

КЛИНИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА

И В. Зубков, О.В. Машковцев, профессор А.А. Косых, д.м.н. Г.И.Г. Распутин

ПЕРФТОРУГЛЕРОДНЫЕ ЭМУЛЬСИИ УСИЛИВАЮТ РЕЗОРБЦИЮ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ЧАСТИЧНОЙ ГЕПАТЭКТОМИИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

Кировская государственная медицинская академия

До настоящего времени основным методом хирургического лечения объемных образований печени является резекция органа.

Несмотря на успехи в развитии хирургической гепатологии, оперативные вмешательства на печени, в первую очередь, обширные резекции, остаются одними из самых сложных в абдоминальной хирургии и сопровождаются высокой летальностью и большим числом послеоперационных осложнений (3).

Подавляющий процент в общей структуре послеоперационных осложнений, по многочисленным данным, приходится на острую печеночную недостаточность и гнойно-воспалительные осложнения. Исследованиями последних лет установлено, что развитие печеночной недостаточности ставят в зависимость от функционального состояния органа до операции. Известно, что при очаговых поражениях печени определяется неспецифический реактивный гепатит. После операции представляет собой вторичный гепатит, отражающий реакцию печеночной ткани на внепеченочное заболевание, которое приводит к фиброзированию печени.

Важнейшим критерием благополучия после операционного периода является адекватная репаративная регенерация печени, которая нарушается при развитии печеночно-клеточной недостаточности.

Одним из проявлений хронического воспаления является активация мезенхимальных клеточных элементов, синтезирующих коллаген и гликозаминогликаны. При длительном либо периодически повторяющемся воздействии патогенного фактора в печени формируется фиброз.

Открытым остается вопрос о конкретных механизмах резорбции избыточно накопленной соединительной ткани в печени. Для этого важно знать состав новообразующейся соединительной ткани и ее свойства.

Фиброзные изменения, особенно на ранних стадиях, - процесс обратимый. С целью стимуляции обратного развития явлений фиброза применяются различные лечебные мероприятия.

В клинической практике для предотвращения фиброза применяют лекарственные препараты: глюкокортикоиды, гонадотропин человека; физиотерапевтические средства: облучение области печени красным светом, гелий-неоновым лазером, которые наряду с основным их действием блокируют синтез коллагена.

В этом контексте представляет интерес изучение эффективности использования эмульсий перфторорганических соединений при обширных резекциях печени (ОРГ1). Перфторуглеродные эмульсии (ПФУЭ) относятся к кровезамещающим средствам и, как показало исследование их свойств, обладают полифункциональным действием. Изучение перфторана - первого отечественного кровезамениителя этого класса, разрешенного к клиническому применению (Регистрационное удостоверение МЗ РФ № 96/50/10 от 13.02.96) - выявило у него газотранспортные, противоишемические, иммуностропные свойства, а также способность к стимуляции роста тканей.

Голубев А.М. в 1993 году показал, что при взаимодействии макрофагов с частицами перфторуглеродов (ПФУ) ведет к появлению так называемых «перфторофагов» - макрофагов, со держащих вакуоли с частицами ПФУЭ. Важным является тот факт, что на месте вторичных гранул, представляющих из себя скопления лимфоцитов, замещивших перфторофаги, не образуется соединительной ткани, в гранулах практически отсутствуют фибробласты, не наблюдается образование коллагена (1).

Однако исследований по влиянию перфтора на соединительную ткань при обширных резекциях печени не проводилось.

Эксперименты проводились на 136 белых беспородных крысах. С целью создания модели хронического гепатита (ХГ) животным в течение 5 недель было выполнено 20 подкожных инъекций по 0,3 мл 65% раствора четыреххлористого углерода в растительном масле. Динамику коллагеновых белков оценивали по содержанию гидроксипролина печени, который является специфичной для коллагена аминокислотой. О количестве основного вещества судили по содержанию гексозаминов (ГА) в навеске печени, отражающему суммарное количество гликопротеинов, протеогликанов и гликозаминогликанов.

Все животные были разделены на три группы, из которых первые две являлись конт

рольными. Животные 1-й группы были приняты за исходный уровень ХГ. Животным с ХГ (II группа) производили резекцию печени в объеме 50%, а животным III группы - резекцию и введение ПФ. Забои животных производились на 2, 3, 7 и 30 сутки.

Была изучена морфометрически соединительная ткань печени, митотический индекс и подсчитано количество нормальных гепатоцитов.

Проведено биохимическое исследование печени на маркеры соединительной ткани.

По полученным данным количество соединительной ткани в печени интактных крыс было $0,109 \pm 0,015$ усл. единиц, процентное содержание нормальных гепатоцитов $88,2 \pm 0,45\%$, а их митотический индекс (МИ) $0,4 \pm 0,02\%$. Гидроксипро- лин и гексозамины печени составили $1,94 \pm 0,11$ мг/г, и $9,59 \pm 0,63$ мг/г соответственно.

Исходный уровень патологии показал, что объемная плотность соединительной ткани оказалась равной $0,192 \pm 0,023$ усл. единиц, что в 1,8 раз выше, чем у нормальных животных ($P < 0,05$), количество нормальных гепатоцитов (НГ) и МИ составило $38,79 \pm 1,642\%$ и $2,21 \pm 0,062\%$, соответственно.

Биохимические исследования показали, что уровень гидроксипролина ткани печени на высоте патологии составил $2,63 \pm 0,26$ мг/г. и был достоверно выше нормы на 35% ($P < 0,05$), а количество гексозаминов $16,05 \pm 2,47$, что достоверно выше нормы почти на 70% ($P < 0,05$). Динамика тканевого гидроксипролина в обеих группах исследования была сходной за исключением достоверно низкого показателя к 30-м суткам в основной группе, относительно нормы и группы контроля (рис.1). Если же взять во внимание динамику гексозаминов, то можно отметить, что в группе без введения перфторана этот показатель во все сроки исследования был достоверно выше нормы (рис.2). Согласно теории В.В. Серова (1981) коллагенсинтезирующие клетки предварительно создают своеобразную матрицу из глико- заминогликанов и гликопротеинов, которая за тем необходима для правильной ориентации и самосборки коллагеновых фибрилл (7). С учетом выше приведенных собственных показателей и данных литературы можно сказать, что резекция усиливает процессы резорбции в раннем после операционном периоде, но этот эффект не стойкий.

Через 48 часов после операции объемная плотность соединительной ткани печени уменьшилась на 35% от исходного уровня и составила $0,125 \pm 0,031$ усл. ед. Схожую динамику имело содержание гексозаминов. В то же время отмечалось статистически значимое снижение тканевого гидроксипролина на 40%. Количество НГ ко 2-м суткам резко снизилось относительно исходного уровня патологии и нормы ($P < 0,001$). Митотическая активность гепатоцитов через 48 часов увеличилась в 4 раза.

В группе с введением перфторана наблюдалась сходная динамика за исключением не столь резкого падения НГ (в 2 раза против 5 в группе без введения перфторана). Также отмечено, что МИ был выше, чем в предыдущей группе, в 2 раза и выше нормы почти в 400 раз.

На 3-й сутки в 1-й группе животных объемная плотность соединительной ткани несколько увеличилась, на 7-е сутки оставалась на том же уровне, при этом показатель все еще не отличался от исходного уровня патологии ($p > 0,05$). В группе с введением перфторана к 3-м суткам опеределяется нормализация исследуемого показателя, а к 7-м суткам он составил $0,078 \pm 0,0008$ усл. единиц, что было достоверно ниже нормы. Дальнейшую динамику объемной плотности во локнистых структур можно проследить по графику (рис. 3).

Количество НГ в группе сравнения к 3-м суткам увеличилось в 3 раза относительно предыдущего срока наблюдения, оставаясь достоверно ниже нормы ($P < 0,001$), что сочеталось с незначительным повышением МИ. В группе с введением перфторана в этот срок наблюдения исследуемые показатели имели сходную динамику, но проследивались достоверно высокие показатели МИ и НГ разница ($P < 0,001$ и $P < 0,05$ соответственно).

К 7-м суткам в обеих группах наблюдалось значительное падение МИ, однако в основной группе МИ был в 2 раза выше, чем в группе сравнения ($P < 0,001$).

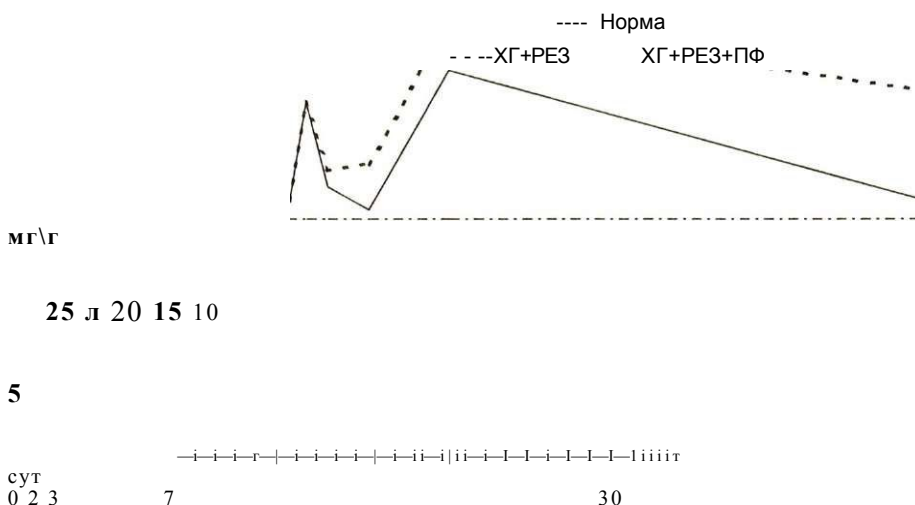


Рис. 1. Сравнительная динамика тканевого гидроксипролина печени крыс, с хроническим гепатитом после резекции органа и группы после резекции и введения перфторана

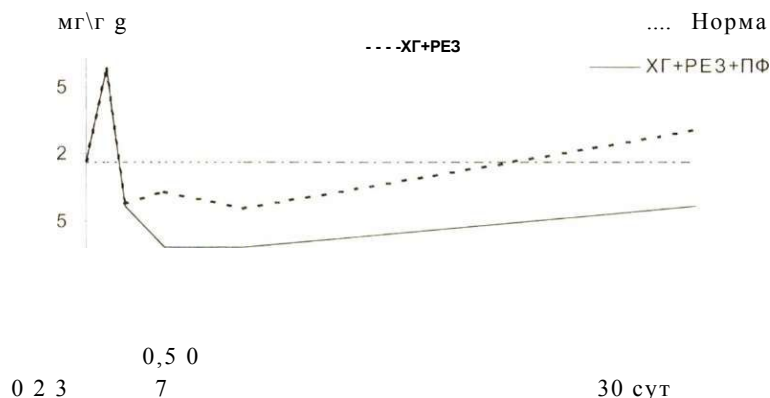


Рис. 2. Сравнительная динамика тканевых гексозаминов печени крыс, с хроническим гепатитом после резекции органа и группы после резекции и введения перфторана

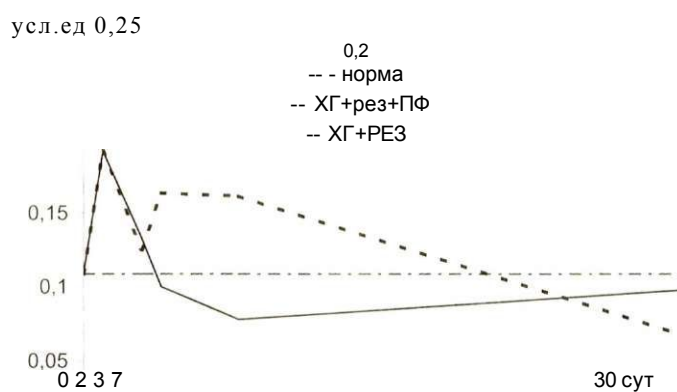


Рис. 3. Динамика объемной плотности волокнистых структур соединительной ткани печени крыс, с хроническим гепатитом после резекции печени и группы после резекции и введения перфторана

($P, +0,0(1)$), что сочеталось с уменьшением количества нормальных гепатоцитов в группе сравнения и увеличением в основной, которые составили $9,06 \pm 2,022\%$, и $72,37 \pm 2,385\%$ соответственно. К 30-м суткам количество НГ в основной группе нормализовалось, а в группе сравнения было достоверно ниже нормы. Митотический индекс через месяц после операции был достоверно выше в обеих группах исследования (табл. 1)

Резюмируя вышесказанное, полученные данные свидетельствуют о том, что под влиянием перфторана происходит снижение количества соединительно-тканых волокон и основного белка соединительной ткани, а также усиливается регенерация гепатоцитов, что подтверждается данными литературы (6).

Одним из основных, на наш взгляд, механизмов, ведущих к усилению резорбции соединительной ткани, является активация цитохром Р-450 зависимой монооксигеназной системы. Важной особенностью является то, что активация индукторов цитохрома Р-450 приводит к увеличению относительной массы печени, которое обусловлено как гипертрофией, так и гиперплазией гепатоцитов (5). Известно, что индукторы микросомальных монооксигеназ активируют купферовские клетки, которые запускают процессы, направленные на резорбцию соединительной ткани (2, 4).

Таким образом, применение перфторана при ОРП, как кровезаменителя с полифункциональным действием, значительно усиливает процессы фиброклазии патологически измененной печени.

Литература

1. Голубев А.М. Итоги и перспективы изучения влияния фторуглеродных кровезаменителей на биологические системы // Перфторорганические актив

ные среды для медицины и биологии: Сб. научных трудов. - Пушино, 1993. - С. 88-93.

2.Далгатов Г.Д., Гумерова А., Шахназарова М.Д. и др. Побочный эффект применения перфторуглеродной эмульсии важнее основного? // Перфторорганические соединения в биологии и медицине: Сб. научных трудов. - Пушино, 2001. - С. 83-88.

3.Журавлев В.А. Радикальные операции у «неоперабельных» больных с очаговыми поражениями печени. - Киров: Изд-во «Вятка», 2000. - 224 с.

4.Косых А. А. Соединительная ткань печени в норме, при хроническом гепатите и циррозе в условиях регенерации: Дис. ... докт. мед. наук. - М., 1992. - 475 с.

5.Образцов В. В., Гришаинова А.Ю., Мишин В.М. Индукция микросомной монооксигеназы полностью фторированными органическими соединениями (обзор) // Вopr. мед. химии. - 1989. - № 3. - С. 9-18.

6.Распутин П.Г. Применение эмульсий перфторорганических соединений в резекционной хирургии печени: Дис. ... докт. мед. наук. - Пермь, 2000. - 340 с.

7.Серое В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань.

Таблица 1

Сравнительный анализ показателей нормального количества гепацитов и митотического индекса экспериментальных животных

Сутки/ Показатель		2-я группа (хронический гепатит + резекция)	3-я группа (хронический гепатит + резекция + перфторан)
Норма	НГ	88,2±0,45%	88,2±0,45%
	МИ	0,04±0,002%с	0,04±0,002%с
0-сутки	НГ	38,79±1,642	38,79±1,642
	ми	2,21 ±0,062	2,21 ±0,062
2-сутки	НГ	6,91 ±0,274	17,80±2,00***
	ми	8,19±0,409	15,08±0,174***
3-сутки	НГ	20,24±0,981	23,63±0,445***
	ми	10,29±0,218	16,57±0,233***
7-сутки	НГ	9,06±2,022	72,37±2,385***
	ми	1,64 ±0,005	3,03±0,098***
30-сутки	НГ	77,54±1,166	79,67±0,163**
	ми	0,64 ±0,048	3,28±0,010***

Примечание:

0-сутки - исходный уровень патологии

* - достоверность различий между группой «хронический гепатит + резекция + перфторан» и нормой ** - достоверность различий между группами «хронический гепатит + резекция + перфторан» и «хронический гепатит + резекция».

3 Заказ 8-48

- М., Медицина, 1981. - 312 с.

Summary

PERFLUOROCARBON EMULSIONS STRENGTHEN THE RESORPTION OF CONJUNCTIVE TISSUE OF THE LIVER AFTER PARTIAL HEPATECTOMY IN EXPERIMENTAL ANIMALS WITH CHRONIC HEPATITIS

I.V. Zubkov, O.V. Mashkovtsev, A.A. Kosykh, P.G. Rasputin

Kirov State Medical Academy

Key words: conjunctive tissue, perfluorocarbon emulsions, partial hepatectomy, chronic hepatitis. Intraoperative introduction of perfluorocarbon emulsions strengthens the resorption of conjunctive tissue during partial hepatectomy. It is proved by the content of hydroxprolinum and hexosamines of the liver and also by the measurement of volumetric density of fiber structures of the liver and by rise of mitotic activity of liver cells.