

улучшение контакта новорожденного с его мамой, а также создание для ребенка комфортной, неагрессивной среды обитания. Это особенно актуально для ослабленных и недоношенных детей.

Женщина, являясь центральной фигурой в системе перинатальной службы, имеет право выбора на тот или иной вид медицинской услуги, право на участие в принятии решений относительно планирования и прове-

дения мероприятий, связанных с родами, лечением и выхаживаем ее ребенка в условиях родильного дома и отделения для выхаживания и лечения недоношенных и новорожденных. Социальные, эмоциональные и психологические факторы являются основополагающими при построении новых отношений в службе медицинского обеспечения и охраны здоровья матери и ребенка.

ЛИТЕРАТУРА

1. Воробьев, П. Встреча по горизонтали // Газета «Московский доктор». - 2007. - № 1 (42). - С. 2.
2. Доказательная медицина. - М., 2002. - Вып. 1. - 1400 с.
3. Конь, И.Я. Современные принципы и методы вскармливания детей первого года жизни / И.Я. Конь. - М., 1999. - 50 с.
4. Левин, А.Н. Стационар для новорожденных / А.Н. Левин. - М., 1997. - 99 с.
5. Санникова, Н.Е. Вскармливание детей первого года жизни / Н.Е. Санникова, И.В. Вахлова. - Екатеринбург, 2002. - 59 с.
6. Скворцов, И.А. Детство нервной системы / И.А. Скворцов. - М., 2004. - 169 с.
7. Энкин, М. Руководство по эффективной помощи при беременности и родах / М. Энкин, 2-е изд.: Пер. с англ. - СПб, 1999. - 544 с.
8. Calmers, I. Effective health care in pregnancy and childbirth / I. Calmers, M. Enkin [et al]. - Oxford, 1989. - 77 p.
9. Dahm, I.S. Newborn temperature and calculated heatloss in the delivery room / I.S. Dahm, L.S. James // Pediatrics. - 1972. - № 49. - P. 504-513.
10. European Medicines Agency Press Office, London, 2005, Doc. Ref. EMEA /262135/ 2005.
11. Greay, J.E. / J.E. Greay, D.A. Goldmann // Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal. Ed., 2004. - Vol. 89. - P. 472-473.
12. Omene, J.A. Heat loss in Nigerian newborn infants in the delivery room / J.A. Omene, F.M. Diejomaoh, M. Faal // Int. J. Gynecol. Obstet. - 1979. - № 16. - P. 300-302.

УДК 616.36-002-089.844: 615.361: 611-013.85]-003.93-092.9

© М.А. Нартайлаков, Р.С. Мингазов, А.Х. Мустафин, Д.Р. Мушарапов, В.П. Соколов, И.И. Галимов

М.А. Нартайлаков, Р.С. Мингазов, А.Х. Мустафин,
Д.Р. Мушарапов, В.П. Соколов, И.И. Галимов

ПРИМЕНЕНИЕ АЛЛОГЕННЫХ БИОМАТЕРИАЛОВ В ХИРУРГИИ ДИФФУЗНЫХ И КИСТОЗНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ

*Башкирский республиканский центр хирургической гепатологии, г. Уфа
ГОУВПО «Башкирский государственный медицинский университет Росздрава», г. Уфа*

В статье анализируются возможности регенерации печени при ее диффузных и кистозных заболеваниях применением аллогенных биоматериалов серии «Аллоплант». В эксперименте на 80 кроликах доказаны эффективность пластики дефектов печени аллотрансплантатом для замещения объемных дефектов, а также механизм резорбции избыточно разросшейся фиброзной ткани и стимуляции регенеративных процессов в печени при применении дисперсного биоматериала «Аллоплант». Внедрение разработанных методов в клинику (464 больных) при непаразитарных и эхинококковых кистах и диффузных заболеваниях печени (хронический активный гепатит, цирроз печени) позволило улучшить ближайшие и отдаленные результаты лечения.

Ключевые слова: печень, регенерация, гепатит, цирроз, эхинококкоз, киста, диспергированный биоматериал «Аллоплант», аллотрансплантат для замещения объемных дефектов.

M.A. Nartaylakov, R.S. Mingazov, A.H. Mustafin,
D.R. Musharapov, V.P. Sokolov, I.I. Galimov

USING ALOGEN BIOMATERIALES IN SURGERY DIFFUSE , AND CYSTOUS DISEASES OF A LIVER

In article arc analysed possibility regeneration of liver under its diffuse and cysts disease by using alogen biomaterials to serieses "Alloplant". In experiment on 80 rabbits is proved efficiency plastic defect liver by allotransplantates for replace volume

defect, as well as mechanism resorbition surplus grewed fiber fabrics and stimulation of the regenerative processes in liver when using disperse biomaterial "Alloplant". Introduction the designed methods in clinic (464 sick) at nonparasitic and echinococcus cysts and diffuse disease liver (the chronic active hepatitis, cirrhosis liver) has allowed to perfect nearest and remote results of their treatment.

Keywords: liver, neogenesis, hepatitis, cirrhosis, echinococcosis, cyst, dispcrgated biomaterial "Alloplant", allotransplant for replacement of volumetric defects.

Ведущей проблемой современной хирургии является полноценное восстановление структуры и, соответственно, функции органов и тканей. Перспективным направлением развития хирургии является регенеративное направление, то есть разработка методов хирургической стимуляции регенерации. Это в полной мере относится как к диффузным заболеваниям печени (хронический гепатит, цирроз), морфологической основой которых является избыточное разрастание соединительной фиброзной ткани, так и к очаговым заболеваниям печени (кистозные и опухолевые поражения), хирургическое лечение (удаление патологического очага) которых завершается в послеоперационном периоде рубцеванием образовавшегося объемного дефекта. Несколько десятилетий ведущие исследователи и гепатологи посвятили изучению возможностей регенерации пораженной патологическим процессом печеночной ткани [1-3, 9-15].

Целью нашей работы явились разработка в эксперименте и внедрение в клинику методов хирургической стимуляции регенеративных процессов в печени при ее диффузных и очаговых поражениях путем применения аллогенных биоматериалов серии «Аллоплант».

Материалы и методы

В работе использованы аллогенные биоматериалы серии «Аллоплант», изготовленные во Всероссийском центре глазной и пластической хирургии согласно ТУ-42-2-537-87 и разрешенные к клиническому применению приказом МЗ СССР № 87901-87 от 22.07.87 г:

1. *Диспергированный биоматериал «Аллоплант» (ДБМА)* - стимулятор регенерации печени, мелкодисперсный порошок, изготовленный из соединительно-тканых образований путем диспергирования. Перед использованием порошок смешивается с физиологическим раствором и вводится с помощью безыгольного инъектора в паренхиму печени посегментарно.

2. *Аллотрансплантат для замещения объемных дефектов (АТЗОД)*, изготовленный из подкожной клетчатки подошвы, имеет выраженную соединительно-тканную строму, которая обеспечивает хорошие каркасные свойства и моделируемость. Трансплантат обезжирен, на месте жировых клеток ячейки

стромы не спадаются вследствие особенностей строения подошвенной клетчатки, что способствует сохранению конфигурации донорского органа или тканей.

Все аллогенные биоматериалы серии «Аллоплант» тестируются на вирусные гепатиты В и С, ВИЧ-инфекцию, проходят гамма-стерилизацию, срок хранения 5 лет.

Экспериментальная часть работы выполнена на 80 кроликах обоего пола породы шиншилла весом от 2,8 до 4,5 кг, в 4 сериях опытов. Характер экспериментов приведен в таблице 1.

Таблица 1

Объем экспериментальных вмешательств			
Серия опытов	Патологическая модель	Характер вмешательства	Количество опытов
1-я	Цирроз печени	Спонтанная регенерация печени	20
2-я	Цирроз печени	Стимуляция регенерации печени ДБМА	30
3-я	Моделирование объемного дефекта печени	Пластика дефекта печени прядью сальника	10
4-я	Моделирование объемного дефекта печени	Пластика дефекта печени АТЗОД	20

Животные содержались в виварии в одинаковых условиях. Подготовка животных к операции заключалась в отмене пищи и питья за 12 часов до опыта. Кроликов оперировали под барбитуровым наркозом: внутриплеврально вводили 5% раствор гексенала или тиопентала натрия в дозе 25-50 мг/кг. Анальгезию дополняли послойной инфильтрацией передней брюшной стенки и париетальной брюшины 50-80 мл 0,25% раствора новокаина.

Обработка операционного поля заключалась в выстригании волос по линии будущего разреза, двукратной обработке кожи 0,5% спиртовым раствором хлоргексидина биглюконата. Операционное поле обкладывали стерильными салфетками. Релапаротомии для повторных вмешательств выполняли с использованием предыдущих доступов, с полной анестезией описанными методами.

Экспериментальный цирроз печени инициировали подкожным введением четыреххлористого углерода на оливковом масле из расчета 0,2 мл на 1 кг массы кролика 2 раза в неделю в течение 3 месяцев [4]. В 1-й серии экспериментов после отмены провоцирующего агента выполняли лапаротомию и биопсию печени, после чего наблюдали спонтанную

регенерацию печени. Во 2-й серии при лапаротомии в паренхиму печени вводили 0,2-0,4 мл суспензии ДБМА.

Объемный дефект печени моделировали путем интрапеченочной имплантации стерильной бусинки диаметром 1,0 см, с последующим (через 30 суток) ее извлечением. К указанному сроку в паренхиме печени формировался объемный дефект, который замещали прядью сальника на ножке (3-я серия) или АТЗОД (4-я серия).

Забивку, вскрытие животных и забор материала для гистологического исследования производили в сроки: 1, 15, 30, 90, 180 и 360 сутки после операции.

После выведения животных из эксперимента забирали кусочки ткани печени из зоны операции. Для морфологического исследования кусочки ткани печени с трансплантатом фиксировали в 10% нейтральном формалине и заливали в парафин по общепринятой методике. Для обзорного изучения состояния паренхимы печени срезы окрашивались гематоксилином и эозином. Соединительную ткань исследовали с помощью трехцветной окраски по Маллори. Для выявления гликогена ставилась ШИК-реакция. Подсчет двухъядерных гепатоцитов и площади их ядер проводили на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. Процентное соотношение двухъядерных гепатоцитов считали на 2000 подсчитанных клеток. Для изучения ультраструктуры гепатоцитов материал фиксировали в 2% растворе глутарового альдегида на какодилатном буфере с последующей дофиксацией в 1% растворе осмиевой кислоты на том же буфере. Ультратонкие срезы готовились на ультратоме LKB толщиной 0,3-0,5 мкм, контрастировались уранил-ацетатом и уксуснокислым свинцом. Препараты изучались под электронным микроскопом JEM-7A [JEOL, Япония] при увеличении от 4000 до 30000 раз.

Клиническая часть работы содержит анализ результатов обследования и хирургического лечения 464 больных с диффузными и очаговыми заболеваниями печени (табл. 2), лечившихся в Республиканском центре хирургической гепатологии на базе Республиканской клинической больницы им. Г.Г. Куватова.

В ходе обследования больных использовались: ультразвуковое исследование (УЗИ), ультразвуковая доплерография (УЗДГ) сосудов печени и воротного бассейна, компьютерная томография (КТ), реогепатография, сканирование печени,

рентгенография, лапароскопия, биопсия.

Таблица 2

Диагноз	Всего больных	М/Ж	Возраст, лет			
			до 20	20-40	41-60	>60
1. Кистозные поражения печени:	240	143/97	31	76	91	42
непаразитарные кисты печени	76	55/21	7	28	24	17
эхинококкоз печени	164	88/76	24	48	67	25
2. Диффузные заболевания печени:	224	148/76	44	96	54	30
хронический активный гепатит	83	60/23	18	42	16	7
цирроз печени:	141	88/53	26	54	38	23
стадия компенсации	20	13/7	6	8	4	2
стадия субкомпенсации	85	54/31	24	34	18	19
стадия декомпенсации	36	21/15	6	12	16	2
Всего ...	464	291/173	75	172	145	72

Лапароскопию выполняли лапароскопом фирмы «Карл Цейс» (Германия). УЗИ производилось на аппарате Aloka-680 (Япония), с конвексными (3,5 мГц) и интраоперационными (7,5 мГц) датчиками. Ультразвуковое исследование сосудистых структур с количественной и качественной оценкой кровотока проводилось на аппарате Aloka SSD-2000 в режиме непрерывного и дуплексного сканирования.

В пред- и послеоперационном периодах функциональное состояние печени оценивали по уровню общего белка и белковых фракций, билирубина и его фракций, аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ), осадочных проб. При подозрении на эхинококкоз проводили реакцию Кассони. Для уточнения состояния кровообращения в печени проводили реогепатографию на аппарате 4РГ-1А. Для оценки иммунологических сдвигов в организме проводили количественное определение иммуноглобулинов в сыворотке крови методом радиальной иммунодиффузии по Манчини, количество компонента определяли по 50% гемолизу, титр антител к аллогенным биоматериалам определяли с помощью реакции пассивной гемагглютинации по Бойдену. Радиоизотопное сканирование выполнялось на установке «Scintiscart-MB-8100» фирмы «Гамма» (Венгрия) с использованием коллоидных растворов ^{131}I и ^{99}Tc . Функциональная активность печени оценивалась на основании анализа кривых радиогепатограмм. При этом определялись: клиренс крови, характеризующий степень освобождения кровеносного русла от радиоактивного препарата, накопление и выведение его печенью, что отражает ее поглотительную, желчеобразующую и антитоксическую функции. Компьютерную томографию проводили на томографе фирмы Siemens (Германия), тип Somatom CR.

В послеоперационном периоде для оценки функционального состояния и регенерации печени проводились: оценка лабораторных показателей, комплексное динамическое ультразвуковое исследование (УЗИ и УЗДГ), КТ, реогепаатография, сцинтиграфия, сканирование и биопсия печени.

Все больные были оперированы, показаниями к операции являлись непаразитарные солитарные кисты печени более 5 см в диаметре (48 больных), поликистоз печени с субтотальным поражением печени и сдавлением ее паренхимы (28 больных), эхинококкоз печени (164 больных); хронический активный гепатит (83) и цирроз печени (141), резистентные к консервативному лечению. При этом среди причин диффузных заболеваний печени превалировали вирусные гепатиты (гепатит В (HBV), 95 больных, гепатит С (HCV), 42 больных, микст-инфекция (HBV+HCV), 20 больных), реже - тромбозы воротной вены или ее ветвей (19 больных), эндофлебит печеночных вен (болезнь Бадда-Кияри - 17 больных), токсическое (16) и алкогольное (15) поражения печени. По тяжести поражения больные циррозом печени были распределены согласно классификации Чайлда-Туркотта: компенсированная стадия заболевания (класс «А»), стадии субкомпенсации (класс «В») и декомпенсации (класс «С»).

Результаты и их обсуждение

Результаты экспериментальных исследований.

В опытах с моделированием объемного дефекта печени в сроки до 15 суток гистологически в печени животных обеих (3- и 4-й) серий определялась воспалительная реакция вокруг пластического материала, хорошо выделялась фиброзная капсула дефекта печени. При оментопластике (3-я серия) в сальнике выявлялся застой венозной крови, а в прилегающей паренхиме наблюдались отек и расширение пространств Диссе. В препаратах 4-й серии опытов поверхность аллопластического материала была покрыта утолщенной глиссоновой оболочкой, фиброархитектоника АТ-ЗОД не изменялась, четко идентифицировались объемная и каркасная его части (рис. 1).



Рис. 1. Пластика объемного дефекта печени аллотрансплантатом (15 суток эксперимента)

1 – капсула смоделированного объемного дефекта,
2 – аллотрансплантат.

Отмечались фибриноидное набухание отдельных волокнистых структур и врастание соединительно-тканых тяжей из фиброзной капсулы как в паренхиму, так и в трансплантат.

В сроки до 30 суток макроскопически печень была обычного цвета, сальник (3-я серия) фиксирован к печени, аллопластический материал (4-я серия) несколько выступал над поверхностью, белесоватого цвета, без спаек. Морфологически в ткани печени, прилегающей к смоделированному дефекту, наблюдалась умеренная клеточная инфильтрация, в основном мононуклеарами, выявлялась гидропическая дистрофия гепатоцитов. Сальник - с признаками атрофии. Объемная часть «Аллопланта» частично рассасывалась, замещалась печеночной тканью, в которой преобладали двухъядерные гепатоциты.

В сроки до 90 суток гистологически в препаратах печени животных 3-й серии сальник был замещен рубцовой соединительной тканью. В препаратах животных 4-й серии опытов нарастали явления резорбции незамещенных участков трансплантата, особенно в его объемной части, вследствие чего усиливались инфильтрация и васкуляризация самого трансплантата и окружающей его соединительно-тканной капсулы. Клеточный инфильтрат состоял из фибробластов, большого количества макрофагов и нейтрофилов.

В сроки от 6 до 12 месяцев трансплантат почти полностью замещался частично печеночной, частично соединительной тканью (рис. 2). Сосудистая система прилежащей к трансплантату паренхимы (сосуды портального тракта, центральные вены и синусоиды) принимала участие в резорбции аллотрансплантата, который оказывал стимулирующее воздействие на регенерацию гепатоцитов.

Просветы сосудов портального тракта и особенно центральных вен были сильно расширены, вокруг них отмечалось интенсивное формирование синусоидов и печеночных балок. В просветах синусоидов выявлялись крупные купферовские клетки с черными гранулами в цитоплазме.

Структура и размеры гепатоцитов варьировали. Гепатоциты, оформленные в балки вокруг центральных вен и портального тракта, были более мелкие, с плотной зернистой цитоплазмой, часто двухъядерные, другие гепатоциты находились в состоянии регенерационной гипертрофии.

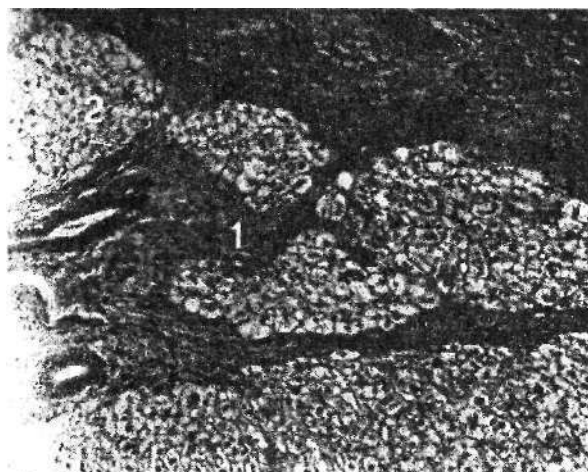


Рис. 2. Замещение аллотрансплантата печеночной и соединительной тканью (6 месяцев после эксперимента)
1 – соединительная ткань,
2 – регенераторная гепатома.

Электронно-микроскопическое изучение гепатоцитов, взятых из разных участков паренхимы, прилежащих к трансплантату, в сроки от 1 до 6 месяцев после операции показало, что одно- и двухъядерные гепатоциты в принципе имеют одинаковую ультраструктуру. Практически встречались 2 вида гепатоцитов. В ядрах одних хроматин был несколько разрежен и концентрировался в основном по ядерной мембране (состояние гиперфункции). Как правило, во всех ядрах определялось ядрышко, в цитоплазме – многочисленные митохондрии и связанные с ними каналы гранулярного эндоплазматического ретикула. Они располагались группами, что под световым микроскопом представлялось как зернистость цитоплазмы. Гиалоплазма была заполнена зернами гликогена. В некоторых гепатоцитах на билиарном полюсе определялись комплекс Гольджи и скопление лизосом. В других гепатоцитах ядра могли не содержать ядрышки, а цитоплазма казалась изреженной вследствие атрофии большинства органелл, главным образом групп митохондрий с эндоплазматическим ретикуломом, вся остальная

цитоплазма была заполнена гранулами гликогена. Такие гепатоциты чаще определялись в островках регенерации и по периферии долек.

Таким образом, морфологические исследования показали, что трансплантат после пересадки в печень частично замещается соединительной тканью и частично подвергается интенсивной резорбции. Продукты резорбции трансплантата оказывают стимулирующее влияние на регенерацию гепатоцитов, которое морфологически проявляется в регенерационной гиперплазии как на клеточном, так и на внутриклеточном уровне. Можно предположить, что вторичная дегенерация гепатоцитов происходит вследствие регенерационной гиперплазии их и протекает по типу особой формы компенсаторной адаптации ультраструктур клетки.

В опытах с экспериментальным циррозом печени в первые дни после введения диспергированный биоматериал «Аллоплант» (ДБМА) гистологически определялся в виде массы гомогенных частиц различной величины и формы, окрашенных по Маллори в синий и красный цвета, а по Ван Гизону – в интенсивно желтый цвет.

Через 15 дней вокруг биоматериала и между его частицами наблюдались вырастающие тяжи новообразованной соединительной ткани и кровеносных капилляров, а также интенсивная инфильтрация лейкоцитами и мононуклеарами. Воспалительная реакция со стороны прилежащей паренхимы была слабой, отмечались незначительный отек и инфильтрация лейкоцитами, а также признаки сосудистого стаза вокруг трансплантата и в портальном тракте.

Через 30 суток после стимуляции биоматериалом макроскопически у кроликов отмечено увеличение размеров печени и веса. Заметно нормализовались консистенция и цвет органа, края становились заостренными, исчезал асцит. Поверхность печени несколько сглаживалась и выглядела неравномерно мелкозернистой или даже гладкой. Микроскопически в паренхиме печени определялись участки с рядами пролиферирующих гепатоцитов; они отличались малыми размерами и имели хорошо окрашенное ядро и цитоплазму. Двухъядерные клетки наблюдались преимущественно вокруг портального тракта. Обнаруживались признаки обратного развития цирроза, которые выражались в истончении фиброзных прослоек между дольками и вокруг портального тракта и в нормализации структуры паренхимы. К этому сроку крупные частицы трансплантата почти полностью

рассасывались и замещались тяжами новообразованной соединительной ткани и регенерирующими гепатоцитами. В прилежащей к месту введения биоматериала зоне вокруг портального тракта и центральных вен начинали формироваться печеночные балки с рядами регенерирующих гепатоцитов, в том числе двухъядерных (рис. 3).

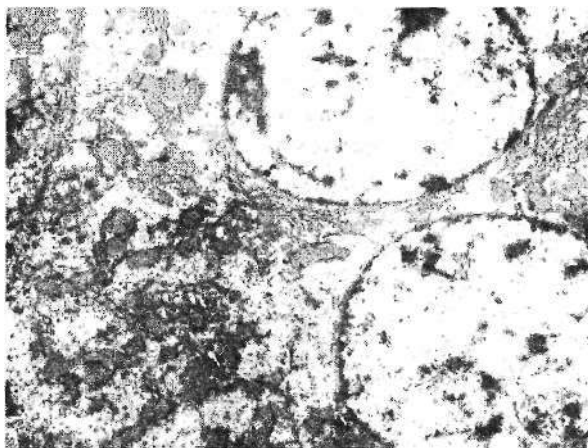


Рис. 3. Двухъядерный гепатоцит в зоне регенерации

Электронно-микроскопически в ядрах этих гепатоцитов отмечались признаки увеличения синтеза ДНК, в цитоплазме заметно увеличивалось количество органелл, особенно митохондрий и каналов гранулярного эндоплазматического ретикулума. Одновременно отмечались лизис коллагеновых волокон и резорбция их купферовскими клетками.

В последующие сроки наблюдения (до 90 суток) процессы нормализации структуры ткани печени становились более выраженными. Место введения биоматериала не определялось, так как его частицы полностью замещались рыхлой соединительной тканью, между тяжами которой было отмечено формирование "гепатом". Фиброзные прослойки между дольками истончались и исчезали, уменьшалась гистиоцитарная инфильтрация. Общая структура печени еще сохраняла атипичность, но при окраске по Маллори паренхима имела уже типичный для нормы сиренево-голубой цвет.

Через 6 месяцев после введения биоматериала "Аллоплант" макроскопически печень приобрела вишневый цвет и гладкую поверхность, края были слегка закруглены. Гистологически печеночная ткань в целом сохраняла некоторые признаки атипичности, особенно в месте введения биоматериала. Но вокруг портального тракта и центральных вен уже были сформированы типичные печеночные балки и определялась нормальная структура гепатоцитов.

К 12 месяцам после операции структура

печеночной ткани нормализовалась.

Обобщая результаты экспериментальных исследований, необходимо отметить, что введение ДБМА в цирротически измененную печень кролика вызывает слабовыраженную реакцию окружающих тканей, о чем свидетельствует инфильтрация частиц биоматериала небольшим количеством гранулоцитов и мононуклеаров, сопровождающаяся легким отеком ткани печени вокруг частиц. Мы считаем, что такая реакция паренхимы печени на введение ДБМА обусловлена его низкой антигенностью.

Низкая антигенность ДБМА, по-видимому, обуславливает активацию только первичного звена иммунитета - макрофагов, активность которых стимулируют растворимые факторы - протеогликаны и гликопротеины, которые в ранние сроки экстрагируются из частиц биоматериала, а в более поздние - образуются при его деструкции и лизисе. В этом аспекте ДБМА может рассматриваться как специфический иммуномодулятор.

Подсчет количества фагоцитирующих макрофагов показал, что уже в ранние сроки после введения ДБМА в паренхиму цирротически измененной печени число их возрастает более, чем в 5 раз. Известно, что при стимуляции макрофагов различными веществами они выделяют во внешнюю среду большой спектр монокинов - регуляторов активности других клеточных популяций, продуцируют колониестимулирующий фактор, регулирующий дифференцировку моноцитов из стволовых клеток, а также фактор роста макрофагов, стимулирующий пролиферацию промоноцитов и моноцитов в костном мозге. Под влиянием этих факторов происходит ауторегуляция активности системы мононуклеарных фагоцитов. Можно предполагать, что факторы, экстрагируемые из ДБМА и освобождающиеся при его деструкции, способствуют восстановлению местных ауторегуляторных механизмов за счет восстановления локальной активности системы мононуклеарных фагоцитов, которая была нарушена вследствие уменьшения популяции звездчатых ретикулоэндотелиоцитов (ЗРЭ) и ослабления их активности при циррозе.

Между ЗРЭ, фибробластами и липоцитами существует взаимодействие по типу обратной связи, когда избыточное коллагенообразование инициирует синтез коллагеназы и наоборот. Предполагается, что цирротическая перестройка печени является следствием нарушения баланса между синтезом и распадом коллагена, что преимущественно связано со

снижением коллагеназной активности в печени вследствие уменьшения популяции ЗРЭ и снижения их фагоцитарной активности. Известно, что в ответ на стимуляцию макрофаги секретируют коллагеназу, которая расщепляет преформированный коллаген, предотвращая тем самым его накопление в зоне воспаления.

Таким образом, сопоставляя известные факты и полученные нами результаты, можно полагать, что аллогенный диспергированный биоматериал «Аллоплант» обладает стимулирующим действием на систему мононуклеарных фагоцитов, результатом которого является восстановление популяции и фенотипа ЗРЭ в цирротически измененной печени кроликов. Об этом свидетельствует обратная корреляция между прогрессирующим увеличением количества фагоцитирующих макрофагов и деструкцией циррозной соединительной ткани в паренхиме печени в сроки до 90 суток после введения ДБМА. Гистологически в ранние сроки (до 15 суток) определялась дезорганизация волокон соединительной ткани в виде набухания и пикринофилии. Через 30 суток было выявлено выраженное истончение фиброзных прослоек. На ультраструктурном уровне в синусоидах и в перисинусоидальном пространстве на протяжении этого периода в разной степени выявлялись признаки фрагментации и лизиса коллагеновых волокон наряду с присутствием разрушенных фибробластов и макрофагов с увеличенным числом и размерами псевдоподий, содержащих в цитоплазме большое количество вторичных лизосом, множество вакуолей с различным содержанием. Особенности ультраструктуры макрофагов позволяют отнести их к активно фагоцитирующим.

Кроме того, нами выявлено, что после введения ДБМА в цирротически измененную печень кроликов процесс инволюции соединительной ткани сопровождается восстановлением структуры эндотелиальных клеток синусоидов с усилением трансэндотелиального обмена, подтверждающегося наличием большого количества пиноцитозных пузырьков в цитоплазме и появлением фенестр в отростках. Восстановление эндотелиальных клеток могло быть вызвано деструкцией и исчезновением коллагена в пространстве Диссе и в синусоидах и вследствие этого улучшением трофики эндотелиоцитов.

Наши исследования показали, что через 90 суток после введения ДБМА в цирротически измененную печень наблюдалось исчезновение соединительно-тканых тяжей между дольками, что коррелировало с уменьшением

количества фагоцитирующих макрофагов. Через 180 суток соединительная ткань между дольками и вокруг порталных трактов полностью подвергалась инволюции, а количество фагоцитирующих макрофагов в этот период приближалось к таковому у интактных кроликов.

Известно, что кроме коллагеназы, выделяемой ЗРЭ, в распаде коллагена в печени принимают также участие лизосомальные ферменты гепатоцитов и эндотелиоцитов, которые, высвобождаясь из них путем экзоцитоза, участвуют во внеклеточной деградации соединительной ткани [8].

Наряду с усилением активности макрофагов в цирротически измененной печени после введения ДБМА, нами уже в первые дни были обнаружены признаки усиления пролиферативной активности гепатоцитов в виде увеличения относительного количества двухъядерных клеток, которые составили 35% через 2 суток и неуклонно продолжали увеличиваться до 30 суток (63,7%). Кроме того, в ядрах многих гепатоцитов преобладал диффузный хроматин (эухроматизация) и гипертрофировались ядрышки, богатые гранулярным веществом, выявлялась фестончатость ядерной оболочки, то есть изменения, характерные для активно пролиферирующих клеток в период синтеза ДНК.

Гипертрофированные гепатоциты в первые дни обладали некоторыми особенностями; так, в их цитоплазме одновременно выявлялись и обрывки разрушенных структур, и гиперплазия эндоплазматической сети и митохондрий преимущественно вокруг ядра. Вероятно, здесь имеет место проявление внутриклеточной репаративной регенерации, когда происходят восстановление утраченной части органелл и возврат к исходной архитектонике в тех гепатоцитах, которые подверглись частичному разрушению.

Исходя из вышеизложенных фактов, можно полагать, что ДБМА или продукты его деградации кроме стимуляции макрофагов обладают активирующим действием и на пролиферацию гепатоцитов. Но более вероятной представляется гипотеза об опосредованной стимуляции пролиферации гепатоцитов через активированные макрофаги, от функциональной активности которых существенно зависит репаративная регенерация гепатоцитов. Кроме того, в регуляции структурного гомеостаза печени большое значение имеет активность лизосомальных протеаз ЗРЭ, под их действием могут меняться свойства рецепторов гепатоцитов. Об интенсивности замены гепатоци-

тов с признаками дистрофии клетками с нормальной структурой можно было судить также по тому, что уже через 14 суток после введения ДБМА в циррозную ткань печени восстанавливались тинкториальные свойства элементов паренхимы. Беспорядочно расположенные гепатоциты характеризовались малыми размерами и хорошо окрашиваемым ядром и цитоплазмой.

Некоторое снижение пролиферативной активности гепатоцитов в более поздние сроки после введения ДБМА можно объяснить достижением в печени определенного физиологического уровня количественного содержания гепатоцитов, которые уже могли нормально функционировать. Об этом свидетельствовали выявляющиеся признаки балочного расположения гепатоцитов, а на ультраструктурном уровне - появление между ними желчных канальцев с нормальным строением. По-видимому, в этот период восстанавливаются многие функциональные характеристики печени, что подтверждается макроскопически определяемым увеличением массы и размеров печени и нормализацией ее консистенции. У кроликов исчезали асцит и другие проявления печеночной недостаточности.

Многими исследователями [1, 11] доказано, что восстановление показателей функциональных проб печени при обратном развитии цирроза всегда опережает восстановление структуры. На этой стадии репаративный процесс часто как бы останавливается, поскольку регенерирующий орган достигает своей конечной цели - нормализации функции. Поэтому на фоне хороших функциональных показателей авторы наблюдали только частичное рассасывание соединительнотканых прослоек в паренхиме печени при обратном развитии цирроза.

Происходящее в более поздние сроки после введения ДБМЭ снижение количества пролиферирующих гепатоцитов можно объяснить также гетерогенностью состава клеток в пределах печеночной балки. В зоне, примыкающей к портальным трактам, преобладали пролиферирующие гепатоциты, а ближе к центральным венам обнаруживались гепатоциты с признаками дегенерации.

На наших препаратах указанная гетерогенность обнаруживалась в виде "темных" и "светлых" клеток. Гиперплазия митохондрий и рибосом, а также наличие свободнoleжащих в цитоплазме рибосом и полисом характеризуют активацию белково-синтетической функции и свойственны "темным" гепатоцитам - функционально активным клеткам.

Можно полагать, что в этот период именно "темные" гепатоциты обеспечивают необходимый уровень функциональной активности печени. Что касается гепатоцитов, располагающихся в зоне центральной вены, то их дегенерация, по-видимому, протекает по типу апоптоза. Об этом свидетельствуют обнаруженные нами на электронограммах и полутонких срезах типичные для апоптоза признаки в виде конденсации хроматина вдоль ядерной мембраны и уплотнения цитоплазмы с образованием апоптозных телец. Апоптоз (программированная гибель клеток) - интегральная часть цикла клеточного обновления и участия в поддержании стационарного состояния тканей - является физиологическим и происходит постоянно при нормальной регуляции жизнедеятельности клеток и тканей.

Приведенные данные позволяют заключить, что при введении в цирротически измененную печень ДБМА процесс регенерации гепатоцитов приобретает физиологические очертания, когда обновление популяции гепатоцитов происходит в результате их пролиферации, а завершение клеточного цикла - физиологическим явлением - апоптозом.

В конечные сроки наблюдения с момента введения ДБМА в печень отмечались признаки восстановления морфофункциональной целостности органа с дифференциацией всех составных элементов. Однако местами обнаруживались признаки некоторой атипичности паренхимы в виде двух центральных вен в дольке или их эксцентричного расположения, что объясняется, по-видимому, неполным восстановлением микрососудистого русла, которое подверглось существенной перестройке при циррозе. Однако ложные дольки полностью исчезали, равно как и фиброзные прослойки. Вокруг портальных трактов и центральных вен обнаруживались полностью сформированные печеночные балки с типичной структурой составляющих их гепатоцитов. Определялись четко выраженные синусоиды с нормальной структурой клеток, формирующих их стенки.

Количественный анализ средней площади ядер гепатоцитов выявил тенденцию к прогрессивному уменьшению этого показателя в цирротически измененной печени после введения ДБМА до уровня, наблюдаемого в интактной печени. Это может являться косвенным свидетельством уменьшения количества высокоплоидных гепатоцитов в паренхиме и установления естественного физиологического уровня плоидности или же приближенного к нему.

Результаты нашего исследования позволяют предположить, что причиной уменьшения уровня высокоплоидных гепатоцитов являются усиленная пролиферация низкоплоидных и ускорение смены поколений пролиферирующих гепатоцитов в результате апоптоза. Это дает основание утверждать о формировании "новой" паренхимы при полном или значительном исчезновении предшествующих поврежденных гепатоцитов.

Анализируя механизмы влияния ДБМА на регенерацию печени при ее циррозе, нельзя исключать и возможность прямого влияния ДБМА и продуктов его распада на пролиферацию и дифференциацию гепатоцитов. При введении ДБМА в цирротически измененную печень его коллагеновые волокна и тонкие коллагеновые волокна, образующиеся по мере его резорбции, могут служить матрицей для интенсивно делящихся гепатоцитов. Частицы диспергированного биоматериала «Аллоплант» можно рассматривать как аллогенный резорбируемый внеклеточный матрикс, так как в его составе содержатся коллаген, протеогликаны, гликопротеины и гликозаминогликаны.

Таким образом, введение аллогенного ДБМА в цирротически измененную паренхиму печени кроликов вызывает: 1) интенсивную регенерацию гепатоцитов, что приводит к восстановлению объема и структуры органа; 2) активацию и восстановление популяции макрофагов печени, что способствует обратному развитию цирроза с инволюцией соединительной ткани и нормализации структуры печени.

Результаты клинических исследований

При непаразитарных больших или множественных кистах, сдавливающих основные сосуды печени и нарушающих её функцию, производили хирургическое вмешательство - лазерную фенестрацию кист с ликвидацией секретирующей оболочки кисты лучом хирургического лазера (табл. 3).

Всего с применением разработанных нами методик пролечено 76 больных, в том числе 10 - пункционное лечение, 28 - иссечение кист, 29 - лазерная фенестрация с хорошими ближайшими и отдалёнными результатами.

Таблица 3

Хирургические вмешательства при непаразитарных кистах печени	
Виды операций	Количество операций
Иссечение кист	28
Лазерная фенестрация кист	29
Пункционное лечение кист	10
Резекция печени	9
ИТОГО ...	76

Как известно, Республика Башкортостан является эндемичным очагом по *паразитарным кистам* (эхинококкоз и альвеококкоз). В подавляющем числе случаев эхинококкоз поражает печень. При эхинококкозе печени выполняется операция - эхинококкэктомия, в ходе которой возникают сложности в ликвидации остаточной полости. Нами разработана собственная модификация этой операции, когда после удаления хитиновой оболочки фиброзную капсулу кисты обрабатываем лучом хирургического лазера с одновременным замещением остаточной полости биоматериалом АТЗОД. Это значительно уменьшает вероятность инфицирования остаточной полости, формирования длительно незаживающих желчных и гнойных свищей. При эхинококковых кистах больших размеров, занимающих одну из долей печени, выполняем ее атипичную резекцию в объеме гемигепатэктомии (табл. 4).

Таблица 4

Виды хирургических вмешательств при эхинококкозе печени	
Виды операций	Количество операций
Эхинококкэктомия закрытая	63
Эхинококкэктомия лазерная	69
Резекция печени	32
Итого ...	164

Нами за анализируемый период прооперировано 164 больных с эхинококкозом печени, в том числе 32 пациентам выполнена резекция пораженной части печени, 132 - эхинококкэктомия. При этом внедрение разработанных нами методик позволило снизить частоту послеоперационных осложнений с 19,2 до 9,3%.

Диффузные заболевания печени. Как известно, Республика Башкортостан (РБ) занимает одно из лидирующих положений в РФ по заболеваемости инфекционным вирусным гепатитом В. Ежегодно в России более 200 тыс. человек инфицируются вирусным гепатитом В, в РБ - более 1 тыс. При этом 85-95% заболевших вылечиваются, а у 5-15% болезнь переходит в хроническую форму - развиваются хронический активный гепатит и цирроз печени. Растет и число инфицированных гепатитом С, особенно среди наркоманов. Увеличивается число больных с алкогольным поражением печени, с токсическими гепатитами и циррозами, особенно среди работников нефтехимической промышленности.

Особенностью течения хронических гепатитов в большинстве случаев является их медленно прогрессирующее течение без явных клинических проявлений, с последующим формированием в печени грубого цирротического процесса или гепатоцеллюлярного

рака печени.

Консервативное лечение хронического активного гепатита (ХАГ) и цирроза печени, дорогостоящее длительное противовирусное лечение не всегда эффективно.

В нашей клинике в течение многих лет изучаются возможности хирургических методов лечения хронических гепатитов и циррозов печени (табл. 5) при различных степенях поражения печеночной паренхимы [4-8, 12].

Так, при хроническом активном гепатите и циррозе печени в стадии компенсации (класс «А» по Чайлду-Туркотту) производим денервацию печеночной артерии (ДПА), канюлирование воротной вены (КВВ), стимуляцию регенерации печени диспергированным биоматериалом серии «Аллоплант» (СРП ДБМА).

Таблица 5

Диффузные заболевания печени и характер лечебных мероприятий при них		
Виды болезней и операций		Количество
I	Острый вирусный гепатит, холестатическая форма	23
	Хронический активный гепатит	106
	Цирроз печени	185
II	Консервативное лечение	78
	Денервация печеночной артерии (ДПА), канюлирование воротной вены (КВВ)	32
	ДПА + КВВ + стимуляция регенерации печени (СРП ДБМА)	83
	КВВ + СРП ДБМА + портокавальное шунтирование	36
	ДПА + КВВ + СРП ДБМА + спленэктомия	85
ИТОГО		314

В раннем послеоперационном периоде проводили внутрипортальную терапию дезагрегантными и гепатотропными препаратами. По данной методике нами пролечено 83 больных с ХАГ и с формирующимся циррозом печени (компенсированная стадия), с хорошими клиническими результатами.

Более сложной проблемой является лечение патологического процесса в печени в стадии уже сформировавшегося цирроза, особенно при присоединении портальной гипертензии в системе воротной вены (классы «В» и «С» по Чайлду-Туркотту), которая проявляется асцитом, спленомегалией с гиперспленизмом, варикозным расширением вен (ВРВ) пищевода с кровотечениями из них. В таких случаях радикальное лечение возможно лишь путем трансплантации печени, однако в России выполняется не более 10 пересадок печени в год. Мы при данных стадиях цирроза печени выполняем комплексное хирургическое вмешательство, которое включает канюлирование воротной вены, стимуляцию регенерации печени диспергированным биоматериалом «Аллоплант», при спленомегалии с ги-

перспленизмом - спленэктомия с аутоотрансплантацией ткани селезенки, при портальной гипертензии - один из вариантов портокавального сосудистого шунтирования, чаще всего в виде спленоренального или мезентерико-кавального шунта. Всего за анализируемый период нами выполнено 224 операции со стимуляцией регенерации печени ДБМА при ХАГ и осложненных формах цирроза печени, в том числе с шунтирующим вмешательством - 36.

Результаты этих вмешательств были сопоставлены с ретроспективными данными лечения 250 больных с диффузными заболеваниями печени, которым в комплекс хирургического лечения не входила стимуляция регенерации печени ДБМА (табл. 6).

Анализ показал достоверное снижение послеоперационной летальности с 14,8 до 8,03%. Интегральный показатель восстановления функции печени в отдаленные сроки (от 6 месяцев до 7 лет), включающий результаты лабораторных исследований (в том числе печеночные пробы), до- и послеоперационной биопсии печени, УЗИ и УЗДГ, сканирования печени, демонстрировал восстановление функции печени до 75%, тогда как в группе сравнения этот показатель составил около 55%.

Таблица 6

Непосредственные результаты хирургического лечения диффузных заболеваний печени		
Показатели эффективности лечения	Контрольная группа (250 пациентов) (традиционные методы лечения)	Основная группа (224 пациента) (стимуляция регенерации печени «Аллоплантом»)
Послеоперационная летальность	37 (14,8%)	18 (8,03%)
Интегральный показатель восстановления функции печени в отдаленные сроки (6 месяцев - 7 лет)	137 (54,8%)	168 (75%)

Таким образом, включение в комплекс хирургического лечения ХАГ и цирроза печени разработанного нами метода посегментарного введения стимулятора регенерации печени «Аллоплант» способствует ускорению процессов резорбции фиброзной ткани и улучшению структуры и функции печеночной паренхимы.

Выводы

1. Применение диспергированного биоматериала «Аллоплант» в эксперименте при патологически измененной (цирротической) печени сопровождается резорбцией избыточной соединительной ткани и стимуляцией регенерации гепатоцитов за счет активации макрофагов печени, улучшения микро-

циркуляции и лимфообращения печени. Резорбция аллогенного коллагена макрофагами является пусковым механизмом начала резорбции фиброзной ткани в печени, что нормализует структуру органа.

2. Аллотрансплантат для замещения объемных дефектов является универсальным пластическим материалом при ликвидации объемных дефектов печени, обладает крово- и желчеостанавливающим эффектом, полноценно приживается и замещается в сроки до

12 месяцев функционально активным регенератором.

3. Включение в комплекс хирургического лечения больных с диффузными и кистозными заболеваниями печени аллогенных биоматериалов серии «Аллоплант» улучшает ближайшие и отдаленные результаты лечения, предотвращает рубцевание в печени и прогрессирование цирротического процесса, позволяет добиться медицинской и социальной реабилитации больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ахунджанов, Б.А. Хирургическое лечение цирроза печени с использованием стимуляторов регенерации / Б.А. Ахунджанов, В.А. Алимов, И.П. Ким. - Ташкент, 1991. - 109 с.
2. Блюгер, А.Ф. Репаративные процессы при некоторых заболеваниях печени / А.Ф. Блюгер, О.Я. Карташова // Успехи гепатологии. Под ред. Е.М. Тареева, А.Ф. Блюгера. - Рига, 1977: - Вып. VI. - с. 120-132.
3. Косых, А.А. Соединительная ткань печени в норме, при хроническом гепатите и циррозе в условиях регенерации: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - М., 1992. - 31 с.
4. Мингазов, Р.С. Внутривенная стимуляция регенерации в комплексе хирургического лечения больных с хроническими диффузными заболеваниями печени: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. - Уфа, 1998. - 31 с.
5. Муслимов, С.А. Морфологические аспекты регенеративной хирургии / С.А. Муслимов. - Уфа, 2000. - 168 с.
6. Мустафин, А.Х. Совершенствование хирургического лечения очаговых заболеваний и повреждений печени: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - Уфа, 2000. - 48 с.
7. Нартайлаков, М.А. Клинико-экспериментальное обоснование применения аллогенных трансплантатов и медицинских лазеров при хирургическом лечении больных с очаговыми заболеваниями и повреждениями печени: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - М., 1995, - 37 с.
8. Павлов, В.Н. Механизмы резорбции и влияние на регенерацию аллогенного коллагена в нормальной и патологически измененной печени: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - М., 1999. - 39 с.
9. Подымова, С.Д. Болезни печени / С.Д. Подымова. - М., 1993. - 544 с.
10. Пышкин, С.А. Возможности хирургического лечения хронических активных гепатитов и циррозов печени: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - Челябинск, 1986. - 35 с.
11. Саркисов, Д.С. Пути восстановления цирротически измененной печени / Д.С. Саркисов, Л.С. Рубецкой. - М., 1965. - 139 с.
12. Сафин, И.А. Диагностика и патогенетические принципы хирургического лечения хронических гепатитов и циррозов печени: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - Уфа, 1986. - 42 с.
13. Солопаев, Б.П. Регенерация печени с экспериментальным циррозом после четырехкратной резекции / Б.П. Солопаев, Н.А. Бобылева // Бюллетень экспер. биол. и мед. - 1980. - № 10. - С. 433-485.
14. Усов, Д.В. Хирургическое лечение цирроза печени стимуляцией репаративной регенерации: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. - Тюмень, 1978. - 41 с.
15. Chen, M.F. The regeneration of cirrhotic liver after partial hepatectomy: a study using the rat carbon tetrachloride-induced cirrhotic model / M.F. Chen, T.L. Hwang // Proct. Natl. Sci. Counc. Repub. China B. - 1994. - Vol. 18, № 2. - P. 71-75.