

© Коллектив авторов, 2009
УДК 616.36:616–076:535.243:615.832.3

МИКРОСПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗДЕЙСТВИЯ ПЛАЗМЕННОГО ПОТОКА НА ТКАНЬ ПЕЧЕНИ

М.Д. Байрамкулов, В.С. Боташева, А.Н. Айдемиров, А.В. Попов,
А.Д. Абдоков, У.Ш. Хушвактов
Ставропольская государственная медицинская академия

Широкое внедрение в хирургию эхинококкоза плазменного скальпеля дало обнадеживающие результаты вследствие его несомненного преимущества перед другими термическими инструментами. Применение плазменного скальпеля позволило расширить показания к закрытой эхинококэктомии, повысить радикальность открытой эхинококэктомии, получить стабильный гемо- и холестаз, снизить число послеоперационных осложнений почти в три раза [5]. Несмотря на то, что характер морфологических изменений ткани печени в зоне воздействия скальпеля и в непосредственной близости от этой зоны достаточно хорошо освещен, остается недостаточно изученным характер начальных изменений в гепатоцитах и восстановительных процессов в ткани печени после воздействия плазменного луча.

Как известно, физиологическая регенерация печени происходит за счет деления гепатоцитов. Скорость регенерации меняется в связи с различной функциональной нагрузкой на печень. Интенсивность пролиферативной активности в печени связана с компенсацией убыли клеток, происходящей за счет апоптоза и некроза. В печени всегда имеется резерв гепатоцитов с тетраплоидными ядрами, готовыми к митозу в любой момент, что связано с выполнением ею дезинтоксикационной функции [1, 3, 4].

При воздействии на ткань печени различными физическими факторами следует ожидать изменения в скорости апоптоза клеток и компенсационных пролиферационных процессов [2].

Целью исследования является изучение воздействия плазменного потока на генетический аппарат гепатоцитов и особенностей реакции печеночной ткани в области его применения.

Материал и методы исследования. Объектом микроспектрофотометрического исследования была ткань печени до и после обработки плазменным скальпелем у 40 больных. Забор участков ткани печени производился во время операции. Для спектрофотометрического анализа изготавливались срезы толщиной 8 мкм и окрашивались по методу Фельгена (без докраски фона). Эта окраска обеспечивает ковалент-

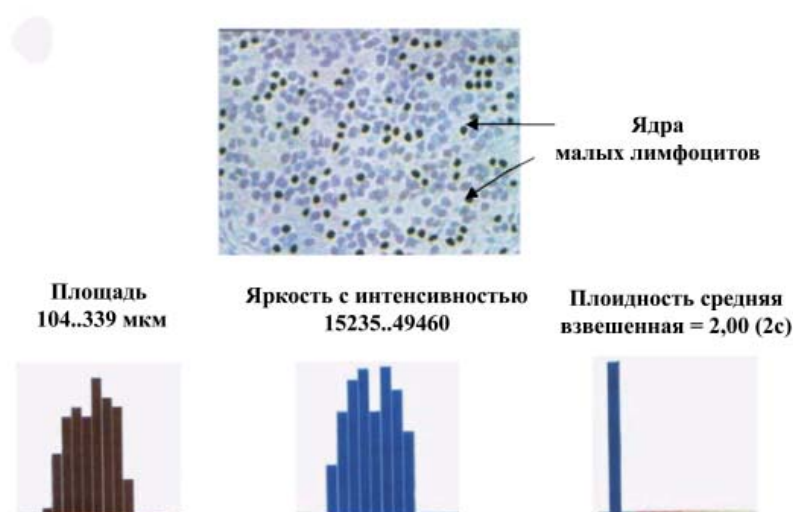


Рис. 1. Показатели содержания ДНК в ядрах лимфоцитов в контрольной группе «тканевой стандарт плоидности».

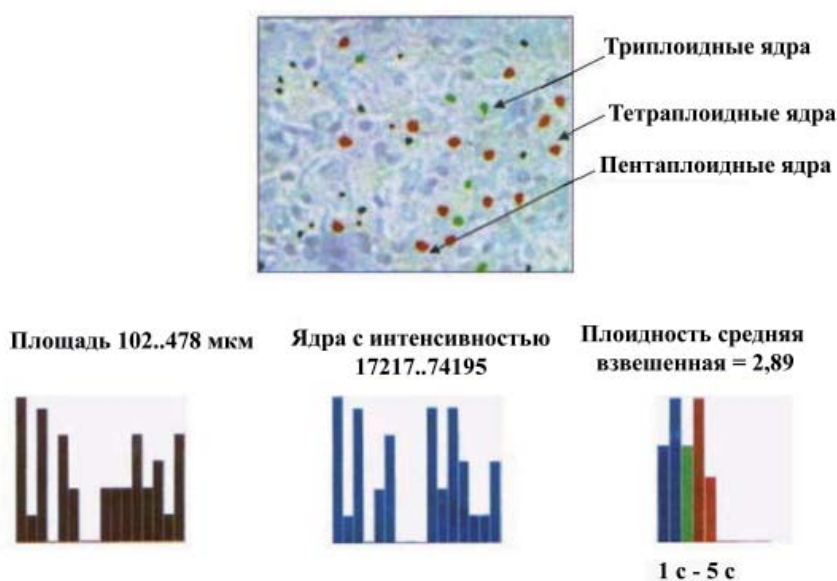


Рис. 2. Показатели содержания ДНК в ядрах гепатоцитов, не подвергшихся воздействию плазменного потока.

ное связывание молекул красителя с молекулами ДНК. Анализ срезов проводился на компьютерном анализаторе изображения «Имаджер ЦГ» с программой «Автан-Сан». Условия освещения были одинаковы при всех измерениях. При увеличении микроскопа в 400 раз измерялась интегральная яркость окрашенных ядер гепатоцитов, которая представляет собой сумму яркости всех точек ядра, отражающих содержание в них Фельген-ДНК и их площадь оптического сечения. Усреднение интегральных яркостей ядер по 10-ти выборкам на указанном анализаторе отличается высокой точностью, т.к. коэффициент вариации,

гепатоцитов относились к тканевому стандарту плоидности, получались сведения о плоидности ядер печеночных клеток и средние значения для доминирующих клонов. Пролиферативную активность (ПА), отражающую интенсивность восстановления печеночной ткани, определяли по превышению показателя средней арифметической плоидности ядер гепатоцитов диплоидного уровня (II-2с). Данные измерений площади и плоидности ядер гепатоцитов подвергались статистической обработке с получением средней арифметической (M), средней взвешенной (M_v), среднего квадратического отклонения (σ) и ошибки (m). Различия между сравниваемыми группами считались достоверными при 0,95 уровне вероятности безошибочного суждения.

Первым этапом микроспектрофотометрического исследования срезов биоптатов печени является получение «тканевого стандарта плоидности». Для этого было изучено скопление лимфоцитов около капсулы эхинококка и выделены малые лимфоциты, имеющие среднюю площадь 200 пикселей, которой соответствует интегральная яркость равная 15000 относительных единиц. Эта яркость всех пикселей ядра, соответствующая двойному набору хромосом, принята за диплоидное значение ядра. В дальнейших измерениях использовалась половина этого показателя, т.е. 7500 о.е., соответствующая единице плоидности – 1

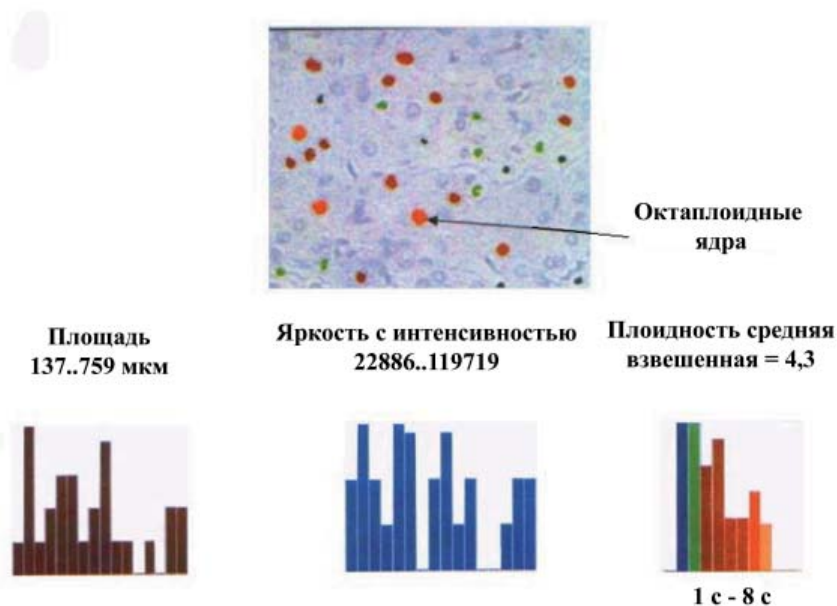


Рис. 3. Показатели содержания ДНК в ядрах гепатоцитов, в непосредственной близости от воздействия плазменного потока.

с (рис.1).

При изучении ткани печени вблизи эхинококковой кисты, не подвергавшейся воздействию плазменного потока, выявлен «плоидометрический профиль» клеток нормальной долики печени человека, который представлен двумя типами гепатоцитов с разными по объему ядрами. На гистологическом срезе они различаются по площади оптического сечения. Отношение числа малых ядер к большим равнялось 1,5. Малые ядра имели в среднем площадь 172 пикселя, а большие – 384 пикселя, т.е. большие ядра были в два раза крупнее малых ядер гепатоцитов. Общая относительная площадь всех ядер клеток печени на срезах ткани достигала 4%.

Средняя плоидность всех ядер гепатоцитов равнялась 3 с (средняя взвешенная – 2,9 с). Пролиферативная активность гепатоцитов достигала единицы. Отношение ядер с плоидностью 2 с и 3 с к числу ядер с большей плоидностью равно 1,2. Следует отметить, что среди малых ядер, кроме диплоидных, выявлялись ядра в синтетической фазе (3 с) – третий столбик гистограмм. Количеству последних точно соответствовало число апоптозных ядер с содержанием ДНК ниже 1,5 с (первый столбик гистограмм). Все большие ядра были тетра- и пентаплоидными (рис.2).

Обсуждение. На приведенных гистограммах видно, что число апоптозных ядер точно соответствует триплоидным (синтезирующим ДНК) ядрам, а число диплоидных – тетраплоидным. Таким образом, поддерживается баланс между числом убывающих и созревающих гепатоцитов. Появление клеток печени с пентаплоидными ядрами (5 с) свидетельствует об идущих в печени репаративных процессах, связанных, по-видимому, с наличием в организме больных эндотоксинов эхинококка.

При изучении ткани печени в непосредственной близости от воздействия плазменного потока были получены другие результаты (рис.3).

Относительная площадь ядер в срезе несколько увеличилась – до 3,8%. Средняя площадь малых ядер гепатоцитов соответствовала 272 пикселям, больших – 603, т.е. превышал их почти в 2,2 раза.

Средняя плоидность всех выделенных ядер равнялась 5 с (средняя взвешенная – 4,3 с). Пролиферативная активность гепатоцитов достигала 3 единиц. Следовательно, регенерация печеночных клеток по сравнению с неизменной печенью возматала в 3 раза. Обращает на себя внимание сдвиг всех гистограмм (площади, интегральной яркости и плоидности ядер гепатоцитов) по оси абсцисс вправо. Эта асим-

метрия свидетельствует об увеличении значений всех изучаемых показателей. В срезе определяются небольшое количество гепатоцитов с диплоидными и триплоидными ядрами и увеличивается число клеток с тетраплоидными (четвертый столбик) ядрами и выше – вплоть до октаплоидных (4 с – 8 с). Соотношение между этими двумя группами видов ядер снизилось до 0,8, что указывает на активный регенерационный процесс, происходящий в области нарушенного гомеостаза в ткани печени.

Выводы

1. Результаты компьютерной микроскопии биоптатов печени, полученных в ходе эхинококэктомии из печени с применением плазменных технологий, позволили визуализировать и измерить комплекс морфометрических данных, характеризующих скрытые при обычном морфологическом исследовании функциональные параметры компенсаторного ответа ткани печени на воздействие плазменного луча.

2. Компенсаторный ответ ткани печени на воздействие плазменного потока выражается в усилении репаративной регенерации печеночной ткани.

3. Предлагаемый высокочувствительный гистологический метод диагностики функционального состояния тканей позволяет судить о динамике минимальных тканевых реакций при различных физических воздействиях.

Литература

1. Автандилов, Г.Г. Диагностическая медицинская морфометрия / Г.Г. Автандилов. – М.: РМАПО, 2002. – 289 с.
2. Автандилов, Г.Г. Закономерность накопления ДНК в ядрах клеток ростковой популяции при дисплазиях и злокачественном росте тканей человека (Диплом № 68) / Г.Г. Автандилов, И.А. Казанцева, Л.В. Червонная // Научные открытия. РАЕН. - М.- СПб, 2000. – С. 64-65.
3. Автандилов, Г.Г. Компьютерная микротелефотометрия в диагностической гистопатологии / Г.Г. Автандилов. – М.:РАМПО, 1996. – 256 с.
4. Автандилов, Г.Г. Проблемы патогенеза и патологоанатомической диагностики в аспектах морфометрии / Г.Г. Автандилов. – М.: Медицина, 1984. – 288 с.
5. Айдемиров, А.Н. Применение плазменного потока в хирургии эхинококкоза печени: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.Н. Айдемиров. – Ставрополь, 1995. – 21 с.

**МИКРОСПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКАЯ
ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗДЕЙСТВИЯ
ПЛАЗМЕННОГО ПОТОКА НА ТКАНЬ ПЕЧЕНИ**

**М.Д. БАЙРАМКУЛОВ, В.С. БОТАШЕВА,
А.Н. АЙДЕМИРОВ, А.В. ПОПОВ,
А.Д. АБДОКОВ, У.Ш. ХУШВАКТОВ**

Изучен характер воздействия высокотемпературного плазменного потока на генетический аппарат клеток печени и особенности их реакции у 40 больных с эхинококкозом печени, оперированных с применением высокотемпературных плазменных технологий. Микроспектрофотометрически исследована ткань печени в непосредственной близости от паразитарной кисты до и после воздействия плазменным скальпелем. Установлено, что в зоне нарушенного гомеостаза печени после воздействия плазменного потока происходит активизация регенерационного процесса и усиление репаративной регенерации печеночной ткани.

Ключевые слова: эхинококкоз печени, плазменный скальпель, микроспектрофотометрия, репаративная регенерация

**THE MICROSPECTROPHOTOMETRIC
CHARACTERISTICS OF INFLUENCE OF THE
PLASMA STREAM ON THE LIVER TISSUE**

**BAIRAMKULOV M.D., BOTASHEVA V.S.,
AIDEMIROV A.N., POPOV A.V.,
ABDOKOV A.D., KHUSHVAKTOV U.Sh.**

Character of influence of a high-temperature plasma stream on the genetic device of the liver cells and feature of their reaction in 40 patients with liver echinococcosis, operated with application of high-temperature plasma technologies is investigated. The liver tissue in immediate proximity from parasitic cyst before and after influence of a plasma scalpel is investigated microspectrophotometrically. It is established, that in a zone of the broken homeostasis of a liver after influence of a plasma stream there is an activization of reclaiming process and strengthening of reparative regenerations of a hepatic tissue.

Key words: liver echinococcosis, plasma scalpel, microspectrophotometry, reparative regeneration