

УДК 616.832-004.21:613.1:550.47 (470.57)

ЗРИТЕЛЬНЫЕ ВЫЗВАННЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ ПРИ РАССЕЯННОМ СКЛЕРОЗЕ

Л.И.КОНДРАТЬЕВА*

В последнее время большую значимость приобрели инструментальные методы исследования при рассеянном склерозе (РС). Магнитно-резонансная томография (МРТ) позволяет визуализировать очаги поражения нервной системы. Лабораторные данные выявляют изменения иммунной системы — появление антител к общему белку миелина. Регистрация зрительных вызванных потенциалов (ЗВП) дает информацию о функциональном состоянии различных звеньев зрительного анализатора.

Метод вызванных потенциалов основан на исследовании электрических реакций мозга в ответ на внешние сенсорные стимуляторы. Установлены оптимальные параметры зрительной стимуляции при регистрации ЗВП. Короткие зрительные стимулы могут подаваться в виде вспышек, реверсии шахматных паттернов различного размера. При регистрации и анализе ЗВП выделяют ранние и поздние компоненты. Наибольшее значение в клинической практике имеет анализ компоненты P100 — первого негативного пика. Определяется латентное время пика P100 при стимуляции правого и левого глаза, его амплитуда, форма, межполушарная разность. Патологические изменения ЗВП связаны с нарушениями миелиновой оболочки нерва и нарушениями проведения сигнала по зрительным путям, из которых наиболее характерными являются: увеличение времени проведения импульса от сетчатки до зрительных центров (увеличение латентности компоненты P100 ЗВП), уменьшение амплитуды, межполушарная и межполушарная ассиметрия амплитудно-временных показателей, отсутствие ЗВП. Задержка проведения импульсов может возникать до проявления клинических симптомов.

ЗВП изменяются у пациентов с РС в 78% случаев. При улучшении зрительных функций восстановление амплитуды P100 происходило в течение 2-3 месяцев у половины больных с оптическим невритом (ОН), при первых атаках ОН латентность восстанавливается полностью у 40-65% пациентов. Изменения ЗВП не являлись специфическими для РС, имелось много факторов, влияющих на параметры ЗВП: возраст, пол, фиксация взгляда, яркость и т.д. Латентность P100 имела тенденцию к увеличению с возрастом. На ранних стадиях заболевания выявление поражения ЦНС с помощью ВП было не всегда возможно. В отделении функциональной диагностики ГУЗ ТО «Тулская областная больница» нейрофизиологические исследования с регистрацией ЗВП проводятся с 2006 года на аппаратно-программном комплексе фирмы МБН «Электроретинограф».

Обследовано 120 лиц, среди которых у 72 чел. диагноз РС подтвержден данными МРТ. Всем больным проводилась регистрация вспышечного и паттерн-реверсивного ЗВП. Патологические ЗВП зарегистрированы у 76% больных с достоверным и вероятным РС. При прогрессирующем течении РС изменения ЗВП проявлялись снижением амплитуды, появлением двойного пика волны P100 в виде буквы «W», которые были у 10 больных.

Выводы. Нейрофизиологические исследования ЗВП являются объективным функциональным методом диагностики дисфункции зрительных путей и обладают очень высокой чувствительностью, и, что ЗВП в сочетании с электроретинографией позволяют более точно определить локализацию и уровень поражения зрительного анализатора.

УДК 616.741: 615.837: 612.844.1/3

НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ТЕПЛООВОГО ДЕЙСТВИЯ УЛЬТРАЗВУКА В ХИРУРГИИ КАТАРАКТЫ (ОБЗОР)

И.Г.СМЕТАНКИН*

В 1967 г. C.D.Kelman предложил принципиально новый метод удаления катаракты, основанный на дроблении (эмульсификации) ядра хрусталика низкочастотным ультразвуком (УЗ). Им

был разработан для этой цели прибор — факоземульсификатор «Cavitron» (фирма «Cavitron», США). Разработка данного метода была значительным шагом вперед: он позволял расширить показания к экстракапсулярной методике экстракции катаракты после повсеместного использования интракапсулярной экстракции, нередко приводящей к отслойке сетчатки, грыжам стекловидного тела и другим осложнениям [1].

В дальнейшем низкочастотный УЗ был использован в аппарате «Sparta» (фирма BMJ, США), разработанном L. I. Girard. В 1980 г. Л. В. Коссовским и соавт. предложен отечественный УЗ-аппарат УЗХ-Ф-04-О. Эти приборы имели конструктивные особенности, различные мощностные характеристики, размеры и другие технические данные. Но в их основе, как и в основе современных устройств для факоземульсификации, лежало объединение трех основных принципов: разрушение патологически измененных структур с помощью УЗ; эвакуация разрушенных структур (аспирация); подача замещающей жидкости (иригация). Дробление ядра хрусталика ведется механически колеблющимся с частотой 25–50 кГц титановым наконечником в виде полой иглы, с одновременной аспирацией хрусталикового вещества по каналу УЗ иглы [3]. Методика факоземульсификации по Kelman претерпела за прошедшее время кардинальные изменения на всех узловых этапах хирургического вмешательства — от операционного разреза до герметизации операционной раны, что сделало ее более эффективной и безопасной [2, 3].

Факоземульсификация выгодно отличается от традиционных способов экстракции катаракты возможностью удаления содержимого капсульного мешка хрусталика через разрез 1–3 мм. Операция проводится на закрытой системе, что сводит к минимуму операционную травму и перелазы внутриглазного давления, операционная рана не требует шовной герметизации, благодаря чему полностью исключается или сводится к минимуму вероятность таких осложнений, как роговичный астигматизм, выпадение и ущемление радужки, повреждение хрусталиковой сумки и выпадение стекловидного тела в операционную рану, отслойка сетчатки, макулярный отек и послеоперационные воспалительные и инфекционные осложнения [5, 6].

Одним из аспектов биологического действия УЗ, который приходится учитывать в ходе операции, является выделение тепла в результате поглощения тканями акустической энергии. Это связано с тем, что чрезмерный нагрев тканей может вызвать ожог тканей глаза, в первую очередь роговицы, а это негативно повлияет на результаты операции. Большое число исследований посвящено изучению биологического действия УЗ различной интенсивности. Причиной развития патологических изменений, по мнению [15], является тепловой эффект. На разогрев тканей глаза при УЗ-воздействии одним из первых обратил внимание G. Baum (1956). Он установил линейную зависимость между мощностью УЗ и температурой тканей глаза, отметил, что все изменения в переднем отделе глаза температурно обусловлены.

В результате экспериментов [7] установлено, что подъем температуры в глазных структурах происходит в течение 3 мин при интенсивности 1,4 Вт/см², затем она медленно повышается и, начиная с 5–7-й минуты, сохраняется на одном уровне. При интенсивности <1,4 Вт/см² существенного подъема температуры тканей глаза не выявлено. Температура влаги передней камеры и хрусталика существенно зависела от температуры иммерсионной жидкости. Максимальные значения температуры во влаге передней камеры и хрусталике составляли 40–41 °С, в стекловидном теле и на уровне глазного дна до 42–43 °С. После 30-минутной гипертермии биомикроскопически определялись гиперемия конъюнктивы и отек роговицы, которые исчезали в течение 6–10 ч. При биомикроскопическом и офтальмоскопическом контроле через 3 мес. изменений в структурах глаза не было выявлено.

Уже давно замечено, что основным фактором, влияющим на исход операции, является повреждение эндотелия роговицы УЗ. Частота отека роговицы после факоземульсификации отмечалась в 1,8–2,3% случаев и иногда приводила к эндотелиально-эпителиальной дистрофии роговицы [10, 11, 14]. При морфологическом изучении воздействия факоземульсификации на эндотелий роговицы в работах [10, 15] выявили: нарушение непрерывности цитоплазмы эндотелия вблизи основной мембраны; уплотнение эндотелиальных клеток и сжатие апикальных мембран; разрыв этих мембран с потерей цитоплазмы; грубую деструкцию их. Выраженность такого повреждающего действия зависела от длительности УЗ-воздействия.

* Отделение функциональной диагностики Тульской областной больницы. Нижегородская ГМА, 603005, Н.Новгород, пл. Минина и Пожарского, д. 1/10, т. 439-06-43

Необратимый переход энергии звуковой волны в тепло характеризуется коэффициентом поглощения по амплитуде (α) или коэффициентом поглощения по интенсивности ($\mu = 2\alpha$). Эти коэффициенты выражаются в обратных единицах длины (сантиметр в минус первой степени) или в децибелах (дБ) на сантиметр; при этом $\text{см}^{-1} = 8,68 \text{ дБ/см}$. Оценку коэффициента поглощения обычно осуществляют путем сравнения интенсивности УЗ, прошедшего через образец ткани определенной толщины, с начальной интенсивностью. В случае плоской волны интенсивность УЗ, теряющаяся в слое ткани толщиной x , составит:

$I_x = I_0(1 - e^{-2\mu x})$, где I_0 – интенсивность при $x=0$; 2α – коэффициент поглощения по интенсивности; e – основание натурального логарифма. Потери акустической энергии при прохождении в биосреде обусловлены поглощением и рассеиванием звука. Вклад поглощения в полное затухание ультразвуковой энергии варьируется от 30% до 70% [8]. Обычно именно поглощение УЗ тканями является непосредственной причиной генерации тепла.

Если пренебречь теплопроводностью среды и током внутриглазной жидкости, то для ориентировочного расчета приращения температуры (ΔT) в ткани можно использовать выражение: $\Delta T = \mu I / \rho C$, где μ – коэффициент поглощения по интенсивности; I – интенсивность; ρ – плотность ткани; C – механический эквивалент единицы тепла. Например, при озвучивании ткани с $\mu = 0,2 \text{ см}^{-1}$ интенсивностью 1 Вт/см^2 приращение температуры составит $0,048 \text{ }^\circ\text{C} \times \text{с}^{-1}$ ($2,87 \text{ }^\circ\text{C} \times \text{мин}^{-1}$), $\rho = 1 \text{ г/см}^3$, $C = 4,18 \text{ Дж/г}^\circ\text{C}$. Коэффициенты поглощения различных тканей существенно различаются между собой, их величины для всех видов тканей, кроме костной, приблизительно линейно зависят от частоты УЗ. Значения коэффициента поглощения значительно зависят от структуры биологической ткани, ее плотности, вязкости, сжимаемости и т. д. Жидкие биосреды имеют сравнительно малое поглощение. При частоте $5,25 \text{ МГц}$ для влаги передней камеры глаза и стекловидного тела $\alpha = 1,4$, дБ/см, роговицы и хрусталика – $3,6$ и $3,9$ дБ/см соответственно [4, 8].

Для практических целей представляет интерес зависимость α от температуры тканей. Экспериментальные исследования показали, что при частоте 1 МГц и интенсивности $5\text{--}200 \text{ Вт/см}^2$ в интервале температур $28\text{--}45 \text{ }^\circ\text{C}$ α изменяется незначительно – от $0,19$ до $0,25 \text{ см}^{-1}$. Расчетные значения температуры, полученные при использовании коэффициентов поглощения УЗ и измеренные традиционным термодатчиком методом, различаются. Обычно для температурных измерений используют термодатчики $\varnothing 50 \text{ мкм}$ и более. Размер этих датчиков, как правило, больше величины животных клеток, поэтому их показания соответствуют температуре экстрацеллюлярной жидкости. УЗ поглощается сильнее в больших биомолекулах, особенно в белках, и слабее в воде (клетки богаты белком, а экстрацеллюлярная жидкость состоит из воды и электролитов), поэтому внутри клетки температура должна быть выше измеренной экстрацеллюлярно термодатчиком. Исследования с использованием микротермодатчиков диаметром 10 мкм показали, что при частоте УЗ $2,7 \text{ МГц}$ коэффициент поглощения в ткани составил $0,35 \pm 0,09 \text{ дБ/см}^{-1}$, а в клетке $1,22 \pm 0,17 \text{ дБ/см}^{-1}$ (эксперименты проведены на ткани яичника и яйцеклетке морского ежа, диаметр клетки 100 мкм).

Генерация тепла внутри клетки оказалась в $3,5$ раза выше, чем в ткани [4]. Во время озвучивания клеточные структуры и плазматические мембраны имеют значительно более высокую температуру, чем измеренная экстрацеллюлярно или предсказанная на основании коэффициента поглощения в ткани. При воздействии УЗ тепло в тканях распределяется неравномерно, причем наибольшее повышение температуры наблюдается на границах раздела тканей с различными акустическими свойствами, например влага передней камеры – роговица. Возможное объяснение селективного нагрева границ раздела тканей с разными акустическими свойствами, предложенное А.П. Сарвазяном (1982), связано с возникновением сдвиговых (поперечных) волн. За счет акустической неоднородности тканей колебательное смещение в продольной волне может быть неодинаковым в различных структурах, что и приводит к появлению сильно затухающих сдвиговых волн. Скорость и, следовательно, длина продольных и сдвиговых волн существенно различаются. Хотя в энергию сдвиговой волны преобразуется очень малая доля энергии продольных волн, локальное повышение температуры на границе раздела двух сред может быть значительным.

Пороговые значения температуры, приводящие к разрушению биологической ткани, существенно зависят от времени

ее нагревания. При этом нет какой-либо зависимости результирующего эффекта от способа нагревания (электромагнитный, лазерный, ультразвуковой и т. п.). Используя высокочастотные акустические колебания для лечения глазных заболеваний, старались свести к минимуму тепловое действие УЗ. Это обусловлено необходимостью выбора таких параметров УЗ-воздействия, которые при многократных экспозициях на глаз не вызывали бы его повреждений, во многом связанных с разогревом тканей. Для нормальных структур глаза этот принцип остается основополагающим. Ряд исследователей пытается подобрать параметры излучателя, его частоту и способ возбуждения преобразователя так, чтобы распределение интенсивности в УЗ-поле в радиальном направлении имело «двугорбый» характер – с максимумом по периферии излучателя и с «провалом» по его оси.

В хирургии катаракты существует 2 основных вида операций с использованием УЗ [2, 11]. При коаксиальной факоэмульсификации, на ультразвуковую иглу с надет ирригационный рукав, за счет прохождения по нему ирригационного раствора удаётся избежать нагрева окружающей роговицы (рис. 1). При бимануальной факоэмульсификации используется игла без рукава, а ирригация ведется через второй разрез другим инструментом (рис. 2). Чтобы не вызвать нагрев и ожог роговицы в ходе операции, надо уменьшить экспозицию УЗ, исключить его непрерывную работу, что достигается изменением модуляции импульсов [6,9]. Имеются 2 вида модуляций, теоретические и экспериментальные основы использования которых известны давно.



Рис. 1. Коаксиальная факоэмульсификация

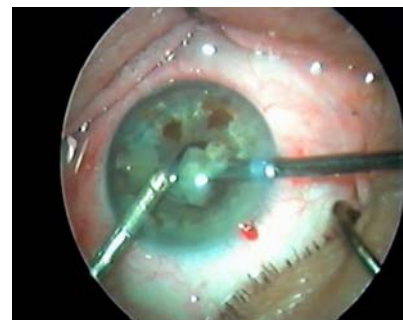


Рис. 2. Бимануальная факоэмульсификация

О. Lavin и соавт. (1952) использовали импульсный УЗ интенсивностью 150 Вт/см^2 при экспозиции $1\text{--}5$ мин. Изменения отсутствовали, если отношение длительности импульса к длительности паузы было меньше единицы, при этом в момент импульса происходил нагрев, а во время паузы – остывание. D.J. Coleman и соавт. (1985) отмечают, что при высокой интенсивности и кратковременном воздействии отвод тепла от разогреваемой структуры не играет существенной роли, если сфокусировать мощный УЗ. При относительно низких интенсивностях становятся критичными экспозиция и возможный отвод тепла в аксиальном и латеральном направлениях. Практически это достигается следующим образом: у современных приборов время ультразвукового импульса поделено на так называемый «рабочий цикл»: часть времени импульса УЗ включен («работа»), часть времени – выключен («отдых»). Время «работы»/«отдыха» регулируется от 1 до 100% , количество импульсов – до 150 в с. Изменяя количество импульсов в секунду и продолжительность импульса можно изменять их конфигурацию в целях уменьшения УЗ экспозиции (микроимпульсный режим). Другой способ уко-

рочения экспозиции УЗ-генерация коротких пульсов заданной мощности длительностью от 1 до 100 мс через определённые промежутки времени (режим «выпешки»). При этом уменьшается экспозиция УЗ, роговица практически не нагревается, нет необходимости принудительного охлаждения иглы ирригационным раствором через рукав. Именно за счёт использования иглы без рукава стало возможным уменьшение протяжённости операционного разреза до $\leq 1.6\text{--}1.0$ мм [2–3, 9, 12].

Указанные конструкции излучателей получают широкое распространение в современной катарактальной хирургии, так как предохраняют интактные структуры от нежелательных воздействий, позволяют уменьшить протяжённость операционного разреза, и, таким образом, снижают вероятность осложнений, улучшают результаты, укорачивают послеоперационный период [13].

Литература

1. Буратто Л. Хирургия катаракты. – Milano: Fabiano Editore, 1999. – 540 с.
2. Гутман Ш. // EURO TIMES. – Окт. 2006. – С.10–13.
3. Малукин Б.Э. // Вестн. офтальм. – 2006. – Т.122, № 1. – С. 37–41.
4. Плевинский В.П. // Арх. анат. – 1982. – №3. – С. 56–59.
5. Сметанкин И.Г. // Нижегород. мед. ж. – 1998, № 1. – С. 63–65.
6. Сметанкин, И.Г. // Вестн. офтальм. – 2001. – Т.117, №5. – С. 18–20.
7. Фридман Ф.Е. и др. Ультразвук в офтальмологии. – М.: Мед., 1989. – 256 с.
8. Яворский А.В. Актуальные вопросы офтальмологии. – Харьков, 1985. – С. 55–58.
9. Argyal A. et al. // JCRS. – 2001. – №27. – P.1548–1552.
10. Beesley R.D. et al. // Ann. Ophthal. – 1988. – Vol. 18, №6, P. 216–220.
11. Buratto L. Assisting the Ophthalmic Surgeon. – Milano: 1997. – 267 с.
12. Chang D.F. // JCRS. – 2004. – №30. – P.932–933.
13. Fine I.H. et al. // JCRS. – 2004. – №30. – P.1014–1019.
14. Renard G. et al. // J. franc. Ophthal. – 1980. – №5. – P. 333.
15. Soscia W. et al. // JCRS. – 2002. – №28. – 1039–1043.

УДК 616-006; 616.345

ОЦЕНКА СТЕПЕНИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОСТИ ЖЕЛЕЗИСТОГО РАКА ЛЕГКОГО НА ОСНОВЕ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОГО И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ОНКОМАРКЕРОВ

В.Л.КОВАЛЕНКО*, С.И.ШВЕЦ*, Е.А.КОГАН**

Клиническая практика показывает, что при одной и той же стадии по системе TNM, гистологической структуре опухоли, включая степень ее дифференцировки, несмотря на радикальное хирургическое лечение больных раком легкого одни пациенты выздоравливают, а у других наблюдается прогрессирование заболевания.

Клиницисту нужны факторы, которые позволили бы оценить индивидуальный прогноз и агрессивность течения рака легкого. К таким факторам большинство исследователей [1–4, 8, 9] относит тканевые онкомаркеры, которые определяют поведение опухоли через уровень пролиферативной активности (ПА), клеточной гибели (апоптоза), межклеточных связей и др.

Распределение больных по полу, возрасту, системе TNM и гистологическому варианту

Пол	Всего (абс.)	Средний возраст	Система TNM								Гистологический вариант (N0/N+)			
			T ₁ N ₀	T ₂ N ₀	T ₃ N ₀	T ₁ N ₁	T ₂ N ₁	T ₃ N ₁	T ₁ N ₂	T ₂ N ₂	БАР	АК-I	АК-II	АК-III
М	78	58,5	23	25	3	18	1	4	3	1	10/1	5/5	36/11	3/7
Ж	19	57,5	7	6	0	3	0	2	0	1	5/2	2/0	6/3	0/1
Итого	97	58,5	30	31	3	21	1	6	3	2	15/3	7/5	42/1456	3/8
	100%		30,9	31,2	3,1	21,6	1,0	6,2	3,1	2,1	18,6	12,4	57,7	11,3

* Институт повышения квалификации специалистов здравоохранения, г. Хабаровск
** ММА им. И.М.Сеченова, г. Москва

Нами для оценки злокачественного потенциала опухоли, начиная с 1999 года проспективно, у 97 оперированных больных железистым раком легкого (ЖРЛ) (табл. 1) на серийных криостатных срезах толщиной 7 мкм с использованием первичных моноклональных антител и вторичной системы детекции фирмы «Novocastra» (UK) изучены ИГХ маркеры пролиферативной активности (Ki67 и топоизомераза IIα), апоптоза (p53 и CAS) и межклеточной адгезии (E-cadherin). В качестве первичных использовались моноклональные антитела – Ki67 (clone NCL-MM1), Topoisomerase II alpha (clone 3F6), p53 (clone BP53-12), CAS (clone 30F12) и E-cadherin (clone 36B5). В качестве вторичных антител использовали мышиные биотинилированные иммуноглобулины. Проявление шло с применением авидин-стрептовидиновой метки и ДАБ (ABC kit vector, CA, DAB kit, «DAKO»). В качестве фонового красителя использовали гематоксилин. Ставили контрольные реакции: позитивный контроль – случаи РЛ с положительной экспрессией моноклональных антител (МКА), негативный контроль – без первичных маркеров.

Оценку ПА (Ki67 и топоизомераза IIα) и маркеров апоптоза (p53 и CAS) вели методом определения соотношения ДАВ-окрашенных ядер к неокрашенным из расчета на 1000 ядер опухолевых клеток в 10 полях зрения, в %. Экспрессия Е-кадгерина определялась в баллах: окраска <5% опухолевых мембран расценивалась в 1 балл, окраска >5% – в 2 балла, окраска <50% – в 4 балла и окраска >50% – в 6 баллов. Вычисляли ср. уровни экспрессии и ошибку средней для каждого маркера в зависимости от типа опухоли. Корреляционный анализ вели по программе Statistica для Microsoft Windows (вер. 6.0, Stat Soft Inc., США) по непараметрическим критериям. Уровень статистической значимости $p<0,05$, распределение больных по полу, возрасту, системе TNM и гистологической структуре опухоли – в табл. 1.

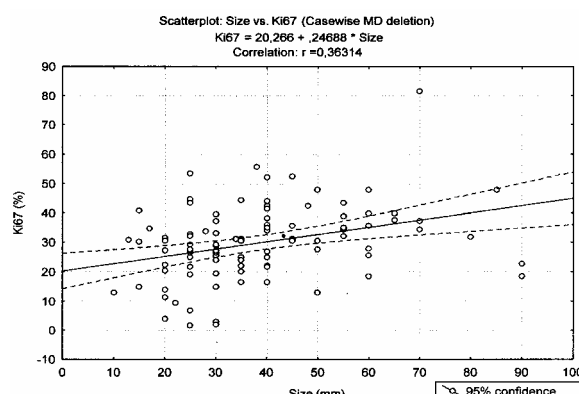


Рис. 1. Корреляционная связь между размером опухоли и пролиферативной активностью (Ki67)

Продукт реакции с МКА клона NCL-Ki67-MM1 обнаруживался в ядрах опухолевых клеток и имел коричневое окрашивание (рис. 1). В результате исследований установлено, что между ПА ЖРЛ (95%ДИ 27,2–32,4) и такими клиническими параметрами, как возраст и пол, статистически значимая связь отсутствует, в то же время уровень ПА, определяемый по экспрессии Ki67, имеет корреляционную связь умеренной силы с размером опухоли (Spearman rank test, $r=0,363$, $p=0,0002$, рис.8), т.е. чем больше размер опухоли, тем выше в ней уровень клеточного деления. Данные, опубликованные в [5–6, 10], о характере роста колоний бактерий, а также изучение ПА и динамики размера опухоли у экспериментальных животных, свидетельствуют о постепенном замедлении скорости роста (в силу некроза, метастазирования, недостаточной васкуляризации и др.) по мере увеличения размеров узла.

В отличие от экспериментальных животных, у которых с увеличением размеров опухоли рост ее замедляется, у больных ЖРЛ наблюдается обратная зависимость – в больших опухолях количество делящихся клеток увеличивается. Нам представилось интересным получить ответ на вопрос, имеется ли связь между про-

Таблица 1