детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии

Шафранов В.В., Борхунова Е.Н., Таганов А.В., Торба А.И., Цыганов Д.И., Мазохин В.Н., Письменскова А.В.

ТЕОРИЯ И МЕХАНИЗМ ПОВРЕЖДЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИХ ТКАНЕЙ ПРИ ЛОКАЛЬНОМ ЗАМОРАЖИВАНИИ

۲

Российский государственный медицинский университет Росздрава, Москва

Shafranov V.V., Borhunova E.N., Taganov A.V., Torba A.I., Tsyganov D.I., Mazohin V.N., Pismenskova A.V. THEORY AND MECHANISM OF INJURY OF BIOLOGICAL TISSUES AT THE LOCAL FREEZING

Резюме

В статье представлены результаты исследований механизма первичного повреждения биологической ткани (на примере печени) после локальной криогенной деструкции. Показано, что первичное повреждение ткани связано с деформационными эффектами, возникающими в процессе замораживания-оттаивания; такое повреждение приводит к гибели сосудов микроциркуляторного русла. В дальнейшем развивается ишемический некроз ткани в области криовоздействия. Установлены причины ограничения возможностей криогенной деструкции тканей, а именно плотность структуры тканей и интенсивный метаболизм, определяющий высокий уровень теплопродукции и приводящий в итоге к термодинамическому равновесию.

Ключевые слова: локальная криодеструкция, теория, практика

За последние более чем 40 лет методы разрушения патологических образований с помощью низких температур (криодеструкция) нашли широкое применение в медицине, что способствует формированию нового направления, получившего название «криохирургия» [5].

Суть криодеструкции заключается в устранении патологического образования путем быстрого локального замораживания с помощью хладагента, наиболее удобным из которых является жидкий азот с температурой кипения –196 °С. Специальная криогенная аппаратура позволяет воздействовать на патологический очаг в режиме распыления или контактным способом с использованием криоадаптера со специально подобранным наконечником. Преимущества криохирур-

Abstract

The mechanism of primary damage to the biological tissue (using the liver samples) caused by a local cryogen ablation, have studied. As a result, it was demonstrated that the primary damage to the tissue is resultant from the initial effects of tissue deformation due to processes of freezing-defrosting which lead to collapse of the micro-circular vessels. The following ischemic changes result in the tissue necrosis.

However, it was shown that these effects of cryoablation may be very minimal depending on the tissue density and its metabolism which determine the thermodynamic stability in the tissue.

Key words: local cryodestruction, theory, practice

гических операций по сравнению с традиционными очевидны: простота исполнения и в то же время высокая точность, бескровность и безболезненность. После криодеструкции не наблюдается заметной общей реакции организма, а регенерация протекает быстро и часто имеет органотипический характер. Все это обусловливает высокую эффективность лечения [1, 9, 31].

Указанные факторы привели к расширенному применению метода криодеструкции в отечественных и зарубежных клиниках. И все же в области криохирургии существует целый ряд теоретических и практических проблем, тесно связанных с возможностями криогенного метода и рациональными показаниями к его применению. Несмотря на достигнутые успехи, возможности криогенного метода при лечении ряда за-

ЛЕЧЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ

детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии

болеваний не гарантируют полную гибель патологической ткани. В связи с этим предпринимаются попытки усилить разрушающее действие криодеструкции, а также повысить ее управляемость. Среди методов усиления криодеструкции наиболее распространено применение повторных циклов замораживания–оттаивания, введение в зону разрушения растворов лидокаина, адреналина, дистиллированной воды, создание предварительной ишемии, сочетание с ультразвуком [19, 20].

Существующие методы управления процессом криодеструкции сводятся к контролю температурного поля, оценке жизнеспособности методом дисперсии электропроводности, ультразвуковому мониторингу величины замороженной зоны, моделированию на желатиновом геле или использованию мощных криогенных систем в комплексе со сложными электронными приборами [29].

Таким образом, для достижения высокой эффективности криовоздействия проблема локального низкотемпературного разрушения тканей должна решаться комплексно. Однако до сих пор нет единого мнения в отношении механизмов повреждения биотканей при замораживании и оттаивании [5].

На наш взгляд, объяснение разрушающего действия низких температур только за счет вне- и внутриклеточной кристаллизации воды с последующей ее рекристаллизацией [10, 19, 20, 29, 30, 32, 33, 35–37] для криохирургии недостаточно, так как оно не учитывает структурные и метаболические особенности тканей. Биологические ткани являются плотной, упругой и энергетически насыщенной средой. Так, в 1 см³ находится 10¹²–10¹⁴ клеток, а 1 г массы тела человека выделяет в 10 000 раз больше тепла, чем 1 г солнца [6, 17], поэтому криоинструмент с контактным наконечником для организма является точечным источником холода даже при условии использования мощной по холодопроизводительности криогенной установки.

Для понимания механизма криодеструкции целесообразно представить физическую структуру тканей, которая, по мнению некоторых авторов [24], представляет собой жидкокристаллическую систему с высокой степенью упорядоченности и способностью к самовосстановлению в результате метаболических процессов. Жидкокристаллическое состояние биологических объектов весьма устойчиво – их «скелет» представлен связанной водой [26]. Нарушение этой структуры даже при сохранении архитектоники клетки может свидетельствовать о ее гибели, в том числе и при понижении температуры [7].

۲

В процессе криогенной деструкции связанная вода биологических тканей играет важную роль. При этом характер и температура ее кристаллизации отличаются от таковых у обычной, «чистой», воды [2, 4, 22, 29, 34].

۲

До сих пор не существует стройной концепции механизма первичного повреждения биологических тканей при криодеструкции. В настоящее время большинство криохирургов традиционно придерживаются теории Р. Mazur [35] о двухфазном механизме криодеструкции, согласно которой деструкция тканей обусловлена внутри- и внеклеточной кристаллизацией воды с последующей ее рекристаллизацией, за счет чего повреждаются клеточные мембраны и возникает сначала деструкция, а в дальнейшем некроз клетки. Однако эта теория была создана на основании изучения режимов криоконсервации суспензий клеток и не может быть полностью экстраполирована на ткань. Двухфазная теория криодеструкции клеток не учитывает ряд важных факторов: во-первых, теплофизических свойств ткани, в первую очередь связанных с процессами микроциркуляции и тканевым метаболизмом, во-вторых, состояния воды в ткани, в-третьих, расположения слоев ткани относительно криоаппликатора, в-четвертых, естественной криопротекции живой ткани, связанной со сложной системой внутритканевых и внутриорганных регуляторных взаимодействий.

Теория Р. Mazur не позволяет объяснить ряд практических факторов. Так, после криодеструкции происходит гибель патологической ткани в тех зонах, где по термодинамическим подсчетам деструкции не происходит. Поэтому на практике опухоли не переживают криовоздействия, а подвергаются деструкции и не метастазируют после криогенного лечения, тогда как теоретические расчеты зон замораживания, не учитывающие роль сосудистого фактора, показывают возможность такого осложнения. Этот факт объясняется гемодинамическими расстройствами, возникающими в процессе криодеструкции. В настоящее время общепризнанно, что вклад сосудистых нарушений в развитие крионекроза не уступает значению термического повреждения. Считают, что процесс криодеструкции ткани включает два этапа: первичное повреждение, связанное с непосредственной деструкцией клеток под влиянием низкой температуры, и вторичное повреждение, обусловленное гибелью патологической ткани в результате нарушения гемодинамики и в ходе асептического воспаления. Вместе с этим экспериментальные данные по количественному анализу роли сосудистых нарушений в развитии крионекроза немногочисленны [3, 8, 11, 21, 23, 25].

детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии

С другой стороны практика показывает, что при ряде заболеваний аппаратная криодеструкция не гарантирует полную гибель патологической ткани. Вызывает сомнение эффективность некоторых распространенных методик воздействия, а именно аппликаций и распыления жидкого азота, при которых скорость охлаждения ткани мала. Наши предшествующие исследования показывают, что ограничение возможностей криогенного метода обусловлено теплофизическими и структурными свойствами тканей [27].

К сожалению, практические врачи не всегда учитывают эти важнейшие факты, что зачастую приводит к необоснованному использованию криогенного лечения и, как следствие, неадекватной оценке его эффективности.

С учетом реальных возможностей метода криодеструкции очевидно, что перспективы дальнейшего развития криохирургии в первую очередь подразумевают решение вопроса об усилении криовоздействия с сохранением всех преимуществ низкотемпературного метода лечения. Наш опыт показывает, что среди многочисленных методов усиления криодеструкции наиболее эффективно сочетание предшествующего облучения СВЧ-полем с последующей аппаратной криодеструкцией [14, 16, 18, 28, 37].

Существующие способы управления процессом криодеструкции сводятся к контролю температурного поля, оценке жизнедеятельности ткани методом дисперсии теплопроводности, ультразвуковому мониторингу величины замороженной зоны, моделированию на желатиновом геле или же использованию мощных криогенных систем в комплексе со сложными электронными приборами.

Таким образом, в области криохирургии существует ряд вопросов, требующих ответа или детализации. Во-первых, механизм повреждения тканей при криовоздействии, во-вторых, факторы, ограничивающие объем крионекроза, в-третьих, эффективное усиление криодеструкции без утраты ее основных положительных свойств. Эти вопросы, на наш взгляд, должны решаться комплексно, поэтому в настоящей работе представлены результаты наших работ, проводимых в данном направлении с 1975 г. по настоящее время.

Цели работы – представить нашу концепцию о механизме деструкции и характере регенерации тканей после криодеструкции и комбинированного СВЧкриогенного воздействия в связи с особенностями теплофизических свойств тканей и на этом основании дать рекомендации для клинической практики.

Материал и методы

۲

Морфологические исследования проводили для выявления структурных изменений ткани, характеризующих механизм ее первичного повреждения. Объектом исследования служила ткань печени кроликов и белых крыс, которая стала моделью гемангиомы, будучи близка к ней по теплофизическим свойствам и структуре сосудистого русла. Структура сосудистого русла печени наиболее удобна для оценки изменений, происходящих и сосудах разных калибров и различного функционального назначения (пути притока и оттока крови, трофическое звено). При этом большой интерес представляют механизм первичного повреждения и связанные с ним закономерности дальнейшей регенерации поврежденной ткани.

Крысам и кроликам под кеталаровым наркозом проводили лапаротомию, в рану выводили долю печени. Животным 1-й группы осуществляли криодеструкцию аппаратом заливного типа конструкции РГМУ (температура наконечника – -160 °C, диаметр насадки – 8 мм, экспозиция – 1 мин). Животным 2-й группы проводили комбинированное СВЧ-криогенное воздействие (предварительное облучение полем СВЧ с помощью аппарата «Яхта» контактным способом при диаметре излучателя 25 мм и мощности 5 Вт, экспозиция – 1 мин, затем криодеструкция, экспозиция – 1 мин). Животных выводили из опыта через 1, 5 и 24 ч для изучения острых изменений, возникающих в ткани печени. Материал для гистологических исследований фиксировали в 10%-ном нейтральном растворе формалина, заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизону, орсеином, по Браше. Для электронно-микроскопических исследований фиксировали в 2,5%-ном растворе глютарового альдегида на 0,2 М какодилатном буфере. Для исследования методом сканирующей электронной микроскопии образцы промывали в дистиллированной воле, дегидратировали в растворах ацетона восходящих концентраций и высушивали методом перехода через критическую точку на приборе Hithachi. Высушенные образцы наклеивали на столики, напыляли медью и изучали с помощью микроскопа Philips SEM 515. Образцы ткани для исследования методом трансмиссионной электронной микроскопии после промывки дегидратировали в спиртах восходящих концентраций и окиси пропилена и заливали в эпон по общепринятой схеме. Ультратонкие срезы окрашивали уранилацетатом и цитратом свинца и исследовали на микроскопе Phillips.

ЛЕЧЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ

детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии

Определение теплопроводности тканей. Изучение теплофизических характеристик ткани проводили на специальном стенде в НИИ вакуумной техники им. С.А. Векшинского при консультативной помощи Д.И. Цыганова. Динамику образования льда в тканях изучали методом ЯМР-спектроскопии на кафедре биофизики МГУ им. М.В. Ломоносова при консультативной помощи Г.Н. Николаева.

Методика изучения реакции органного кровотока на криовоздействие

Эксперимент проводили на 12 кроликах породы шиншилла (масса – 2,8 кг). Его суть заключалась в определении транзита радиопрепарата ксенона (133Xe) через печень, что отражало состояние органного кровотока. Перед операцией кроликам в прямую кишку вводили радиоксенон (133Хе). Под тиопенталовым наркозом проводили лапаротомию, осуществляли доступ к печени и проводили криодеструкцию аппаратом заливного типа (диаметр наконечника – 25 мм, температура рабочей части - -160 °С, экспозиция -6 мин). Замораживанию подвергали около 20% объема органа. Транзит радиоксенона контролировали до криодеструкции, во время процедуры и после нее с помощью радиоиндикаторного комплекса «Gamma-H», состоящего из сцинтилляционной у-камеры (LFOV, Голландия), сопряженной с компьютером pdp 11/34 (ДВС, США).

на уровне микроциркуляторного русла и не вносит существенных изменений в гемодинамику органа. В дальнейшем оно не сопровождается болевым синдромом и заметной общей реакцией организма.

Очевидно, что криоинструмент для организма является точечным источником холода, криовоздействие на биоткани можно сравнить с погружением небольшого холодного предмета в объемную раскаленную ванну. Тепловое сопротивление тканей, обусловленное активацией метаболических процессов, быстро компенсирует снижение температуры перифокально от области воздействия. Важно подчеркнуть, что стабильность кровотока при действии низкой температуры указывает на стабильность метаболических процессов, что необходимо учитывать при расчетах тепловых взаимоотношений криоинструмента и ткани.

Результаты морфологических исследований

В контроле ткань печени крысы состоит из хорошо структурированных долек, в которых четко различимы печеночные балки. Последние состоят из гепатоцитов с эозинофнльной цитоплазмой, богатой митохондриями, с хорошо развитой эндоплазматической сетью и комплексом Гольджи, включениями гликогена и липофусцина и содержащей микротельца. Ядро клеток крупное, округлое, с хорошо различимым ядрышком. Печеночные балки ветвятся и сходятся около центральных вен. Просвет кровеносных капилляров пуст, сосу-

таотина транзитрадиопрепарата «Хе через печень кролика до и во время криовоздеиствия								
Период определения транзита ¹³³ Хе	Скорость транзита ¹³³ Хе, с			12	4.00	0		
	max	min	IVI	ΞO	ΞΠ	Ошиока		
До криовоздействия	32,0000	18,0000	24,7500	4,4747	1,2917	2,3199		
Во время криовоздействия	39,0000	13,0000	23,6667	6,9588	2,0088	3,7078		

۲

Результаты исследование и их обсуждение

Реакция органного кровотока на криовоздействие

Проведенные исследования показали, что время прохождения радиоксенона до криовоздействия и в конце процесса криодеструкции практически не отличается и составляет соответственно 24,7±1,3 и 23,6±2,0 с (*табл. 1*). Очевидно, что органный кровоток при криовоздействии не претерпевает заметных изменений. Полученные данные свидетельствуют о том, что действие низкой температуры носит строго локальный характер: это действие происходит ды выстланы уплощенными эндотелиоцитами, в стенках хорошо различимы клетки Купфера, пространства Диссе четко выражены. Просветы центральных и воротных вен пусты или умеренно кровенаполненны, в стенках сосудов четко различаются эндотелиальная выстилка, а также волокнистый каркас, включающий коллагеновые волокна и эластические мембраны. Портальные тракты хорошо выражены, артерия, вена, лимфатический сосуд и желчный проток окружены тонким слоем соединительной ткани.

Через 1 ч после криодеструкции было выявлено, что степень повреждения ткани в области воздей-

детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии



ствия зависит от глубины ее расположения относительно криоаппликатора. В очаге воздействия видны две зоны: поверхностная, распространяющаяся на глубину 1,5–2 мм и глубокая – шириной 3–4 мм.

В поверхностной зоне явления деструкции выражены максимально *(рис. 1)*. Глиссонова капсула разрушена, с кровоизлияниями, ее коллагеновые волокна разволокнены, отечны, эластические волокна фрагментированы *(рис. 1, 2А)*. В паренхиме выявлена деструкция сосудов всех калибров, при этом за счет разрушения крупных ветвей воротной вены (диаметр – до 500 мкм) формируются крупные разрывы печеночной ткани (*puc. 1*). Только в этой зоне отмечен непосредственный некроз гепатоцитов, который определяется на глубине около 300 мкм от поверхности органа. В гепатоцитах определяются разрушение мембран, отек цитоплазмы, явления кариорексиса.

В глубокой зоне выявляются деструкция сосудистых стенок и нарушение реологических свойств крови в форме тромбозов (*puc. 1*). Гепатоциты находятся в состоянии вакуольной и гиалиновокапельной дистрофии, отмечается отек цитоплазмы и органелл.

В данный срок уже видны эпизоды миграции единичных сегментоядерных нейтрофилов через стенки центральных и воротных вен в паренхиму, что свидетельствует о воспалительной реакции (*puc. 2Б*).



Рис. 2 Очаг криодеструкии печени. 1 ч: А) деструкция капсулы печени (показана стрелкой), подлежащая ткань отечна, гепатоциты в состоянии дистрофии и некроза; Б) стенка воротной вены с очагами деструкции и расслаивающими кровоизлияниями, видны пристеночное стояние лейкоцитов и эпизоды их миграции в окружающую ткань Окраска по методу Ван-Гизона, ок. 8, об. 40

Как видно, после криодеструкции основные изменения отмечаются в сосудистом русле печени (*puc. 2*), на состоянии различных морфологических и функциональных звеньев которого следует остановиться подробно, так как это имеет ключевое значение для понимания механизма первичного повреждения ткани.

Пути притока крови – ветви портальной вены (*рис. 3 А–В*). Крупные ветви воротной вены (*табл. 2*) резко расширены, что может быть связано с рефлекторной вазодилатацией после оттаивания. Стенки отечны, с очагами разрывов, доходящих до адвентициального слоя, и расслаивающими кровоизлияниями. Полно-

ЛЕЧЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ

РОССИЙСКИЙ ВЕСТНИК №1, 2011

детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии



•

чс. 3 Очаг криодеструкии печени. 1 ч.

Состояние после гемомикроциркуляторного русла: **A**) ветви воротной вены расширены, их просветы обтурированы смешанными тромбами. Окраска гематоксилином и эозином, ок. 8, об. 3,2; **Б**) обтурирующий тромб (показан двумя стрелками) в просвете воротной вены. Ее стенка (показана стрелкой) отечна и разволокнена. Сканоэлектронограмма, × 1010; **B**) очаг деструкции стенки воротной вены (показан стрелкой). Окраска гематоксилином и эозином, ок. 8, об. 40; **Г**) синусоиды в состоянии деструкции, контуры их стенок показаны стрелкой. Видны кровоизлияния. Окраска гематоксилином и эозином, ок. 8, об. 40; **С**) синусоиды в состоянии деструкции, контуры их стенок показаны стрелкой. Видны кровоизлияния. Окраска по методу Ван-Гизона, ок. 8, об. 40; **С**) среди гепатоцитов (Гц) видны отложения фибрина (ф), расположенные в синусоидах, а также лейкоциты. Сканоэлектронограмма, × 2020

слойных разрывов не выявлено. Коллагеновые волокна в стенках расположены разрозненно, с явлениями разволокнения фибрилл. Поперечная исчерченность коллагеновых волокон сохраняется. Это указывает на относительную сохранность коллагеновых структур сосудов после криовоздействия. Эндотелиоциты с явлениями вакуольной дистрофии и некроза. Просветы воротных вен обтурированы фибриновыми, красными и смешанными тромбами, характерными для коагуляционных воздействий и быстрого свертывания крови. Периваскулярно видны обширные кровоизлияния, распространяющиеся по синусоидным пространствам, которые более обширны в глубокой зоне. Просветы вен портальных трактов в поверхностной зоне с множественными очагами деструкции; наблюдается экстравазальное расположение форменных элементов крови и кровоизлияния. В глубокой зоне на этих сосудах отмечена очаговая деструкция стенок. В волокнистом остове сосудов определяются отек и разволокнение коллагеновых волокон, а также фрагментация эластических волокон. Просветы сосудов обтурированы фибриновыми или смешанными тромбами либо плазмой, вспененной пузырьками газа, что может быть связано с эффектом пучения [12, 15].

08.04.2011 11:47:22

детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии

Трофическое звено – синусоиды – полностью разрушены, их стенки разорваны, синусоидные пространства заполнены кровью и/или фибрином (*рис. 3 Г, Е*). В поверхностной зоне области воздействия отмечаются разрушение пространств Диссе, некроз эндотелиоцитов и клеток Купфера. В глубокой зоне в пространствах Диссе не определяются отростки гепатоцитов, наблюдается заполнение гомогенной электроноплотпросветов. Это свидетельствует о блокаде микроциркуляции в результате деструкции стенок сосудов и изменении реологических свойств крови. Кроме того, в ткани в области криодеструкции отмечается вспенивание плазмы и крови в сосудах и выход пузырьков газа в периваскулярные пространства. Эти изменения связаны, очевидно, с эффектом пучения в крови, который заключается в повышении растворимости газов в крови

Таблица 2 Характер изменений в сосудах различного диаметра в области криодеструкции

Тип сосуда	Диаметр сосуда, мкм	Характер изменений			
Вены портальных трактов – деструкция стенок, периваскулярный отек, кровоизлияния, тромбозы	40–50	Отек волокнистого каркаса и очаговая деструкция			
Центральные вены долек	40–80	Очаговая деструкция, отек коллагенового каркаса стенок, периваскулярные кровоизлияния, отек			
Синусоиды	5–7	Деструкция стенок, фибриновые тромбы, кровоизлияния			
Ветви воротной вены	от 240–400 до 720	Гиперемия, расширение просвета, отек и очаговая деструкция стенок, тромбозы, кровоизлияния			
В поверхностной зоне шириной 240–300 мкм полная деструкция сосудов всех калибров					

۲

()

ной субстанцией, что может быть связано с явлениями отека. Отмечаются разрушение эндотелиальных клеток и клеток Купфера и их слущивание в просвет сосудов. В некоторых синусоидах, расположенных вблизи портальных трактов, находятся пузырьки газа.

Пути оттока крови – центральные вены – в поверхностной зоне разрушены (*puc. 3Д*). В глубокой зоне просветы их сосудов резко расширены, стенки с очагами деструкции и отеком, однако волоконный остов стенок сохранен. Просветы вен могут быть пусты, полнокровны, содержать фибрин или плазму, вспененную многочисленными пузырьками газа. Наблюдаются периваскулярные отеки и кровоизлияния *per rexis* и *per diapedesin*, распространяющиеся по синусоидным пространствам.

Таким образом, ранние изменения в ткани печени после криовоздействия характеризуются следующими параметрами. В области, располагавшейся под криоаппликатором, возникают некротические и дистрофические изменения гепатоцитов, разрывы ткани печени с фрагментацией печеночных балок. В сосудистом русле наряду с деструкцией стенок сосудов в приносящем звене (ветви печеночной артерии, вороные вены) возникают стазы и тромбозы, а в выносящем звене (синусоиды, центральные вены) – стазы и запустевание при охлаждении ткани и последующем освобождении их при оттаивании (по типу кесонной болезни). Изменения клеток, по-видимому, носят неодинаковый характер. В поверхностной зоне происходит прямое разрушение всех клеток стромы и паренхимы, что связано с более выраженным замерзанием ткани под криоаппликатором. В глубокой зоне деструкция эндотелиоцитов и клеток Купфера, очевидно, связана с расположением их на границе двух сред: жидкой (кровь) и более плотной (стенки сосудов, а в случае синусоидов – пространство Диссе). Дистрофические изменения гепатоцитов носят, по всей вероятности, вторичный характер и связаны с трофическими расстройствами.

Лишь через 24 ч в области криовоздействия на фоне блокады кровотока развивается тотальный некроз гепатоцитов в области воздействия и происходит четкая демаркация детрита (*puc. 4*). Очевидно, что некроз клеток во всем объеме криоповреждения имеет ишемический, вторичный, характер. Это противоречит данным [32, 34–36], согласно которым ткани повреждаются вследствие внутри- и внеклеточной кристаллизации, приводящей к первичному разрушению клеточных структур.

Полученные данные убедительно показывают, что при криодеструкции механически повреждают-

детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии



ЛЕЧЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ

Рис. 4 Очаг криодеструкии печени через 24 ч В структуре очага крионекроза видны зоны детрита (показана одной стрелкой) и демаркации (показана двумя стрелками). В окружающей ткани печени выражен отек, наблюдаются явления некробиоза гепатоцитов и тромбозы кровеносных сосудов (а). Окраска гематоксилином и эозином, ок. 8, об. 3,2

ся все элементы ткани, расположенные под криоаппликатором, в том числе сосудистые стенки, и нарушаются реологические свойства крови. Это связано с развивающимися в ткани при локальном охлаждении напряжениями (по некоторым данным, до 30 кг/см²), которые лежат в основе эффектов пучения и смещения, а также в какой-то степени с повреждениями элементов ткани кристаллами льда. Поскольку мишенью для криодеструкции является вода и наибольшее ее количество сосредоточено в сосудах, то наибольшему разрушению подвергается именно сосудистое русло ткани.

Механические повреждения состоят в следующем.

- 1. Деструкция сосудов:
- а) полное разрушение синусоидов и части центральных и портальных вен в поверхностных слоях очага крионекроза;
- б) очаговая деструкция стенок крупных ветвей воротной вены, портальных и центральных вен в поверхностных и глубоких слоях очага крионекроза.

2. Прямое повреждение и некроз клеток, расположенных на глубине около 300 мкм от криоаппликатора.

Наряду с механическими повреждениями при криодеструкции возникают изменения реологических свойств крови, характерные для коагуляционного воздействия, в частности охлаждения: стазы, тромбозы, выпадение обширных отложений фибрина.

Кроме того, после замораживания—оттаивания возникают рефлекторные реакции со стороны сосудистого русла, выражающиеся в длительной вазодилатации.

Деструкция сосудов и нарушение реологических свойств крови приводят к блокаде кровотока в очаге криовоздействия, формированию очага ишемии и развитию воспалительной реакции. Тотальный некроз гепатоцитов в области воздействия, а также некротические изменения сосудистых стенок развиваются в течение 24 ч после криодеструкции. Следовательно, некроз большинства клеток в области криодеструкции развивается вторично, по причине ишемии. Лишь часть клеток на глубине около 300 мкм гибнет под криоаппликатором непосредственно в результате прямого повреждения.

Таким образом, после криодеструкции в ткани печени происходят следующие изменения:

1) первичные:

•

- а) деструкция стенок сосудов микроциркуляторного русла;
- б) изменение реологических свойств крови;
- в) некроз гепатоцитов в области контакта с криоаппликатором;
- 2) вторичные:
- а) развитие ишемического некроза ткани;
- б) воспалительная реакция.

Результаты изучения теплофизических характеристик тканей

Ткани обладают достаточно низкой теплопроводностью в среднем (0,38 ккал × м/ч/°С), что является естественным ограничением возможностей криогенного метода. Именно поэтому в последние годы важнейшими для криохирургии являются вопросы о зависимости деструкции ткани от количества образовавшегося льда и теплофизических характеристиках тканей до и после замораживания. В 1980-е гг. на кафедре детской хирургии РГМУ были проведены исследования коэффициента теплопроводности – λ , Вт/ (м × K), отражающего в данном случае влагосодержание объекта – нормальных тканей (печень, кожа, жировая ткань), патологических тканей (гемангиом, меланом, келоидов, десмоидов) и геля желатина (модельный объект) до, во время и после заморажива-

детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии



ния, а также динамики льдообразования в тканях при охлаждении. Исследования проводили в диапазоне температур от +25 °C до -25°C, так как наибольшая интенсивность фазового перехода вода-лед наблюдается при температуре выше -25°C.

При изучении λ указанных объектов было установлено, что в процессе охлаждения, когда температура находится в положительном диапазоне, λ изменяется линейно, уменьшаясь по мере снижении температуры. В области отрицательных температур, начиная от температуры кристаллизации, λ резко возрастает за счет перехода свободной воды в лед, теплопроводность которого в 4 раза выше, чем у воды. По мере понижения температуры происходит более плавное повышение λ не при фиксированной температуре (как у воды), а в непрерывном спектре температур замерзания.

Уменьшение роста λ отмечено при температуре –20 °C и ниже при высокой скорости замораживании. Этот феномен авторы объясняют разрушением структуры ткани, причем образуются микро- и макротрещины. Это вызывает повышение контактного теплового сопротивления в цепи лед–вода–организм и уменьшение теплопроводности. Более того, в диапазоне от –20 до –180 °C установлено некоторое снижение теплопроводности тканей гемангиом и меланом.

Изучение теплопроводности различных тканей показало, что у изученных тканей она близка, причем данный показатель наиболее сходен у гемангиом и печени. λ максимальна в ткани гемангиом – 1,6 Вт/(м × K) и печени – 1,4 Вт/(м × K), минимальна в жировой ткани – 0,4 Вт/(м × K) и коже – 0,5 Вт/(м × K). Было установлено, что λ (а следовательно, чувствительность ткани к криовоздействию) зависит от пехотного влагосодержания ткани. Кроме того, было выявлено увеличение λ на 10% после повторных циклов замораживания–оттаивании, что авторы связывают с освобождением части связанной воды в результате деструкции ткани.

۲

Оценка динамики льдообразования методом ЯМР показала, что количество образовавшегося льда зависит от содержания в ткани свободной воды: так, в наиболее влагонасыщенной ткани гемангиомы (76% свободной воды) в лед переходит более 60% воды. Показано, что величину размера зоны замораживания в первую очередь определяют степень развития сосудистого русла и физическая структура ткани.

В дальнейшем было проведено математическое моделирование процесса криовоздействия с учетом деталей взаимодействия криоинструмент-ткань, позволяющего выбрать практическому врачу оптимальный режим криовоздействия [27, 29].

При анализе физических основ процесса локального замораживания целесообразно подразделять воду, содержащуюся в ткани и составляющую 90% ее массы, на три условных типа: свободную (превращается в лед при температуре от 0 до -15 °C), слабосвязанную (превращается в лед в диапазоне отрицательных температур от -15 °C) и прочно связанную, незамерзающую воду. Изучение ряда биологических объектов показало, что связанная вода остается незамерзшей при температуре -80-90 °C и незамерзающая вода не переходит в лед даже при температуре жидкого гелия (-200 °C).

Именно физическая структура ткани, в частности структура содержащейся в ней воды, а также степень развития микроциркуляторного русла на 60% определяют величину объема замораживания [27, 29]. Стабильность органного и общего кровотока при криодеструкции свидетельствует о том, что организм «не замечает» этого воздействия. В то же время локально на тканевом уровне происходит изменение микроциркуляторных процессов и местного метаболизма.

Основными факторами, определяющими эффективность криовоздействия, являются скорость охлаждения и теплопроводность тканей. Важно отметить, что скорость быстро падает в слоях ткани,

۲

детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии



ЛЕЧЕНИЕ ОПУХОЛЕЙ

термодинамического равновесия

расположенных глубоко относительно криоаппликатора. При криодеструкции в ткани в течение короткого времени происходит движение ледяного фронта. На границе и внутри последнего возникают деформационные процессы (пучение, смещение, образование трещин). Затем ледяной фронт останавливается, что соответствует прекращению увеличения зоны охлаждения. Для клинициста это означает бессмысленность дальнейшего низкотемпературного воздействия на патологическое образование.

Криодеструкция тканей имеет черты стохастического процесса, и его математические модели всегда приблизительны. Несмотря на это, с помощью метода электроаналогий были получены конфигурации предельных зон замораживания [27, 29].

На основании анализа температурных кривых, представленных в литературе, нам удалось построить усредненную кривую температуры замораживания в зависимости от времени криовоздействия (*рис. 6*). Согласно полученным данным, параметры режима криовоздействия расположены внутри площади, ограниченной подъемом кривой и началом плато. Если используется мощный криоаппарат, то кривая пойдет более круто, но выявленная зависимость не изменится. Расчетное время криодеструкции составляет около 20 мин, реальное – около 15 мин. Далее наступает термодинамическое равновесие, и последующее криогенное воздействие не приводит к увеличению зоны замораживания и не имеет смысла.

При измерении градиента температур в тканях при криодеструкции установлено, что на поверхности температура составляет –160 °C, а через 7–8 мин воздействия на глубине 1,0–1,5 см регистрируется всего 0°C, что свидетельствует о термодинамическом равновесии и остановке роста зоны замораживания.

При этом можно отметить, что ткани сами как бы «программируют», ограничивают величину зоны замораживания, что имеет место даже при применении криоаппаратов с большой холодопроизводительностью. В связи с этим исчезает иллюзия возможности программного замораживания тканей, а также об оптимальности использования в клинике крупных криосистем. В этом нет необходимости, так как на практике небольшие криоаппараты, к тому же более простые для использования и более дешевые, оказываются не менее эффективными [28].

Очевидно, что с помощью криогенного воздействия независимо от типа применяемого криоаппарата практически невозможно разрушить большой объем ткани. С этим связано то, что криохирургические методы широко применяют главным образом для лечения поверхностных образований кожи и слизистых оболочек, где объем разрушения невелик, область доступна для визуального наблюдения и не требуется сложных методов контроля.

Список литературы

1. *Борхунова Е.Н.* Особенности репаративной регенерации тканей после криодеструкции, СВЧ-криодеструкции и СВЧ-деструкции: Дис. ... д-р биол. наук. – М., 2004. – 328 с.

۲

- 2. Габуда С.П., Ржавин А.Ф. ЯМР в кристаллогидратах и гидратированных белках. Новосибирск, 1978. 160 с.
- 3. Габуда С.П. Связанная вода. Факты и гипотезы. Новосибирск, 1982. С. 159.
- 4. *Дерпгольц В.Ф.* Мир воды. Л., 1979. С. 254.
- 5. Жмакин А.И. Физические основы криобиологии // Успехи физических наук. 2008. Т. 178, № 3. С. 243-261.
- 6. Иванов К.П. Биоэнергетика и температурный гомеостазис. Л., 1972.
- 7. Колотилов Н.Н. Механизм криоповреждения и криопротекции биологических структур. Киев, 1976. С. 130–131.

۲

8. Кондрашин Н.И., Сапелкина И.М. // Вопросы онкологии. 1959. Т. 5, № 1. С. 83-89.

детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии

9. Шафранов В.В., Борхунова Е.Н., Таганов А.В. и др. Концепция первичного повреждения биотканей при локальном криовоздействии // Альманах клин. мед. 2008. Т. 17, Ч. 2. С. 289–292.

۲

- 10. *Лозина И.Л., Лозинский Л.И*. Очерки по криобиологии. Адаптация и устойчивость организмов и клеток к низким и сверхнизким температурам. Л., 1972.
- 11. Мадиевский Ю.М. Структура внутриклеточной воды и ее роль в неспецифических реакциях тканей на внешнее воздействие. Томск, 1973.
- 12. Меламед В.Г. Количественные исследования тепло и массообмена в горных породах при протекании в них фазовых переходов. М., 1976.
- 13. Борхунова Е.Н., Шафранов В.В., Таганов А.В. Механизм повреждения и особенности репарации при низкотемпературной деструкции // 15-й Межд. конгр. по криомед. СПб., 2009. С. 79–80.
- 14. Шафранов В.В., Слесаренко Н.А., Борхунова Е.Н. и др. Морфология первичного повреждения тканей при криогенном, СВЧ-криогенном и СВЧ-воздействии // Криомедицина. Современные методы. М., 2007. С. 20.
- 15. *Ноздрункова И.Р.* Механо-химические процессы, происходящие в мясе при температурах, близких к криоскопическим. Л., 1966.
- 16. *Борхунова Е.Н., Шафранов В.В., Таганов А.В. и др.* Особенности регенерации кожи после криогенной, СВЧ-криодеструкции и СВЧ-деструкции // Рос. вет. журн. сельскохоз. животн. 2008. № 3. С. 30–38.
- 17. Певзнер Л. Основы биоэнергетики / Пер. с англ. М., 1977. С. 100–112, 224–236.
- Шафранов В.В., Борхунова Е.Н., Хрисанов П.В. и др. Первичное повреждение биологических систем при локальной криодеструкции // Сб. «Возраст красоте не помеха», посвященный 70-летию Ин-та пласт. хир. и косметол. – М., 2007. С. 71–80.
- 19. Пушкарь Н.С. Актуальные проблемы криобиологии. Киев, 1981.
- 20. Пушкарь Н.С., Белоус А.М. Введение в криобиологию. Киев, 1975.
- 21. Розенталь О.М., Четин Ф.Е. Многослойное структурное упорядочивание в гетерогенных процессах льдообразования. – Свердловск, 1974.
- 22. Самойлов О.Я. Структура водных растворов электролитов и гидратация ионов. М., 1957.
- 23. Слета И.В. Начальные изменения микроциркуляции печени крыс после локальных криовоздействий // Криобиология. 1986. № 2. С. 48.
- 24. Усольцева Н.В., Усольцева В.А. Жидкокристаллическое состояние и метаболизм // Природа. 1980. С. 56-62.
- 25. Чернух А.Н. Микроциркуляция. М., 1975.
- 26. Чистяков И.Г., Селезнев С.А. Биологическая роль литропных жидких кристаллов // Природа. 1977. № 9. С. 38–45.
- 27. Шафранов В.В. Некоторые проблемы и перспективы использования низких температур в детской хирургии // Вестник АМН. 1984. № 9. С. 12–19.
- 28. Шафранов В.В., Короткий Н.Г. Возможности использований метода СВЧ-криодеструкции в дермокосметологии для лечения келоидных рубцов // Детская хирургия. 2000. № 1. С. 35–37.
- 29. Эйзенберг Д., Кауцман В. Структура и свойства воды / Пер. с англ. Л., 1975.
- 30. Bald W., Fraser G. Cryogenic surgeries // Rep. Prog. Phys. 1982. Vol. 45. № 6. P. 1381–1433.
- 31. Shafranov V.V., Kalmykova Z.V., Borkhunova E.N. et al. Conception of primary damage of biological tissue by cryodestruction // Low. temperat. medicine. 2007. Vol. 33 № 2, 3. P. 36.
- 32. *Fiocchi M.* Validation of Freezing Protocol Understanding of Physical mechanisms // Abstracts of 30th annual Meeting of the Society for Cryobiology. France, Marseill, 1999. P. 15.
- 33. Gage A. Cryosurgery. Paris, 1995. P. 142.
- 34. Mazur P. Cryobiology: the freezing of biogical system // Science. 1970. Vol. 168. P. 939-949.
- 35. Mazur P. Physical-chemical factors underlying cell injury in cryosurgical freezing // Cryosurgery. NY: Rand Ret, 1968. P. 32-35.
- Mazur P. The role of intracellular freezing in the death of cells cooled at supraoptimal rates // Cryobiology. 1977. Vol. 14. № 3. P. 251–272.
- Shafranov V.V., Borkhunova E.N. Comparative appreciation of treatment of angiomas by cryogenic, MWI-cryogenic and MVI methods // Cryomedicine Update. (Tokyo, Japan). 2006. P. 151–153.
- 38. *van Venrjy G*. Freeze-Etching: Freezing velocity and Cristal size at different size locations in Samples // Cryobiology. 1975. Vol. 12, № 1. P. 46–61.