

Gilbert 综合征肝活检的超微结构特征 *

任东青¹ 黄晓峰^{2△} 尹文^{2△} 韩英³ 王瑞安⁴ 李增山⁴ 王爽² 朱疆依³
李永强² 亢君君²

(1 第四军医大学军事预防医学院放射医学教研室 陕西 西安 710032 2 第四军医大学基础医学院中心实验室 陕西 西安 710032 ;
3 第四军医大学西京消化病医院 陕西 西安 710032 4 第四军医大学基础医学院病理学与病理生理学教研室 陕西 西安 710032)

摘要 目的:确定 Gilbert 综合征患者肝组织的超微结构特征,为 Gilbert 综合征的诊断和鉴别诊断提供新的方法。方法:按电镜常规进行标本制备,应用透射电镜对 20 例 Gilbert 综合征患者肝穿刺活检组织进行超微结构观察。结果:肝细胞可出现巨大线粒体,常含有副晶格样包涵体、较明显的基质致密颗粒。肝细胞常见脂褐素颗粒增多,多分布于毛细胆管周围肝细胞内。可出现较有特征性的色素颗粒,大小不等,卵圆形或不规则形,含有电子致密块状颗粒,与电子密度略低的聚集物以及脂滴互相混杂。这些溶酶体颗粒的基质由细小的、弱嗜锇性的颗粒组成。少数颗粒类似 Dubin-Johnson 综合征的颗粒。但颗粒较小,缺少致密核芯结构。结论:特征性的含粗大电子致密物的溶酶体对 Gilbert 综合征的诊断有重要参考价值。

关键词 Gilbert 综合征 超微结构 肝细胞 透射电镜

中图分类号:R575 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2012)18-3439-03

Ultrastructural Characteristics in Liver Biopsy of Gilbert's Syndrome*

REN Dong-qing¹, HUANG Xiao-feng^{2△}, YIN Wen^{2△}, HAN Ying³, WANG Rui-an⁴, LI Zeng-shan⁴, WANG Shuang²
ZHU Jiang-yi³, LI Yong-qiang², KANG Jun-jun²

(1 Department of Radiomedicine, Faculty of Preventive Medicine, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032 China;

2 Central Laboratory, School of Basic Medicine, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032 China;

3 Department of Xijing Digestive Disease Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032 China;

4 Department of Pathology and Pathophysiology, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032 China)

ABSTRACT Objective: To investigate the ultrastructural characteristics in liver biopsy of Gilbert's syndrome and to provide a new method for diagnosis and differential diagnosis of Gilbert's syndrome. **Methods:** The liver biopsy specimens were obtained from 20 patients with Gilbert's syndrome and regularly processed for transmission electron microscopy. **Results:** Giant mitochondria often accompanied with paracrystalline inclusions was presented, and numerous matrix dense granules could be found in hepatocytes. An increase in lipofuscin granules in hepatocytes was a common finding and appeared in the periphery of bile canaliculus. The specific pigment granules with variable size, oval or irregular shaped, and contained electron dense masses of particles that mixed with less dense aggregates and lipid droplets could also be found. The matrix of these lysosomes was formed by fine, less osmiophilic particles. A few granules may resemble those found in Dubin-Johnson syndrome. However, these granules were small in size and dense-cores are absent in them. **Conclusion:** The specific lysosomes containing electron dense particles in hepatocytes is of great value for diagnosis of Gilbert's syndrome.

Key words: Gilbert's syndrome; Ultrastructure; Hepatocyte; Transimission electron microscope

Chinese Library Classification(CLC): R575 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)18-3439-03

引言

Gilbert 综合征是由 Gilbert 和 Lereboullet 在 1901 年报道的^[1,2],它是一种常染色体显性遗传病,表现为肝脏无器质性病变的非溶血性的间歇性非结合性高胆红素血症^[3,4],而肝功能基本正常。近年来,随着诊疗技术的不断提高,Gilbert 综合征的检出率也在不断增加。但由于 Gilbert 综合征诊断缺乏特异性,在光镜肝活检时,表现为完全正常的组织学图像^[5]。此外,该病的分子遗传学基础是尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1(uridine diphosphate glucuronyltransferase 1,UGT1A1)基因的变异^[6,7],但

由于基因变异较多,采用基因诊断也存在很大困难,因此该病的诊断有时仍多依赖于临床表现、实验室检查、饥饿试验以及苯巴比妥治疗试验。也有报道提出 Gilbert 综合征的肝脏超微结构检查主要为脂褐素沉积和线粒体、滑面内质网的改变^[8],但这些脂褐素颗粒与其他病因造成的脂褐素颗粒无法区别。本研究拟阐明 Gilbert 综合征患者肝组织的超微结构变化,尤其是阐明 Gilbert 综合征患者肝细胞特殊色素颗粒在诊断中的价值,以期对 Gilbert 综合征的确诊提供帮助。

1 材料和方法

* 基金项目 陕西省自然科学基金研究计划(2009JM4006) 陕西省社发公关项目(2010K15-03-07)

△通讯作者:黄晓峰 E-mail: huangxf@fmmu.edu.cn, 尹文 E-mail: yinwen@fmmu.edu.cn

(收稿日期 2012-02-12 接受日期 2012-03-08)

收集 2008 年 9 月至 2011 年 4 月第四军医大学西京消化病医院和其他省市送检的 20 例 Gilbert 综合征患者的肝穿刺组织。进行了精确的病史采集以及不同的化验检查,如肝功能检查、血脂分析、血清铜和铁的测定。所有病例都有非结合性高胆红素升高,排除了溶血等其他因素,饥饿试验和鲁米那试验阳性。一部分肝穿刺组织进行了常规 4% 甲醛固定、石蜡包埋、HE 染色,并由病理医师进行了光镜检查 and 诊断,4 例有脂褐素沉积,16 例光镜表现无明显异常;一部分肝穿刺组织用 2.5% 戊二醛、1% 锇酸双固定、Epon 812 包埋,超薄切片 70 nm,醋酸铀和柠檬酸铅染色后, JEM-2000EX 透射电镜观察。

2 结果

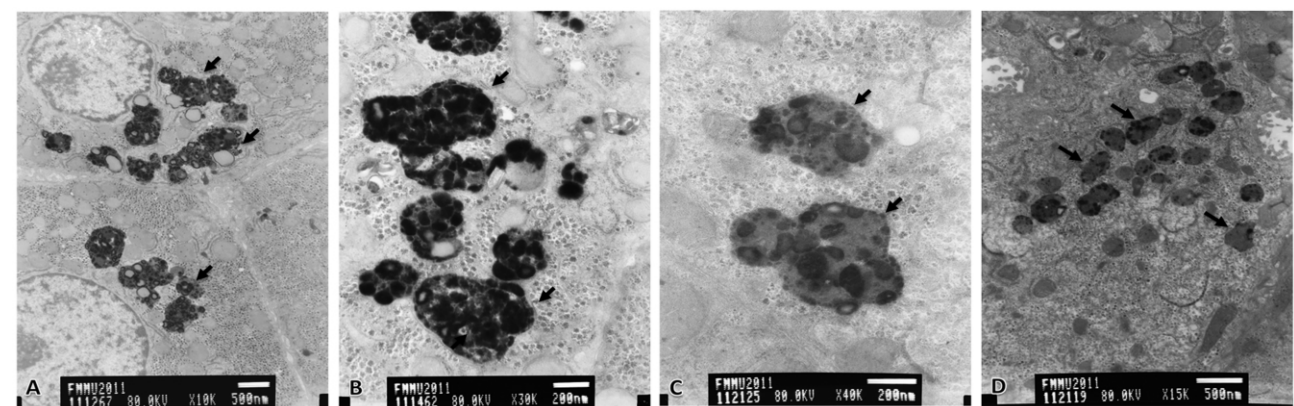


图 1 Gilbert 综合征患者肝细胞的超微结构

A:肝细胞脂褐素颗粒明显增多(↑)Bar=500nm. B:肝细胞特殊的色素颗粒(↑).Bar=200nm. C: 肝细胞溶酶体颗粒的基质由细小的、弱嗜锇性的颗粒组成(↑). Bar=200nm. D: 肝细胞内类似 Dubin-Johnson 综合征的颗粒(↑), Bar=500nm.

Fig. 1 Ultrastructure of hepatocytes in Gilbert's syndrome

A:An increase in lipofuscin granules in hepatocytes(↑)Bar=500nm.B: The specific pigment granules in hepatocytes(↑).Bar=200nm C: The matrix of lysosomes is formed by fine, less osmiophilic particles(↑)Bar=200nm.D: A few granules may resemble those found in Dubin-Johnson syndrome(↑) Bar=500nm

3 讨论

Gilbert 综合征患者主要表现为非结合胆红素的升高,结合胆红素常在正常范围。非结合胆红素和结合胆红素的比值比非 Gilbert 综合征患者高。在饥饿 2 天后采集的血样总胆红素水平进一步升高^[9],给予低剂量苯巴比妥可显著降低胆红素水平。目前本病的诊断多依赖临床表现,黄疸常是惟一临床表现,常因饥饿、过度劳累、受凉、饮酒、感染、情绪波动而加重;多数无症状或仅有乏力及轻度消化道症状;多次检验均显示非结合胆红素水平升高;血清转氨酶、碱性磷酸酶、γ 性谷氨酰转移酶、胆汁酸均正常,饥饿试验(低热卡试验)阳性;肝穿刺活检报道脂褐素增多有一定诊断价值^[10-13],苯巴比妥治疗有效。并于 12~18 个月内随访 2~3 次无其他实验室检查异常,即可诊断 Gilbert 综合征。本病病程较长,无进行性肝损害的表现,预后良好。

该病患者肝组织的超微结构常见的特征之一是脂褐素颗粒增多,但这种脂褐素颗粒与其他肝病出现的脂褐素颗粒无法区别,仅能作为诊断的参考指标之一,不具有确诊价值。最具有特征性的诊断标志是特殊溶酶体的出现,这种溶酶体在光镜下

Gilbert 综合征的肝组织表现不一。某些肝活检标本,可发现血窦面肝细胞膜改变,细胞表面变平滑、微绒毛消失,Disse 间隙胶原纤维增加;某些患者,可出现巨大线粒体,常含有副晶格样包涵体、较明显的基质致密颗粒。肝细胞常见脂褐素颗粒增多,多分布于毛细胆管周围肝细胞内(图 1A),可单独出现或伴随其他改变。Gilbert 综合征的色素颗粒大小不等,卵圆形或不规则形并含有电子致密块状颗粒,与电子密度略低的聚集物以及脂滴互相混杂(图 1B)。这些溶酶体颗粒的基质由细小的、弱嗜锇性的颗粒组成(图 1C)。少数颗粒类似 Dubin-Johnson 综合征的颗粒(图 1D),但颗粒较小,缺少致密核芯结构。

表现为黄褐色色素颗粒,透射电镜下为卵圆形或不规则形、有膜包绕、含电子致密块状颗粒,与电子密度略低的聚集物以及脂滴互相混杂。其他改变包括线粒体的多形性、少量脂滴沉积等,均为非特异性改变。这些病变联合出现对于诊断更有帮助,但超微结构改变与 Gilbert 综合征生化亚型之间的关系还不清楚。血窦面微绒毛的缺失可能与肝细胞胆红素的摄取、UGT1A1 活性之间存在相关性。

Gilbert 综合征需与其他遗传性高胆红素血症鉴别,如 Crigler-Najjar 综合征、Dubin-Johnson 综合征和 Rotor 综合征^[5,14-16]。Crigler-Najjar 综合征的超微结构改变中肝细胞缺少脂褐素、Kupffer 细胞有胆色素沉积^[17],Dubin-Johnson 综合征有特殊的含致密核芯结构的溶酶体^[18,19],Rotor 综合征除含双色调溶酶体外,还可出现毛细胆管发育不良等表现^[20],可资鉴别。此外,还应排除溶血性黄疸,特别是遗传性球形红细胞增多症,可通过扫描电镜检查红细胞形态进行确诊。有时 Gilbert 综合征还可合并遗传性球形红细胞增多症^[21],更要注意鉴别诊断。对于急、慢性肝炎后出现的肝炎后高胆红素血症,尤其是非结合胆红素持续或反复增高的病例应注意有无 Gilbert 综合征的背景。而血清病原学阴性的病毒性肝炎临床表现为非结合性高胆红素

血症时又容易误诊为 Gilbert 综合征。在临床实际工作中,应仔细鉴别,详细询问家族史、应重视肝组织的超微结构检查,使临床诊断更准确。多数退黄药物对 Gilbert 综合征可能无效,该病治疗重在去除诱因、休息和增加热量摄入,并可试用苯巴比妥治疗,以诱导 UGT 的活性,促进胆红素排泄。

致谢

陕西省自然科学基金研究计划(2009JM4006);陕西省社发公关项目(2010K15-03-07)

参考文献(References)

- [1] Gilbert A, Lereboullet P. La cholemie simple familiale [J]. Semaine Med, 1901,21:241
- [2] Tan TC. Gilbert's disease[J]. Sing Med J, 1967, 8(2):123-125
- [3] Black M, Billing BH. Hepatic bilirubin UDP-glucuronyl transferase activity in liver disease and Gilbert's syndrome [J]. N Engl J Med, 1969, 280: 1266-1271
- [4] Sleisenger MH. Nonhemolytic unconjugated hyperbilirubinemia with hepatic glucuronyl transferase deficiency: a genetic study in four generations[J]. Trans Assoc Am Physicians, 1967, 80:259-266
- [5] Strassburg CP. Hyperbilirubinemia syndromes (Gilbert-Meulengracht, Crigler-Najjar, Dubin-Johnson, and Rotor syndrome) [J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2010,24(5):555-571
- [6] Fretzayas A, Moustaki M, Liapi O, Karpachios T. Eponym: Gilbert syndrome[J]. Eur J Pediatr, 2011 Dec 9[Epub ahead of print]
- [7] Mlakar SJ, Ostanek B. Development of a new DHPLC assay for genotyping UGT1A (TA)n polymorphism associated with Gilbert's syndrome[J]. Biochem Med (Zagreb), 2011,21(2):167-173
- [8] 汪洪蛟,陈益平,徐志伟,等. 85 例小儿肝穿刺活体组织光镜检查及超微结构分析[J].中国小儿急救医学, 2009,16(5): 488-489
Wang Hong-jiao, Chen Yi-ping, Xu Zhi-wei, et al. Light microscopy and ultrastructural analysis of 85 liver biopsies in children [J]. Chin Pediatr Emerg Med, 2009,16(5):488-489(In Chinese)
- [9] Whitmer DI, Gollan JL. Mechanisms and significance of fasting and dietary hyperbilirubinemia [J]. Semin Liver Dis, 1983, 3(1): 42-51
- [10] Barth RF, Grimley PM, Berk PD, et al. Excess lipofuscin accumulation in constitutional hepatic dysfunction (Gilbert's syndrome). Light and electron microscopic observations [J]. Arch Pathol, 1971,91(1): 41-47
- [11] Herman JD, Cooper EB, Takeuchi A, et al. Constitutional hyperbilirubinemia with unconjugated bilirubin in the serum and pigment deposition in the liver. Report of a case [J]. Am J Dig Dis, 1964,9: 160-169
- [12] 张玉喜,马晓瑞,马国仁. Gilbert 综合征 21 例临床分析[J]. 宁夏医学杂志, 2010, 32(7):634-635
Zhang Yu-xi, Ma Xiao-rui, Ma Guo-ren. Clinical analysis of 21 cases with Gilbert syndrome [J]. Ningxia Med J, 2010, 32 (7): 634-635(In Chinese)
- [13] 彭向欣,王泰龄.16 例 Gilbert 综合征患者的临床、病理特征和基因分析[J]. 中华肝脏病杂志, 2008,16(5): 372-374
Peng Xiang-xin, Wang Tai-ling. Clinical and pathological features of 16 patients with Gilbert's syndrome and 2 cases with genetic analysis [J]. Chin J Hepat, 2008,16(5): 372-374(In Chinese)
- [14] Heredia Centeno ML, Gómez Rodríguez R, Hernández Guño C. A case of unconjugated hyperbilirubinemia: Gilbert's syndrome or type II Crigler-Najjar syndrome?[J]. Rev Clin Esp, 1987,180(9):502-503
- [15] Muraca M, Fevery J, Blanckaert N. Relationships between serum bilirubins and production and conjugation of bilirubin. studies in Gilbert's syndrome, Crigler-Najjar disease, hemolytic disorders, and rat models[J]. Gastroenterology, 1987,92(2):309-317
- [16] Seo YS, Keum B, Park S, et al. Gilbert's syndrome phenotypically expressed as Crigler-Najjar syndrome type II [J]. Scand J Gastroenterol, 2007,42(4):540-541
- [17] Huang PW, Rozdilsky B, Gerrard JW, et al. Holman GH.Crigler-Najjar syndrome in four of five siblings with postmortem findings in one [J]. Arch Pathol, 1970,90(6):536-539
- [18] 黄晓峰,尹文,王爽,等.Dubin-Johnson 综合征肝细胞色素和脂褐素的超微结构特征[C]. 第三届全国医学电镜学术交流会, 2009:76-78
Huang Xiao-feng, Yin Wen, Wang Shuang, et al. Ultrastructural characteristics of pigment granules and lipofuscin in Dubin-Johnson syndrome [C]. The Third Medical Electron Microscopy Seminar, 2009: 76-78(In Chinese)
- [19] Sobaniec-Lotowska ME, Lebensztejn DM. Ultrastructure of Kupffer cells and hepatocytes in the Dubin-Johnson syndrome: a case report [J]. World J Gastroenterol, 2006,12(6):987-989
- [20] Sung HP, Je GC. Hepatic ultrastructural findings of familial hyperbilirubinemia syndrome[J]. Seoul J Med, 1994, 35(4): 239-253
- [21] Kumar D, Parakh A, Sharma S. Gilbert syndrome increasing unconjugated hyperbilirubinemia in a child with hereditary spherocytosis[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2012,34(1):54-56