таблиці 4, у дітей від ВІЛ-інфікованих матерів (група N12) колагени I та III типів мали достовірно підвищену експресію у порівнянні з контролем ( $p < 0.05$  в обох випадках). В печінці дітей від ВІЛ-інфікованих матерів (група N12) колаген IV типу знаходився не тільки в просторах Діссе за ходом синусоїдів,

але й навколо центральних вен та порталних судин у підвищеній кількості в порівнянні з контролем ( $p < 0.05$ ). Фібронектин був переважаючим протеїном ЕКМ у порівнянні з колагенами I, III і IV типів в печінці дітей від ВІЛ-інфікованих матерів. Він виявлявся в великих кількостях в стромі порталних трактів, септах і просторах Діссе за ходом синусоїдів у всіх випадках дослідження. В групі N12 рівень експресії фібронектину був підвищений на 55.9 % у порівнянні з контролем ( $p < 0.05$ ).

Таким чином, в печінці дітей від ВІЛ-інфікованих матерів реєструвалися виражений жировий гепатоз, реактивний стеатогепатит, прогресуюча проліферація та колагенізація стромы, та капіляризація синусоїдів, що призводили не тільки до істотних паренхіматозних втрат та фіброзу печінки, але й різкого порушення обмінних процесів між кров'ю синусоїдів та гепатоцитами.

### Висновки

1. Встановлено, що в печінці дітей віком від 6 до 12 місяців від ВІЛ-інфікованих матерів у паренхіматозному компоненті печінки реєструвалися ознаки його значної редукції [загальна кількість гепатоцитів: К –  $74.2 \pm 4.3$  %; N12 –  $56.1 \pm 3.3$ ], підвищення рівня регенераторної активності гепатоцитів [кількість двоядерних гепатоцитів: К –  $6.5 \pm 1.2$  %; N12 –  $9.8 \pm 1.2$ ], виражений жировий гепатоз [кількість гепатоцитів з жировими вакуолями: К –  $0.5 \pm 0.2$  %; N12 –  $19.6 \pm 2.1$ ] з ознаками реактивного стеатогепатиту.

2. Встановлено, що в печінці дітей віком від 6 до 12 місяців від ВІЛ-інфікованих матерів в стромальному компоненті печінки реєструвалися ознаки його прогресуючої проліферації і колагенізації [обсяг стромального компонента печінки: К –  $25.8 \pm 2.6$  %; N12 –  $43.9 \pm 3.7$ ] за рахунок підвищеної продукції та накопичення фібронектину [К –  $17.3 \pm 2.5$  %; N12 –  $73.2 \pm 4.6$ ], колагенів I типу [К –  $9.7 \pm 1.9$  %; N12 –  $15.9 \pm 1.2$ ], III типу [К –  $10.1 \pm 0.9$  %; N12 –  $20.1 \pm 2.6$ ] в стромі порталних трактів і сформованих септ, та капіляризації синусоїдів за рахунок накопичення колагену IV типу [К –

$5.9 \pm 0.6$  %; N12 –  $7.3 \pm 0.2$ ] в просторах Діссе за ходом синусоїдів.

### Перспектива подальшого дослідження.

Оскільки непаренхіматозні клітини печінки, такі як зірчасті клітини печінки, клітини Купфера та дендритні клітини, мають безпосереднє відношення до запуску фіброзу печінки, вивчення їхнього морфологічного та морфометричного стану у ВІЛ-інфікованих дітей дозволить глибше зрозуміти патогенез фіброзу печінки, який індукується та розвивається на тлі ВІЛ-інфекції.

### Список літератури

- UNAIDS. Joint United Nations. Programme on HIV/AIDS. Geneva. 2018. 370 p. <https://www.unaids.org.ua/ua/hiv-epidemic-in-ukraine/epidemiologichna-situatsiya#1>.
- Stover J et al. What Is Required to End the AIDS Epidemic as a Public Health Threat by 2030? The Cost and Impact of the Fast-Track Approach // PLOS ONE / ed. Lima V.D. Public Library of Science (PLoS). 2016;11(5):e0154893. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154893>.
- Ravichandra KR. Opportunistic infections in HIV infected children and its correlation with CD4 count. International Journal of Contemporary Pediatrics. 2017;4(5):1743-1747. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2349-3291.ijcp20173777>.
- Penton PK, Blackard JT. Analysis of HIV Quasispecies Suggests Compartmentalization in the Liver. AIDS Research and Human Retroviruses. Mary Ann Liebert Inc. 2014;30(4):394-402. DOI: <https://doi.org/10.1089/AID.2013.0146>.
- Joshi D et al. Increasing burden of liver disease in patients with HIV infection // The Lancet. Elsevier BV. 2011. Vol. 377, № 9772. P. 1198–1209. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)62001-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)62001-6).
- Автандилов ГГ. Основы количественной патологической анатомии: учеб. пособие. Москва: Медицина, 2002. 240 с.;
- Sterling RK, Smith PG, Brunt EM. Hepatic Steatosis in Human Immunodeficiency Virus. Journal of Clinical Gastroenterology. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). 2013;47(2):182–187. DOI: <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e318264181d>.
- Bongiovanni M, Tordato F. Steatohepatitis in HIV-Infected Subjects: Pathogenesis, Clinical Impact and Implications in Clinical Management. Current HIV Research. 2007;5:490–498. DOI: <https://doi.org/10.2174/157016207781662407>.
- Hynes RO. The Extracellular Matrix: Not Just Pretty Fibrils. Science. American Association for the Advancement of Science (AAAS). 2009;326(5957):1216–1219. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1176009>.
- Battaller R, Brenner DA. Liver fibrosis/ Journal of Clinical Investigation. 2005;115(2):209–218. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI24282>.
- Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of Liver Fibrosis. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease. Annual Reviews. 2011;6(1):425–456.



- DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011110-130246>.
12. Campana L, Iredale J. Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors. *Stellate Cells in Health and Disease*. Elsevier. 2015. P. 107–124. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800134-9.00005-16/B978-0-12-800134-9.00007-5>.
  13. Marra F, Caligiuri A. Cytokine Production and Signaling in Stellate Cells. *Stellate Cells in Health and Disease*. Elsevier. 2015. P. 63–86. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800134-9.00005-16/B978-0-12-800134-9.00007-5>.
  14. Mastroianni C. et al. Molecular Mechanisms of Liver Fibrosis in HIV/HCV Coinfection. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. 2014;15(6): 9184–9208. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms15069184>.
  15. Gupta D et al. HIV-1 Infected Peripheral Blood Mononuclear Cells Modulate the Fibrogenic Activity of Hepatic Stellate Cells through Secreted TGF- $\beta$  and JNK Signaling. *PLoS ONE* ed. Kaushik-Basu N. Public Library of Science (PLoS). 2014;9(3):e91569. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091569>.
  6. Avtandilov GG. The basics of quantitative pathological Anatomy. Moscow: 2002. 240 p.
  7. Sterling RK, Smith PG, Brunt EM. Hepatic Steatosis in Human Immunodeficiency Virus. *Journal of Clinical Gastroenterology*. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). 2013;47(2):182–187. DOI: <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e318264181d>.
  8. Bongiovanni M, Tordato F. Steatohepatitis in HIV-Infected Subjects: Pathogenesis, Clinical Impact and Implications in Clinical Management. *Current HIV Research*. 2007;5:490–498. DOI: <https://doi.org/10.2174/157016207781662407>.
  9. Hynes RO. The Extracellular Matrix: Not Just Pretty Fibrils. *Science*. American Association for the Advancement of Science (AAAS). 2009;326(5957):1216–1219. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1176009>.
  10. Bataller R, Brenner DA. Liver fibrosis/ *Journal of Clinical Investigation*. 2005;115(2):209–218. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI24282>.
  11. Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of Liver Fibrosis. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. Annual Reviews. 2011;6(1):425–456. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-011110-130246>.
  12. Campana L, Iredale J. Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors. *Stellate Cells in Health and Disease*. Elsevier. 2015. P. 107–124. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800134-9.00005-16/B978-0-12-800134-9.00007-5>.
  13. Marra F, Caligiuri A. Cytokine Production and Signaling in Stellate Cells. *Stellate Cells in Health and Disease*. Elsevier. 2015. P. 63–86. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800134-9.00005-16/B978-0-12-800134-9.00007-5>.
  14. Mastroianni C. et al. Molecular Mechanisms of Liver Fibrosis in HIV/HCV Coinfection. *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG. 2014;15(6): 9184–9208. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms15069184>.
  15. Gupta D et al. HIV-1 Infected Peripheral Blood Mononuclear Cells Modulate the Fibrogenic Activity of Hepatic Stellate Cells through Secreted TGF- $\beta$  and JNK Signaling. *PLoS ONE* ed. Kaushik-Basu N. Public Library of Science (PLoS). 2014;9(3):e91569. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0091569>.

### References

1. UNAIDS. Joint United Nations. Programme on HIV/AIDS. Geneva. 2018. 370 p. <https://www.unaids.org.ua/ua/hiv-epidemic-in-ukraine/epidemiologichna-situatsiya#1>.
2. Stover J et al. What Is Required to End the AIDS Epidemic as a Public Health Threat by 2030? The Cost and Impact of the Fast-Track Approach // *PLOS ONE* / ed. Lima V.D. Public Library of Science (PLoS). 2016;11(5):e0154893. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0154893>.
3. Ravichandra KR. Opportunistic infections in HIV infected children and its correlation with CD4 count. *International Journal of Contemporary Pediatrics*. 2017;4(5):1743-1747. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2349-3291.ijcp20173777>.
4. Penton PK, Blackard JT. Analysis of HIV Quasispecies Suggests Compartmentalization in the Liver. *AIDS Research and Human Retroviruses*. Mary Ann Liebert Inc. 2014;30(4):394-402. DOI: <https://doi.org/10.1089/AID.2013.0146>.
5. Joshi D et al. Increasing burden of liver disease in patients with HIV infection // *The Lancet*. Elsevier BV. 2011. Vol. 377, № 9772. P. 1198–1209.

## THE MORPHOLOGICAL SPECIFICS OF THE STROMAL AND PARENCHYMAL LIVER COMPONENTS OF 6-12- MONTHS OLD CHILDREN FROM HIV-MONO-INFECTED MOTHERS

Panov Stanislav

Mail for correspondence: StanislavPanov@karazin.ua

**Summary.** To determine the morphological specifics of the stromal and parenchymal liver components of 6-12-months old children from HIV-mono-infected mothers. **Materials and methods.** The morphometric investigation included 87 liver tissue biopsies of 6-12-months old dead children from HIV-mono-infected mothers. All morphometric parameters of the parenchymal and stromal liver components were calculated using the Avtandilov's microscopic morphometric grid, which was consisted of 100 equidistant points. It was inserted into the microscope's ocular tube with a total  $\times 200$  microscope magnification. The number of points that were found on the corresponding types of parenchymal and stromal liver components was calculated. In every case, it was selected 10 random microscopic areas and then all data were obtained, calculated and presented as percentages. **Results.** Morphometric parameters of hepatocytes: mononuclear hepatocytes –  $90.2 \pm 7.6$  % [control –  $93.5 \pm 7.1$ ],

two-nuclear hepatocytes –  $9.8 \pm 1.2$  % [control –  $6.5 \pm 1.2$ ], TMHC (two-/mononuclear hepatocytes coefficient) –  $0.10 \pm 0.02$  [control –  $0.06 \pm 0.01$ ], hepatocytes with fat vacuoles –  $19.6 \pm 2.1$  % [control –  $0.5 \pm 0.2$ ]. Parenchymal and stromal liver components: parenchyma –  $56.1 \pm 3.3$  % [control –  $74.2 \pm 4.3$ ], stroma (including blood vessels and bile ducts) –  $43.9 \pm 3.7$  % [control –  $25.8 \pm 2.6$ ], SPI (stroma/parenchyma index) –  $0.78 \pm 0.02$  [control –  $0.34 \pm 0.01$ ]. Morphometric parameters of all of the liver components: hepatocytes –  $56.1 \pm 3.3$  % [control –  $74.2 \pm 4.3$ ], portal tracts –  $26.4 \pm 2.1$  % [control –  $3.1 \pm 0.6$ ], central veins –  $8.1 \pm 1.2$  % [control –  $9.3 \pm 1.4$ ], sinusoids –  $7.3 \pm 1.2$  % [control –  $10.5 \pm 1.3$ ], bile ducts –  $2.1 \pm 0.1$  % [control –  $2.9 \pm 0.2$ ]. Expression level parameters: fibronectin –  $73.2 \pm 4.2$  % [control –  $17.3 \pm 2.5$ ], collagen type I –  $15.9 \pm 1.2$  % [control –  $9.7 \pm 1.9$ ], collagen type III –  $20.1 \pm 2.6$  % [control –  $10.1 \pm 0.9$ ], collagen type IV –  $7.3 \pm 0.2$  % [control –  $5.9 \pm 0.2$ ]. **Conclusions.** It was established, that in the liver of 6-12-months old children from HIV-mono-infected mothers, the parenchymal component of the liver showed the signs of its significant reduction, increase of regenerative activity of hepatocytes, and fatty degeneration of hepatocytes with a certain sign of reactive steatohepatitis. Also, it was established, that the stromal component of the liver of children from HIV-infected mothers showed the signs of its progressive proliferation and collagenization due to increased production and accumulation of fibronectin, type I, type III collagens in the stroma of portal tracts and newly formed septa, and the signs of hepatic sinusoid capillarization due to type IV collagen accumulation in the space of Disse of the hepatic sinusoids.

**Key words:** HIV, children liver, liver parenchyma, liver stroma

#### Information about author

Panov Stanislav, Assistant of Department of Human Anatomy, V. N. Karazin Kharkiv National University,

School of Medicine, Kharkiv, Ukraine, 6 Svobody Sq., Kharkiv, 61022, Ukraine V.N. Karazin Kharkov National

University, Medical School, Human Anatomy Department.  
e-mail: StanislavPanov@karazin.ua  
<https://orcid.org/0000-0001-9264-0088>

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОМАЛЬНОГО И ПАРЕНХИМАТОЗНОГО КОМПОНЕНТОВ ПЕЧЕНИ ДЕТЕЙ ВОЗРАСТОМ ОТ 6 ДО 12 МЕСЯЦЕВ ОТ ВИЧ-МОНО-ИНФИЦИРОВАННЫХ МАТЕРЕЙ

Панов С. И.

Почта для переписки: StanislavPanov@karazin.ua

**Резюме. Цель.** Изучить морфологические особенности стромального и паренхиматозного компонентов печени детей возрастом от 6 до 12 месяцев от ВИЧ-моно-инфицированных матерей. **Материалы и методы.** Исследовано 87 биоптатов ткани печени умерших детей до 1 года от ВИЧ-моно-инфицированных матерей. Все морфометрические показатели стромально-паренхиматозного компонента печени вычисляли с помощью микроскопической морфометрической сетки Автандилова, которая состояла из 100 равноудаленных точек и вставлялась в окуляр микроскопа при общем увеличении микроскопа  $\times 200$ . Подсчитывалось количество точек, которые припали на соответствующие структуры стромы и паренхимы. В каждом препарате было изучено по 10 случайно выбранных полей зрения, а затем полученные данные вычислялись и были представлены в виде процентов. **Результаты.** Морфометрические показатели гепатоцитов: одноядерные гепатоциты –  $90.2 \pm 7.6$  % [контроль –  $93.5 \pm 7.1$ ], двухъядерные гепатоциты –  $9.8 \pm 1.2$  % [контроль –  $6.5 \pm 1.2$ ], ДОГК –  $0.10 \pm 0.02$  [контроль –  $0.06 \pm 0.01$ ], гепатоциты с жировыми вакуолями –  $19.6 \pm 2.1$  % [контроль –  $0.5 \pm 0.2$ ]. Стромально-паренхиматозные показатели печени паренхима –  $56.1 \pm 3.3$  % [контроль –  $74.2 \pm 4.3$ ], строма (включая сосуды и ЖП) –  $43.9 \pm 3.7$  % [контроль –  $25.8 \pm 2.6$ ], СПИ –  $0.78 \pm 0.02$  [контроль –  $0.34 \pm 0.01$ ]. Морфометрические показатели всех компонентов печени гепатоциты –  $56.1 \pm 3.3$  % [контроль –  $74.2 \pm 4.3$ ], портальные тракты –  $26.4 \pm 2.1$  % [контроль –  $3.1 \pm 0.6$ ], центральные вены –  $8.1 \pm 1.2$  % [контроль –  $9.3 \pm 1.4$ ], синусоиды –  $7.3 \pm 1.2$  % [контроль –  $10.5 \pm 1.3$ ], желчные протоки –  $2.1 \pm 0.1$  % [контроль –  $2.9 \pm 0.2$ ]. Показатели уровня экспрессии: фибронектин –  $73.2 \pm 4.2$  % [контроль –  $17.3 \pm 2.5$ ], коллаген I типа –  $15.9 \pm 1.2$  % [контроль –  $9.7 \pm 1.9$ ], коллаген III типа –  $20.1 \pm 2.6$  % [контроль –  $10.1 \pm 0.9$ ], коллаген IV типа –  $7.3 \pm 0.2$  % [контроль –  $5.9 \pm 0.2$ ]. **Выводы.** В печени детей от ВИЧ-инфицированных матерей в паренхиматозном компоненте печени регистрировались признаки его значительной редукции, повышение уровня регенераторно активности гепатоцитов, жировой гепатоз с признаками

**Actual problems of modern medicine. Issue 7, 2021**

*реактивного стеатогепатита. В стромальных компоненте печени регистрировались признаки его прогрессивного разрастания и коллагенизация за счет повышенной продукции и накопления фибронектина, коллагенов I, III типов в стромах портальных трактов и сформированных септ, и капилляризации синусоидов за счет накопления коллагена IV типа в пространствах Диссе по ходу синусоидов.*

**Ключевые слова:** ВИЧ, печень ребенка, паренхима печени, строма печени

**Информация об авторах**

*Панов Станислав Игоревич*, ассистент кафедры анатомии человека медицинского факультета Харьковского

национального университета имени В. Н. Каразина, медицинский факультет, площадь Свободы 6, Харьков, Украина, , 61022

e-mail: StanislavPanov@karazin.ua  
<https://orcid.org/0000-0001-9264-0088>

*Отримано: 09.02.2021 р.  
Прийнято до друку: 03.03.2021 р*

**Conflicts of interest:** author has no conflict of interest to declare.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Конфликт интересов:** отсутствует.