

Апоптоз, некроз и регенерация печени

А. Н. Плеханов, А. И. Товаршинов

Апоптоз (запрограммированная смерть клетки) представляет собой биологический и физиологический процесс, протекающий по типу морфогенеза, направленный на ограничение иммунного ответа.

Apoptosis, necrosis and regeneration hepar

A. N. Plekhanov, A. I. Tovarshinov

Apoptosis the programmed death of a cell represents the biological and physiological process proceeding on type morphogenesis, directed on restriction of the immune answer. Apoptosis is important pathophysiology the mechanism of damage of a cell. He is shown at some illnesses and pathological processes in a liver, for example, at virus defeats, tumours, inflammatory diseases, toxic defeats, metabolic dysfunctions, hepatic insufficiency.

Термин «апоптоз» (apoptosis) в переносном смысле означает «падение листьев». Это процесс, в результате которого поврежденные или стареющие клетки умирают [25]. Апоптоз был известен еще в прошлых десятилетиях, но его истинная значимость в физиологии и патологии человека стала широко признана только в последние годы [12]. Процесс апоптоза имеет свои характерные морфологические особенности. Так, клетки, подвергающиеся апоптозу, сокращаются и отсоединяются от общего пула клеток. При этом хроматин уплотняется вокруг мембраны ядра. В конечном счете, клетка распадается, формируются многократные мембранно-связанные апоптотические тела, которые быстро фагоцитируются [3]. Поскольку в основе апоптоза лежит физиологический механизм, который способствует «взаимозамене» клетки, некоторая часть клеток в печени постоянно подвергается этому процессу [3]. Его особенностью является то, что он редко верифицируется при обычных гистологических исследованиях. Так, эпителиальные клетки желчи редко визуализируются из-за их небольшого размера [21]. Ранее считалось, что любая гибель печеночной клетки - это некроз, но теперь очевидно ясно, что к гибели печеночной клетки приводит и другой патофизиологический процесс - апоптоз [17]. Основным морфологическим отличием некроза от апоптоза является то, что при некрозе разрушается мембрана ядра, а при апоптозе целостность мембраны сохраняется. Таким образом, повышение в сыворотке крови аминотрансфераз как одного из факторов повреждения печени может отражать усиление апоптоза, так же как и некроза в печени.

Для верификации апоптоза в печени существует ряд методов. Самый простой из них заключается в подсчете апоптотических тел при морфологическом исследовании с окраской гематоксилином и эозином [21]. При этом эти тела находятся несколько обособленно от соседних клеток. Хотя их обнаружение утомительно, субъективно и трудоемко, выявление апоптотических тел таким методом остается допустимым для идентификации апоптоза в тканях [2]. Значимость этого сложного процесса при болезнях печени достаточно существенна. Так, ускоренный апоптоз может закончиться гибелью гепатоцитов, что приводит к нарушению функции печеночной ткани и ее атрофии. Принимая во внимание тот факт, что торможение апоптоза стимулирует онкогенез, большинство болезней печени характеризуется чрезмерным торможением апоптоза [23].

Эксперимент проведен на 223 крысах самцах породы «Вистар» с массой 200-250 г. Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к пище и воде на рационе питания, соответствующего нормативам ГОСТа. Острую печеночную недостаточность индуцировали резекцией печени в объеме 70-90%. Исследовали морфоструктуру печени с помощью световой микроскопии и иммуноморфологического исследования. Для исследования пролиферативной активности использовали готовое к применению моноклональное антитело Ki 67, клон MM1 (Novocastrolaboratories Ltd.). Для исследования апоптоза - поликлональное антитело Anti-Bax (BD Biosciences) в разведении 1 : 1000. При гистологическом исследовании структуры печени отмечали повреждения гепатоцитов: участки дисконформации балочных структур и очаги

некрозов. На 2 сутки определялись фокальные некрозы (гибель отдельных групп гепатоцитов внутри долек). На 5-11 сутки потеря клеточных элементов прогрессировала за счет присоединения ступенчатых некрозов (гибели гепатоцитов вокруг портальных трактов). В ходе эксперимента отмечались дистрофии гепатоцитов, расстройства кровообращения в виде кровенаполнения, как портальных трактов, так и собирательных вен. Во все сроки на светооптическом уровне четко определялись апоптотические тельца. Были установлены признаки ишемического некроза гепатоцитов по линии резекции, полнокровие синусоидов. Наиболее выраженные изменения происходили при резекции 90% объема печени. Параллельно с гибелью гепатоцитов происходила регенерация печеночной паренхимы. При этом отмечалось увеличение массы печени к 11 суткам эксперимента, однако достоверных различий нами не отмечено. Более выраженные изменения были отмечены в изменении массы селезенки в ходе эксперимента. К 11 суткам ее вес увеличивался на 107% по сравнению с исходной на 2 сутки. Имелись достоверные различия в приросте ее массы по суткам эксперимента (рис.1)

Митотическая активность ядер гепатоцитов изменялась в различные сутки эксперимента. Митотическая активность увеличивается параллельно с увеличением массы пе-

чени, что свидетельствует о происходящей регенерации печени после ее резекции. Митотическая активность достоверно увеличивалась между 2 сутками и 5 сутками после резекции печени. Митотический индекс на 2 сутки составил $0,375 \pm 0,085$ (ДИ 0,103-0,646) на 5 сутки - $0,825 \pm 0,025$ (ДИ 0,745-0,904) ($p_p = 0,0181.3$). Достоверные отличия митотического индекса были также отмечены между 3 и 5 сутками эксперимента. Так, на 3 сутки МИ составил $0,625 \pm 0,025$ (ДИ 0,545-0,704), что имело различия с 5 сутками после резекции печени ($p_p = 0,0162.3$). При выполнении иммуноморфологического исследования отмечен дисбаланс между пролиферативной активностью гепатоцитов и их апоптозом. Так, на 2 сутки Кл-67 составлял $26,5 \pm 2,5$ клетки (ДИ-18,4-34,5), на 5 сутки - $37,7 \pm 2,4$ клетки (ДИ-29,9- 45,5). Различия показателя Кл-67 достоверны ($p_p = 0,02$). Кроме того, имелись достоверные различия этого показателя между 2, 5 сутками по отношению к норме ($p_p = 0,003$ и $p_p = 0,0004$ соответственно). Показатели Вах на 2 сутки составили $43,7 \pm 1,4$ клетки (ДИ-38,9- 48,5) на 5-е $40,7 \pm 1,2$ (ДИ-36,7-44,7). Различия статистически не достоверны ($p_p = 0,16$). Однако имелись достоверные различия этого показателя между 2, 5 сутками эксперимента по отношению к норме ($p_p = 0,00006$ и $p_p = 0,00008$ соответственно).

Таким образом, после обширной резекции печени отмечалось прогрессивное увеличение пролиферативной активности гепатоцитов на 2 и 5 сутки эксперимента. Кроме того, резекция печени стимулирует проапоптотический фактор. На 2 сутки эксперимента апоптоз преобладал над пролиферацией ($p_p = 0,02$). Аналогичные изменения были отмечены и на

5 сутки, однако пролиферативная активность на 5 сутки увеличивалась, а достоверные различия Вах между 2 и 5 сутками отсутствовали, в связи с чем различия соотношения Кл-67/Вах в эти сроки были недостоверны ($p_p = 0,3$).

Понимание роли апоптоза в патофизиологии болезней печени очень важно для кли-

ниста. Так, ускоренный апоптоз отмечается при алкогольном и вирусном гепатите (например, гепатит В, С и дельта), холестазе (например, первичный билиарный цирроз печени, первичный склерозирующий холангит), аутоиммунных заболеваниях (например, аутоиммунный гепатит), при использовании наркотиков и отравлениях токсинами, а также метаболических нарушениях (болезнь Вильсона-Коновалова) и гипоксии. Торможение апоптоза наблюдается при гепатоцеллюлярном и холангиоцеллюлярном раке. Интересно, что в эксперименте и клинике печень отвечает как на недостаточность, так и на избыточность ее объема. Свидетельством тому служит то, что пересаженная в малом объеме реципиенту печень вырастает, достигая оптимального для данного индивидуума объема [4,20]. Избыточное количество ткани печени вызывает адаптацию массы и функции органа. Печень, имеющая избыточный объем для реципиента, не будет увеличиваться в объеме и может даже уменьшиться в размерах вследствие апоптоза гепатоцитов. Интересное наблюдение такого типа адаптации было у пациента после гетеротопической трансплантации печени, когда поврежденная собственная ткань печени восстанавливает функции, гетеротопически пересаженный орган атрофируется [4]. Наиболее выраженным примером регенерации печени является модель ее выращивания после резекции [6,7,9,10,16]. Отмечено, что после 60-70% резекции печени имеет место компенсаторная регенерация печени с образованием новых клеточных элементов путем митотического деления оставшихся [7]. То есть регенерация печени - это процесс компенсаторного роста, в котором резецированная доля не вырастает, а происходит увеличение массы оставшейся доли как следствие пролиферации клеток. Уровень пролиферативной активности гепатоцитов в определенной степени зависит от объема резекции: чем большая часть печени удалена во время операции, тем выше пролиферативный пул клеток. Однако хирургам-гепатологам хорошо известен тот предел резекции массы паренхимы печени, превышение которого приводит к необратимым изменениям функционального состояния органа и затем гибели организма. В условиях 80-95% резекции массы печени наблюдается десинхронизация вступления клеток в митоз, а при удалении 90% массы орга-

на большая часть гепатоцитов оставшейся части печени уже неспособна синтезировать ДНК и делиться митозом [18].

Существующие факторы, регулирующие процесс регенерации, в настоящее время до конца остаются неясными. С.П. Цунг и др. (1997) доказали, что процесс апоптоза - это регулируемый процесс. На примере модели резекции печени они показали, что модуляция апоптоза очень важна в восстановлении как массы печени, так и ее функции [24]. Модуляция генов B_{c1-2} , B_{c1-x} и B_{ax} были идентифицированы в процессе регенерации [13]. При этом было отмечено, что проапоптотический фактор B_{c1-x} и B_{c1-2} достигают максимума к 6 часам после резекции печени у экспериментальных животных, в то время как проапоптотический фактор B_{ax} достигает максимума значительно позже [13]. Дальнейшие же исследования показали, что фактор некроза опухоли, включенный в процесс регенерации печени, может задерживать апоптоз гепатоцитов с помощью определенных внутриклеточных связей [22]. Кроме того, индукция гена N_{eeB} может использоваться для предотвращения апоптоза, что и позволяет сохранить развитие печеночной клетки в процессе регенерации после резекции печени [11]. Таким образом, и быстрое увеличение печени, и апоптоз регулируются в процессе регенерации. Торможение же апоптоза способствует «переросту» ткани и усиленной регенерации в момент первичного ответа на повреждение, а его стимуляция позволяет удалить «лишние» клетки в ходе последующего процесса перемоделирования ткани. Известно, что после 60-70% резекции печени оставшаяся часть испытывает значительный энергетический недостаток, который сохраняется в течение 1 суток. В дальнейшем происходит повышение энергетического статуса и приближение его к исходным величинам через 5-7 суток. Изменение энергетического состояния оставшейся части печени коррелирует во времени с митотической активностью гепатоцитов, которая отсутствует в первые сутки и проявляется на 2-3 сутки после операции [19]. После 80-85% резекции печени отмечается удлинение периода между моментом операции и максимальной митотической активностью гепатоцитов [1].

Говоря об оценке регенеративной активности с современных позиций, следует иметь

в виду критерии, обнаруживаемые при микроскопии, электронной микроскопии, автордиографии, гистохимических исследованиях. Гомеостаз ткани печени зависит и от поддержания баланса между быстрым увеличением клетки и апоптозом. Разрушение гомеостатических механизмов равновесия между быстрым увеличением клетки и апоптозом может способствовать канцерогенному процессу [15]. В некоторых работах показано, что опухолевые клетки проявляются как повышенной чувствительностью, так и сопротивлением процессу апоптоза, а эта изменчивость может стимулировать рост опухоли. Изменения регуляторов апоптоза, в частности гена Bcl-2, было отмечено как в гепатоцеллюлярном, так и холангиоцеллюлярном раке [5,8]. Многие из факторов, связанных с карциногенезом в печени, типа цитокинов, факторов роста, окиси азота также могут смоделировать апоптоз. Так, например, активация ТОГ-1 фактора приводит к апоптозу и дисрегуляции в печени в течение экспериментального гепатокарциногенеза [23]. Ряд химиотерапевтических препаратов, используемых в онкологической практике, может стимулировать апоптоз в клетках опухоли. В этой связи терапевтические факторы, которые стимулируют апоптоз в злокачественных клетках, показали свою значимость в лечении рака печени.

Вирусный гепатит развивается в результате инфекционного поражения печени. Увеличенный апоптоз в печени пациентов с хроническим гепатитом В и С уже был описан в литературе [14]. Индукция апоптоза в инфицированных клетках может быть ведущим механизмом защиты, направленным на ограничение вирусного повреждения клеток печени и устранение инфицированных.

Таким образом, сложные механизмы регенеративных процессов в печени, в результате которых она самостоятельно поддерживает баланс между стимуляторами и ингибиторами, указывают на необходимость контроля и управления за происходящими в ней процессами, что позволит улучшить результаты хирургического лечения, особенно при резекции обширных объемных образований печени

Апоптоз, происходящий после резекции печени, является одним из механизмов гибели гепатоцитов при развитии печеночной недостаточности.

Литература

1. Ashkenazi A., Dixit V.M. // Science -1998 -Vol. 281.-P.1305-1308.
2. Bursch W., Paffe S., Putz B. // Carcinogenesis-1990. -№11.-P.847-853.
3. Chari R.S., Baker M E., Sue SR.,M. // Liver Transpl. Surg.-1996.-Vol.2.-№3.-P.233-234.
4. Charlotte F., L'Hermine A., Martin N. // Am. J. Pathol.-1994.-Vol. 144.-P.460-465.
5. Chen M.F., Hwang T.L, Hung C.F.// Ann. Surg.-1991. -Vol.213.-№3.-P.227-229.
6. De Jong K.P., Brouwers M.A., Huls G.A., Dam A.// Anal. Quant Cytol. Histol.- 1998 -Vol.20.-№1.-P.59-68.
7. Hamois D M., Que F.G., Celli A. // Hepatology-1997. -Vol. 26.-P.884-890.
8. Hashimoto M., Kothary P C., Eckhäuser F.E.// Gastroenterol Hepatol- 1998.-Vol. 13.-№12.-P 1259-1265.
9. Jansen P.L., Chamuleau R.A., Van Leeuwen D.J. // Scand J. Gastroenterol - 1990.-Vol.25.-№2.-P.112-118.
10. Jimuro Y., Nishiura T., Hellerbrand C. // J. Clin. Invest.-1998.-Vol. 101.-P.802-811.
11. Kerr J.F. // J. Pathol.-1971.-Vol. 105.-P.13-20
12. Kren B.T., Trembley J.H., Krajewski S. // Cell Growth Differ.-1996.-№ 7.-P.1633-1642.
13. Lau J.Y., Xie X., Lai M.M. // Semin Liver Dis - 1998. -Vol. 18.-P. 169-176.
14. Ledda-Columbano G.M., Coni P., Simbula G. // Environ Health Perspect.-1993.-Vol. 101.-P.163-168.
15. Macintosh E.L., Gauthier T., Pettigrew N.M.// Hepatology - 1993 - Vol. 17.-№2.-P.307-309.
16. Patel T., Gores G.J. // Hepatology -1995.-Vol. 21 - P.1725-1741.
17. Rabes H.M., Wirsching R., Tuzcek H.V.// Ceel Tissue Kinet.- 1979.-№6.-P.123-127.
18. Sato K., Tanaka M., Tanikawa K. // Hepatogastroenterology.- 1995.-Vol. 42.-№6.-P.961-965.
19. Sato Y., Tsukada K., Hatakeyama K.// Surg. Today.- 1999 -Vol. 29.-№1.-P. 1-9.
20. Schulte-Hermann R., Bursch W., Kraupp-Grasl B. // Environ Health Perspect.-1993.-Vol. 101.-P.87-90.
21. Takehara T., Hayashi N., Mita E. // Hepatology.-1998.-Vol.27.-P. 1643-1651.
22. Thorgeirsson S.S., Teramoto T., Factor V.M. // Semin. Liver Dis.-1998.-Vol. 18.-P.115-122.
23. Tzung S.P., Fausto N., Hockeribery D M. // Am. J. Pathol.-1997.-Vol. 105.-P. 1985-1995.
24. Wyllie A.H., Kerr J.F., Currie A.H. // Int Rev Cytol.- 1980.-Vol. 68.-P.251-306.

А. И. Базаров, Ю.Ю. Шурыгина. Этапы становления и развития Реабилитационного центра для детей с ограниченными возможностями в г. Улан-Удэ

Плеханов Александр Николаевич - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии медицинского факультета Бурятского государственного университета, Улан-Удэ, plehanov.a@mail.ru
Товаршинов Александр Искрович - кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры факультетской хирургии медицинского факультета Бурятского государственного университета, Улан-Удэ

УДК 610

Этапы становления и развития Реабилитационного центра для детей с ограниченными возможностями в г. Улан-Удэ

А.И. Базаров, Ю.Ю. Шурыгина

Вопросами реабилитации детей с ограниченными возможностями с 1999 г. в г. Улан-Удэ занимается детский Реабилитационный центр (РЦ)

Stages of the formation and the development of the Rehabilitation centre for children with the limited possibilities in Ulan-Ude

A.P. Bazarov, Ju.Ju. Shurygma

The children's Rehabilitation Centre in Ulan-Ude engages in problems of rehabilitation of children with limited abilities.

По данным ООН, в мире насчитывается 140 млн детей-инвалидов. Проблемы инвалидности в разной степени характерны для всех стран мира. В среднем 10% населения страдает от тех или иных длительных и глубоких заболеваний, следствием которых становится инвалидность. Только в России насчитывается более 11 млн инвалидов. Причем по мере старения населения число таких людей будет объективно возрастать даже при условии, что большинство факторов риска инвалидности станет контролируемым. По прогнозам экспертов Всемирной организации здравоохранения предполагается увеличение их числа более чем в 3 раза. Численность инвалидов в Республике Бурятия (РБ), как и в целом по России, ежегодно увеличивается на 10-11%. В настоящее время в республике насчитывается около 60 тысяч инвалидов, состоящих на учете в органах социальной защиты, что составляет 5,6% всего населения республики. Около 14% является инвалидами детства I группы, 58% - II группы, 18% - III группы, 10% составляют дети-инвалиды. На 1 января 2005 г. на учете в Пенсионном фонде РБ состояло 4 246 детей-инвалидов, на 1 января 2006 г. - 4 895. Таким образом, только за один календарный год количество детей-инвалидов увеличилось на 649 человек. Тенденция к росту детской инвалидности сохраняется. В структуре инвалидности детей лиди-

руют психоневрологическая патология, в том числе ДЦП и аномалии развития

Учитывая демографические показатели как РБ (при увеличивающихся цифрах миграции трудоспособного населения в другие регионы страны и за рубеж, когда на одного пенсионера должно быть 8 работающих), так и всего земного шара, стратегию Всемирной организации здравоохранения в отношении инвалидов, есть необходимость бороться за здоровье каждого ребенка. Вопросы реабилитации детей с ограниченными возможностями с 1999 г. в г. Улан-Удэ занимается детский Реабилитационный центр (РЦ). В процессе развития и становления Реабилитационного центра можно выделить несколько этапов.

Подготовительный этап. В конце 90-х гг. прошлого столетия появилась и начала развиваться социальная служба города. Отделы социальной защиты населения были переданы из администраций районов в городское Управление социальной защиты населения по г. Улан-Удэ. Специалисты отделов стали заниматься проблемой оказания помощи малоимущим семьям, имеющим детей-инвалидов. Количество таких семей ежегодно возрастало, что требовало создания специализированного учреждения реабилитации. Постановлением Администрации г. Улан-Удэ № 206 от 26 мая 1999 г. был открыт Реабилитационный центр для детей с ограниченными возможностями в