

На правах рукописи

Орлов Александр Викторович

**КРИОХИРУРГИЧЕСКОЕ ЛЕЧЕНИЕ ХРОНИЧЕСКИХ ГЕПАТИТОВ И
ЦИРРОЗОВ ПЕЧЕНИ**

14.00.27 – ХИРУРГИЯ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

ТОМСК - 2004

Работа выполнена в ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России

Научный руководитель:

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор

Альперович Борис Ильич

Официальные оппоненты:

Заслуженный деятель науки РФ,
доктор медицинских наук, профессор

Жерлов Георгий Кириллович

кандидат медицинских наук

Митасов Валерий Яковлевич

Ведущая организация: ГОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия Минздрава России

Защита диссертации состоится « _____ » _____ 2004 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при Сибирском государственном медицинском университете (634050, г.Томск, Московский тракт, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в научно – медицинской библиотеке Сибирского государственного медицинского университета (634050, г.Томск, пр. Ленина, 107).

Автореферат разослан « _____ » _____ 2004 года.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Суханова Г. А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

АКТУАЛЬНОСТЬ. Цирроз печени – хроническое полиэтиологическое прогрессирующее заболевание, протекающее с поражением паренхиматозной и интерстициальной ткани органа с некрозом и дистрофией печеночных клеток, узловой регенерацией и диффузным разрастанием соединительной ткани, нарушением архитектоники органа и развитием той или иной степени недостаточности функции печени. В экономически развитых странах цирроз печени входит в число шести основных причин смертности в возрасте 35 – 60 лет и составляет от 14 до 30 случаев на 100000 населения [Садовникова И. И., 2003]. В настоящее время этиотропная терапия для большинства форм цирроза печени отсутствует. Закономерным исходом этого является неблагоприятный прогноз развития заболевания. Длительность жизни свыше 5 лет с момента установления диагноза отмечается у 60% больных алкогольным циррозом печени, у больных вирусным циррозом – 30% (при компенсированном HCV-циррозе в течение 5 лет трансформация в декомпенсированный регистрируется у 18% больных, малигнизация — у 7%, всего выживает 91%). При декомпенсированном циррозе к 5-летнему сроку выживает 50% больных.

Хирургические методы лечения хронических диффузных заболеваний печени по большей частью относятся к циррозам печени. Причина этому достаточно очевидна. Конечная стадия некротически – пролиферативных процессов в печени, коей является цирроз, характеризуется многообразием клинической симптоматики и развитием патологических изменений практически во всех внутренних органах. Традиционной областью использования хирургических методов лечения цирроза печени является борьба с его осложнениями (проявлениями) – асцитом, портальной гипертензией, гастроинтестинальными кровотечениями, пищеводно – желудочным варикозом. Основным недостатком большинства применяемых операций является их паллиативный характер, а учитывая то, что выполнение их зачастую сложно и травматично, нередко связано со смертельными осложнениями, а продолжительность послеоперационной ремиссии невелика, то становится очевидной необходимость поиска принципиально новых хирургических технологий.

К этому классу относятся операции, направленные на стимуляцию регенерации печени: перевязка желчных протоков, перевязка ветвей воротной вены, перевязка или эмболизация ветвей печеночной артерии, резекция печени, лазерная коагуляция, термокоагуляция печени. Некоторые из этих операций так и не вышли за пределы теоретических исследований (перевязка желчных протоков, ветвей воротной вены), влияние других на регенерацию печени достаточно спорно (перевязка или эмболизация ветвей печеночной артерии). Наибольший интерес представляют резекция печени [Пышкин С. А., 1986], термокоагуляция печени [Усов Д. В., 1969, 1981, Цирятьева С. Б., 2002, 2003], лазерная коагуляция печени [Мартынов А. Ю., 1979, Шестирко Л. И., 1988]. Резекция печени является достаточно эффективной, но в то же время и достаточно травматичной операцией, нередко сопровождающейся как интра-, так и послеоперационными осложнениями. Это в полной мере можно отнести и к термокоагуляции печени (нежелательные проявления электроожога общеизвестны). Более безопасной, но в то же время и менее эффективной является лазерная коагуляция печени. Стоит отметить, что в настоящее время разрабатывается принципиально новый класс операций, направленных на стимуляцию регенераторных процессов – имплантация аллогенных биоматериалов в печень [Нартайлаков М. А. с соав., 2003]. Однако литературные данные, посвященные этому методу, еще достаточно скудны для того, чтобы дать ему какую-либо оценку. Учитывая это, актуальным представляется поиск и применение нового и эффективного способа лечения хронических диффузных заболеваний печени.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить возможность применения криодеструкции печени в эксперименте и клинике для лечения хронического гепатита и цирроза печени.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Смоделировать в эксперименте на животных хронический гепатит и цирроз печени.

2. Разработать методику криодеструкции печени для лечения хронического гепатита и цирроза печени в эксперименте и клинике.
3. Проследить и оценить гистологические изменения в печени после выполнения криодеструкции в различные сроки с использованием количественных морфологических критериев.
4. Оценить безопасность методики в плане развития осложнений.
5. Применить в клинических условиях метод локальной гипотермии печени для стимуляции восстановительных процессов в цирротически измененном органе.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА

- Впервые разработана экспериментальная методика криодеструкции печени для лечения ее хронических диффузных заболеваний.
- Установлено стимулирующее влияние криодеструкции на процессы регенерации цирротически измененной печени.
- Впервые достоверно морфологически доказана эффективность криодеструкции печени в лечении хронического гепатита и цирроза печени
- Получено положительное решение о выдаче патента на изобретение Российской Федерации № 2003100573/14(000347) от 08.01.2003 «Способ лечения хронического гепатита и цирроза печени».

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ

Оценка полученных экспериментальных данных показывает высокую эффективность метода криодеструкции на процессы обратного развития цирроза печени. Доказана безопасность методики в плане развития интра-, послеоперационных осложнений и летальности. Учитывая патогенетическую обоснованность, эффективность, техническую простоту выполнения и безопасность методики представляется целесообразным более широкое ее внедрение в практическую медицину. Применение криодеструкции в начальной стадии цирроза печени способствует увеличению продолжительности и качества жизни больных за счет снижения частоты развития осложнений заболевания.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ

1. Криодеструкция является эффективным патогенетически обоснованным методом лечения хронического гепатита и цирроза печени.
2. Криодеструкция цирротически измененной печени оказывает положительное влияние на нормализацию гистологической структуры органа.
3. Криодеструкция цирротически измененной печени оказывает регрессирующее влияние на процессы фибротической перестройки органа.
4. Криодеструкция печени является простой в техническом исполнении операцией, безопасной в плане развития интра-, послеоперационных осложнений и летальности.

ВНЕДРЕНИЕ. Результаты исследования внедрены в практику работы Томского Гепатологического центра Минздрава России, первого хирургического отделения муниципального клинического лечебно – профилактического медицинского учреждения «Городская больница №3» г. Томска.

ПУБЛИКАЦИИ. По результатам исследования опубликовано 7 печатных работ, в том числе 1 – в центральной печати.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА РАБОТЫ. Диссертация изложена на 136 листах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, 3 глав собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя литературы. Диссертация иллюстрирована 2 таблицами, 41 рисунками. Указатель литературы включает 206 источников, в том числе 154 отечественных и 52 иностранных авторов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Экспериментальный материал и методы

Экспериментальная часть работы выполнена на базе ЦНИЛ и биологической лаборатории кафедры технологии лекарственных форм фармацевтического факультета Сибирского государственного медицинского университета. Формирование хронического гепатита и цирроза печени и отработка методики

выполнена на 285 белых беспородных крысах обоего пола массой от 110 до 350 г., причем, 65 животных использованы в отработке методики. Все лабораторные животные находились в стандартных условиях содержания в виварии на естественном световом режиме при свободном доступе к воде и пище. В параллельно исследуемых группах животные имели одинаковый возраст и массу тела, контролируемую еженедельным взвешиванием. Вся экспериментальная часть работы проведена в соответствии с приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.78 «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных».

Экспериментальный цирроз печени формировался путем хронической интоксикации белых крыс органическим гепатотропным ядом – четыреххлористым углеродом (CCl_4). За основу принята модель энтеральной затравки 40 % масляным раствором 3 раза в неделю на протяжении 3 – х месяцев в дозе 2 мл/кг [Гальперин Э. И., 1960, Журавлева М. В., Рубецкой Л. С., 1970]. Однако применение данной методики в предложенном режиме оказалось невозможным ввиду массовой гибели животных от острой печеночной недостаточности. Поэтому использовалась методика зондового введения 50 % препарата 2 раза в неделю на протяжении 2,5 месяцев. Контроль формирования цирроза печени осуществлялся путем пробной лапаротомии с биопсией. За весь период затравки из 220 умерло 60 животных (смертность 27,2 %). Оставшиеся 160 крыс были разбиты на 2 группы: основную (n=120), которая подверглась криохирургическому лечению и контрольную (n=40), у которой проводилось только динамическое наблюдение с периодическими биопсиями. Кроме того, 30 интактных животных служили контролем развивающегося хронического гепатита и цирроза печени.

Все выжившие крысы после окончания курса затравки подверглись лапаротомии и биопсии. Морфологическое исследование биоптатов показало, что имеется группа животных (28 шт. – 17,5%), у которых изменения печени носили характер хронического гепатита различной степени тяжести. Крыс с нормальной печенью найдено не было.

Основная группа крыс подвергалась криохирургическому лечению (положительное решение о выдаче патента на изобретение РФ № 2003100573/14(000347) от 08.01.2003 «Способ лечения хронического гепатита и цирроза печени»). Под эфирным масочным наркозом выполнялась лапаротомия. В операционную рану последовательно выводились все четыре доли печени. Криовоздействие осуществлялось с помощью криодеструктора, разработанного в клинике для лапароскопических операций. Диаметр рабочего конца криодеструктора – 10 мм, температура по окончании выхода на режим -196°C , температура на печени -170°C . Криодеструкция боковых долей (левой и правой) производилась из 3 – х точек, центральной доли (обоих лопастей) – из 2 – х. Время экспозиции составляло 10 секунд. В дальнейшем у основной группы оценивалась динамика морфологических изменений в сроки 3, 7, 14, 21, 30, 60, 90 суток. У контрольной – в сроки 30, 60, 90 суток после операции. Во всех случаях – гладкое послеоперационное течение.

Биоптаты печени фиксировали в растворе 10 процентного нейтрального формалина в течение 72 часов. В последующем кусочки обезживались по стандартной методике, заливались в парафин и срезались на санном микротоме, при этом толщина срезов колебалась от 5 до 7 мкм. Окрашивались приготовленные препараты комбинированными красками двумя способами: гематоксилином – эозином и по Ван Гизон. Морфологические изменения в печени оценивались по нескольким критериям количественными методами. В качестве гистологических критериев оценки состояния печеночной паренхимы использовались следующие: коэффициент нормализации паренхимы (КНП), коэффициент склеротизации (КС), митотический индекс (МИ), плотность воспалительной инфильтрации (ПВИ) – для хронического гепатита. Для оценки состояния клеточного ядра использовалось прямое измерение его диаметра. На основании удельной доли ядра и цитоплазмы подсчитывали ядерно – цитоплазматическое отношение (ЯЦО). Подсчет по всем критериям осуществлялся в группе интактных животных, в основной и контрольной группах, что позволило провести статистическую обработку полученных материалов.

Коэффициент нормализации паренхимы

КНП является одним из важнейших критериев в морфологической оценке состояния печени, поскольку позволяет оценить интенсивность дистрофических и некробиотических изменений в печени на основе отношения количества нормальных гепатоцитов к дегенерирующим:

$$K_{НП} = \frac{\text{нормальные гепатоциты}}{\text{дегенерирующие гепатоциты}}$$

К нормальным гепатоцитам относили полигональные клетки, имеющие следующие признаки: ядро округлой или овальной формы, хорошо структурированное, с четко выраженными ядрышками, неповрежденную клеточную мембрану, достаточное количество белка в цитоплазме. Дегенерирующими признавались гепатоциты с характерными изменениями ядер – кариопикнозом, кариолизисом, кариорексисом, клетки без ядер. Кроме того, дегенерирующими считались гепатоциты с частично поврежденной клеточной оболочкой и с ярко выраженными явлениями цитоплазматической дистрофии (гидропической, балонной). Абсолютное число клеток (нормальных, дистрофических) подсчитывалось в 30 полях зрения препарата при увеличении микроскопа – 400.

Коэффициент склеротизации

КС представляет собой отношение количества соединительной ткани печени (стромы) к ее паренхиме.

$$КС = \frac{\text{строма}}{\text{паренхима}}$$

Подсчет КС производился на препаратах, окрашенных методом Ван Гизон, обладающим специфичностью к соединительной ткани. Подсчеты проводились методом точечного счета при увеличении микроскопа – 400. Для этого использовалась окулярная измерительная сетка по Г. Г. Автандилову. Учитывалось количество точек окулярной сетки, случайно совпавших с волокнами соединительной ткани. Для получения более точных данных измерялось 40

квадратов (1000 точек), тогда общая учтенная площадь препарата соответствует 1000 точкам (25×40), а части, приходящиеся на соединительную ткань – числу посчитанных для нее точек. Вычисляли отношение точек, попавших на соединительную ткань (количественное выражение фиброза) к общему числу точек тестовой системы.

Митотический индекс

Митотический индекс – количество митозов на 1000 клеток. Подсчет митозов производился в 40 полях зрения препарата при увеличении микроскопа – 1000. При этом в 30 полях зрения подсчитывали количество ядер способных к делению. Митотический индекс выражался в промилли (‰).

Диаметр ядра гепатоцитов

Кариометрические измерения проводились с помощью винтового окуляр – микрометра. В каждом препарате при увеличении 1000 в 20 полях зрения подсчитывалось 100 ядер. Диаметр ядра выражался в микрометрах – мкм.

Ядерно – цитоплазматическое отношение (ЯЦО)

Под ядерно – цитоплазматическим отношением понимается отношение относительной доли ядра к цитоплазме.

$$ЯЦО = \frac{\text{ядро}}{\text{цитоплазма}}$$

Оценка ЯЦО проводилась в биоптатах печени, окрашенных гематоксилином – эозином при увеличении микроскопа – 1000. Подсчет проводился с помощью окулярной измерительной сетки для цито – гистостереометрических исследований с большим числом точек (2000). Определялось количество точек, совпавших с ядром гепатоцита и количество точек, приходящихся на цитоплазму клетки. По их отношению вычислялась величина ЯЦО.

2. Клинический материал и методы

Клиническая часть работы выполнена на основании материалов обследования и лечения больных, находившихся на лечении в первом хирургическом отделении

муниципального клинического лечебно – профилактического медицинского учреждения «Городская больница № 3» г. Томска. Всего за период исследования было прооперировано 7 больных с циррозом печени вирусной и токсической этиологии. Среди поступивших женщин было 4, мужчин - 3. Возраст пациентов от 50 до 64 лет. У трех больных цирроз печени явился фоновым заболеванием, в одном случае – кист печени, в двух других – желчнокаменной болезни. Обследование больных включало в себя:

- а) общеклинические методы (сбор жалоб, анамнеза заболевания, физикальное обследование);
- б) лабораторные методы (биохимический и общий анализы крови, мочи, исследование крови на маркеры вирусных гепатитов иммунологическими методами, включая использование полимеразной цепной реакции, определение поглотительно – экскреторной функции печени и ее кровотока уевиридиновым методом, гистологическое исследование операционного материала);
- в) инструментальные методы обследования (ультразвуковое обследование органов брюшной полости с обязательным исследованием сосудистой системы печени, включающее применение доплерографии для регистрации и оценки объемного кровотока по общей печеночной артерии и воротной вене, эзофагогастродуоденоскопия).

3. Методы статистической обработки результатов

Статистический анализ данных выполнен с использованием универсального статистического пакета Statgraphics Plus for Windows. Перед выбором статистических критериев проверки гипотез проводилась проверка на нормальность распределения признака с применением коэффициентов асимметрии (As) и эксцесса (Ex) для малых выборок. В случаях нормального распределения для оценки достоверности различий использовался t-критерий Стьюдента; при распределениях признака, отличающихся от нормального и при малом объеме выборок ($n < 30$), использовался непараметрический критерий Манна-Уитни. Различия считались достоверными (статистически значимыми) при уровне

значимости $p \leq 0,05$, при $p > 0,05$ различия считались случайными, не доказанными. Результат фиксировался в виде $(M \pm m)$, где M – средняя арифметическая, m – стандартная ошибка среднего.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

1. Криохирургическое лечение хронического гепатита в эксперименте

В начальной стадии эксперимента КНП, показывающий соотношение нормальных гепатоцитов к дегенерирующим, изменяется в сторону резкого снижения от нормы и составляет $- 2,06 \pm 0,09$ ($p < 0,001$).

Рисунок паренхимы печени характеризуется наличием выраженных патологических изменений воспалительного характера без явных элементов деструкции. Наблюдается отёк гепатоцитов, мутное набухание с явлениями мелкокапельной гидропической дистрофии. В зонах портальных ацинусов наблюдается гиперемия сосудов и незначительная лейкоцитарная инфильтрация. Элементы соединительной ткани в области печёночных триад выражены слабо. В печёночной ткани отмечаются явления альтеративного и экссудативного воспаления – гиперемия сосудов, вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов, увеличение размеров ядра, незначительная полиморфноядерная лейкоцитарная инфильтрация. КС, характеризующий регенераторную и фибротическую перестройку структуры органа в основной и контрольной группах экспериментальных животных показывает однонаправленность в сторону достоверного увеличения от нормы более, чем в 3 раза – $0,15 \pm 0,02$, что свидетельствует о начинающейся фибротической перестройке ткани печени. ПВИ у основной и контрольной групп на фоне течения хронического гепатита в начальной стадии эксперимента возрастает в 2,5 раза от нормы и составляет $3,86 \pm 0,05$ ($p < 0,001$) (табл. 1).

Таблица 1

Морфологические критерии хронического гепатита

Критерий	Нормальная печень	Исходное состояние печени
Коэф-т нормализации паренхимы	$4,583 \pm 0,001$	$2,06 \pm 0,09$
Коэф-т склеротизации	$0,058 \pm 0,001$	$0,15 \pm 0,02$
Плотность воспалительной инфильтрации	$1,53 \pm 0,02$	$3,86 \pm 0,05$

Отмечается обильное кровенаполнение сосудов в области портальных триад, плазморрагия с одновременным увеличением объёма цитоплазмы гепатоцитов за счёт её вакуолизации. Структура ядер изменяется незначительно - в макроформах отмечается повсеместно равномерное распределение хроматина с частичным гиперхроматозом и наличие от одного до нескольких ядрышек. Появляются единичные клетки с явлениями хроматинолиза ядра. По периферии долек в области междольковых триад выявляются зоны обильной инфильтрации полиморфноядерными лейкоцитами и лимфоцитами, незначительная лейко – лимфоцитарная инфильтрация наблюдается и во внутريدольковых межбалочных пространствах. ЯЦО в начальной стадии эксперимента составляет 1:3, что практически не отличается от нормы ($p > 0,05$). Кроме того, не отмечается не только признаков митотического деления гепатоцитов, даже и подготовки к нему. Через 3 суток после криодеструкции в паренхиме печени экспериментальных животных основной группы наблюдается резкое увеличение количества дегенерирующих гепатоцитов – КНП составляет $1,92 \pm 0,10$. Причиной уменьшения КНП является, по – видимому, дополнительное повреждающее воздействие криодеструкции. Стоит отметить, однако, что уменьшение КНП не является статистически достоверным ($p > 0,05$).

В ядрах гепатоцитов регистрируются дегенеративные изменения, характеризующиеся кариопикнозом, кариорексисом и кариолизисом. Со стороны цитоплазмы наблюдается дальнейшая вакуолизация, часто встречаются клетки с выраженным гидропическим перерождением вплоть до баллонной дистрофии. Отмечается очаговая пролиферация купферовских клеток. Через 3 суток после криодеструкции регистрируется обильная инфильтрация перипортальных зон лимфоидными и гистиоцитарными элементами, что характеризует развитие пролиферативного воспаления в строме органа. В сосудах междольковой ткани отмечается плазматический застой, гепатоциты находятся в состоянии гидропической дистрофии. Появляются единичные двуядерные клетки. Отмечается частичный хроматинолиз ядер. ПВИ через 3 суток после криовоздействия незначительно увеличилась от начальных цифр и составляет $3,95 \pm 0,04$, что

характеризует развитие реактивных изменений в структуре печени в ответ на хирургическое лечение. На препарате, на фоне гиперхроматоза ядер появляются двуядерные клетки. Нарастает лимфо – лейкоцитарная инфильтрация в области междольковой ткани. К концу 14-х суток после криолечения у экспериментальных животных основной группы отмечается относительная нормализация состояния паренхимы, которая характеризуется снижением явлений гидропической дистрофии, что проявляется уменьшением вакуолизации цитоплазмы гепатоцитов, снижением реакций хроматинолиза и гиперхроматоза ядер.

КНП, по сравнению с предыдущим показателем ($1,92 \pm 0,10$ на 3 сутки), значительно увеличивается и составляет $3,18 \pm 0,11$. Появляются двуядерные гепатоциты с явлениями выраженного гиперхроматоза, что можно расценить, как частичное восстановление паренхимы органа за счёт внутриклеточной репаративной регенерации гепатоцитов. В портальных зонах отмечается незначительное кровенаполнение сосудов, регистрируется лимфоцитарная инфильтрация, и появляются фибробласты, мигрирующие к центру долек. ПВИ у экспериментальных животных на фоне криовоздействия на 14 – е сутки имеет тенденцию к снижению до $3,75 \pm 0,04$, относительно цифровых данных начала эксперимента $3,86 \pm 0,05$, а через 3 недели достигает $3,26 \pm 0,04$, что характеризует уменьшение экссудативных реакций и смену их на пролиферативные процессы в печёночной ткани.

Через 3 недели у основной группы экспериментальных животных на фоне криохирургического воздействия КНП достигает $3,24 \pm 0,14$, а через 1 месяц – $3,43 \pm 0,11$, что характеризует постепенное восстановление паренхимы органа. На препаратах отмечается большое количество гепатоцитов с повышенной митотической активностью – 2-х, 3-х ядерные клетки. Данный факт характеризует интенсивность восстановительных процессов в печени и отражает способность органа к пролиферации.

Через 1 месяц после криодеструкции КС отмечает тенденцию к снижению, достигая уровня $0,12 \pm 0,02$ против $0,15 \pm 0,02$ (начало эксперимента); через 2 месяца - $0,09 \pm 0,02$; через 3 месяца - $0,06 \pm 0,01$, что приближается к норме $0,058 \pm$

0,001 ($p > 0,05$). На препаратах печени регистрируется достоверное увеличение количества объёмных гепатоцитов с макроядерными формами, между которыми встречаются двуядерные клетки. Наряду с подобной реакцией клеточных структур в единичных гепатоцитах наблюдается кариолизис, появляются клетки – тени. Отмечается незначительная лимфоцитарная инфильтрация. В макроядерных формах гепатоцитов хроматин находится в гетеросостоянии, что свидетельствует о накоплении генетического материала в период подготовки клетки к митотическому делению

ПВИ достоверно снижается и достигает через 1 месяц – $3,09 \pm 0,05$, через 2 месяца – $2,50 \pm 0,04$; через 3 месяца – $1,90 \pm 0,07$, что достоверно отличается от того же показателя начала эксперимента – $3,86 \pm 0,05$ ($p < 0,001$).

В противоположность экспериментальным животным из основной группы, подвергшихся воздействию криодеструкции, в контрольной группе восстановление паренхимы органа за счёт усиления митотической активности гепатоцитов не отмечается. КНП составляет через 1 месяц $2,20 \pm 0,06$ от $2,06 \pm 0,09$ в начале эксперимента. В ткани печени многочисленные фокусы некрозов замещаются гистиоцитарной инфильтрацией, развивающейся по периферии долек с одновременным распространением единичных фибробластов в межбалочных пространствах. Двуядерных гепатоцитов не встречается. В печёночных клетках отмечается частичный хроматинолиз, гиперхромных ядер не наблюдается. Этот факт свидетельствует о снижении митотической активности клеток, а, следовательно, уменьшении роли внутриклеточной репаративной регенерации в процессе восстановления структуры органа без воздействия криодеструкции.

В ходе дальнейшего эксперимента у контрольной группы животных КНП через 2 месяца достигает $2,30 \pm 0,05$, при норме $4,58 \pm 0,01$, а через 3 месяца – $2,70 \pm$ ($p < 0,001$ по отношению к основной группе), что почти в 1,5 раза ниже исходного значения. При этом количество дегенерирующих гепатоцитов остаётся на высоком уровне, их вид характеризуется выраженным полиморфизмом, ядра имеют различные размеры от микроформ до макроформ. Содержание в них хроматина также различно – одни ядра светлые с крупными ядрышками, другие –

гиперхромные, с неравномерным распределением хроматина. Отмечаются зоны жировой дистрофии. В междольковых пространствах активизируются элементы фибробластной системы, и разрастается соединительная ткань.

КС через 1 месяц после начала эксперимента составляет $0,14 \pm 0,03$, через 2 месяца – $0,13 \pm 0,02$, через 3 месяца – $0,12 \pm 0,02$, что не только не достигает нормальных значений ($p < 0,05$), но и существенно отличается от основной группы – $0,058 \pm 0,001$ ($p < 0,05$). Наблюдается выраженная гиперемия сосудов портальных триад, характеризующая застойные явления в печени на фоне хронического гепатита, в результате развивающейся тканевой гипоксии происходит активизация элементов фибробластной системы и повсеместно разрастается соединительная ткань как в междольковых пространствах, так и внутри долек, что приводит к формированию ложных долек.

ПВИ через 1 месяц от начала эксперимента составил – $3,37 \pm 0,06$; через 2 месяца – $3,06 \pm 0,07$; через 3 месяца – $2,74 \pm 0,05$, что существенно и достоверно отличается от основной группы ($p < 0,001$) (табл. 2).

Таблица 2

Динамика морфологических изменений при хроническом гепатите

Критерий		1 месяц	2 месяца	3 месяца
Коэффициент нормализации паренхимы	основная	$3,44 \pm 0,14$	$3,84 \pm 0,08$	$4,33 \pm 0,05$
	контроль	$2,21 \pm 0,06$	$2,30 \pm 0,05$	$2,70 \pm 0,08$
Коэффициент склеротизации	основная	$0,12 \pm 0,02$	$0,09 \pm 0,02$	$0,06 \pm 0,01$
	контроль	$0,14 \pm 0,03$	$0,13 \pm 0,02$	$0,12 \pm 0,02$
Плотность воспалительной инфильтрации	основная	$3,09 \pm 0,05$	$2,50 \pm 0,04$	$1,90 \pm 0,07$
	контроль	$3,37 \pm 0,06$	$3,06 \pm 0,07$	$2,74 \pm 0,05$

2. Криохирургическое лечение цирроза печени в эксперименте

В исходном состоянии печени отмечается резко выраженное нарушение citoархитектоники органа с потерей балочного строения печеночных долек. Прослойки высоко дифференцированной соединительной ткани в виде широких

тяжей окружают ложные дольки, лишенные центральных вен. Узелки различных размеров состоят из полиморфных гепатоцитов, одни из которых увеличены в размерах с крупными гиперхромными ядрами, другие – уменьшены, с пикнотичными ядрами и выраженными дистрофическими и некробиотическими изменениями (набухание и гидропическое перерождение гепатоцитов). Среди гепатоцитов встречаются единичные двуядерные клетки. Множественные широкие порто – портальные и порто – центральные септы густо инфильтрированы лимфоцитами и гистиоцитами. Центральные вены в результате деструкции части дольки, и разрастания на ее месте соединительной ткани оказываются расположенными в последней. Определяется склероз синусоидных капилляров, что служит характерным признаком цирротической трансформации печени. Показатели КС, КНП, ДЯ представлены в таблице 3.

Таблица 3

Морфологические критерии цирроза печени

Критерий	Нормальная печень	Исходное состояние печени
Коэффициент нормализации паренхимы	4,583±0,001	1,071±0,002
Коэффициент склеротизации	0,058±0,001	0,189±0,005
Диаметр ядра	6,35±0,06	8,92±0,034

Через 1 сутки после криодеструкции печени у основной группы на препаратах регистрировали центрлобулярные некрозы. КНП несколько уменьшался за счет увеличения дегенерирующих гепатоцитов (как следствие дополнительного травмирующего воздействия криодеструкции). Диаметр ядер у животных основной группы увеличивался и составил $8,92 \pm 0,34$ мкм ($6,35 \pm 0,06$ мкм в норме), достигая максимальных значений к 7 – м суткам – $9,25 \pm 0,30$ мкм. ЯЦО достоверно не отличалось от нормального уровня – 1:3,7 ($p > 0,05$). Через 3 недели после

криодеструкции ДЯ у животных основной группы составил $8,04 \pm 0,29$, через 1 месяц – $7,77 \pm 0,21$ и имел тенденцию к достоверному уменьшению, составившему через 3 месяца $7,01 \pm 0,12$ ($p < 0,001$). В печени отмечался отек гепатоцитов периферических зон, характеризующихся развитием выраженной вакуольной дистрофии от мелко – до крупнокапельной, вплоть до баллонной. Гепатоциты характеризуются полиморфизмом ядер от макро – до микроформ, неравномерным распределением хроматина, нечеткой конфигурацией ядрышек. От междольковых зон, в которых отмечается развитие соединительнотканых элементов, наблюдается распространение фибробластов.

КНП через 3 суток у животных основной группы характеризуется медленным восстановлением и составляет $1,11 \pm 0,03$, к 7 суткам – $1,09 \pm 0,02$, а к 21 суткам – $1,277 \pm 0,004$. Отмечается положительная динамика, характеризующаяся уменьшением количества дегенерирующих клеток паренхимы печени. На препаратах гепатоциты гипертрофированы, с явлениями незначительной гидропической дистрофии, появляются двуядерные клетки, наблюдается равномерное распределение хроматина по всей структуре ядра. В этот срок практически во всех полях зрения регистрируются многочисленные фигуры митозов. МИ достигает $32,1 \pm 0,1$ ‰.

Через 1 месяц после криодеструкции КНП составил $1,38 \pm 0,01$, через 2 месяца резко повысился до $3,74 \pm 0,01$, а через 3 месяца почти достиг нормы и составил $4,43 \pm 0,01$ ($p < 0,001$ по отношению к началу эксперимента – стадия развившегося цирроза печени). В паренхиме печени после криодеструкции в начальный период эксперимента в области, прилегающей к некротическому очагу, окруженному зоной воспалительной инфильтрации, наблюдается нормальная печеночная ткань, в которой присутствует большое количество двух – , трех – и тетраядерных гепатоцитов.

КС на протяжении первого месяца после криодеструкции постепенно снижается, 21 сутки – $0,125 \pm 0,002$, через месяц – $0,123 \pm 0,004$, через 2 месяца – $0,086 \pm 0,003$, а через 3 месяца – $0,064 \pm 0,002$, что достоверно отличается стадии развившегося цирроза ($p < 0,001$).

К концу эксперимента через 3 месяца структура печеночной ткани приобретает мелкодольчатый характер с минимальным развитием соединительнотканых компонентов. На этой стадии происходит интенсивный процесс замещения соединительнотканых прослоек разрастающимися гепатоцитами, и в большей части печеночной ткани происходит нормализация цитоархитектоники. Значительно снижается интенсивность воспалительной инфильтрации портальных трактов по сравнению с предыдущими этапами опыта. Гепатоциты не имеют признаков жировой дистрофии. Сохраняется умеренное количество гипертрофированных и двуядерных гепатоцитов.

У экспериментальных животных контрольной группы диаметр ядер увеличивался в начале эксперимента идентично основной группе и составлял $8,92 \pm 0,34$, а через 1 месяц наблюдалась тенденция к незначительному уменьшению ДЯ – $7,78 \pm 0,21$, через 2 месяца – $7,54 \pm 0,19$, а через 3 месяца – $6,78 \pm 0,17$.

КНП через трое суток составил $1,069 \pm 0,002$ и в дальнейшем неуклонно повышался: на 7 сутки – $1,09 \pm 0,02$, на 21 сутки – $1,74 \pm 0,03$, через 1 месяц – $1,78 \pm 0,03$ и через 3 месяца – $2,59 \pm 0,02$, (уменьшен почти в 2 раза), что достоверно не достигает нормальных значений ($p < 0,001$). Данный факт свидетельствует о сниженной активности гепатоцитов к восстановлению паренхимы на фоне цирроза печени. В области триад отмечается резко выраженная гиперемия сосудов, большое количество соединительной ткани.

КС у животных контрольной группы на начальном этапе составил $0,179 \pm 0,003$ ($p < 0,001$ по отношению к норме) и в дальнейшем имел тенденцию к некоторому снижению и через 3 месяца равнялся $0,154 \pm 0,002$, при этом не только не достигая уровня нормальной печени, но и достоверно отличался от КС в основной группе крыс в тот же срок ($p < 0,001$). В ткани печени отмечается обильное развитие соединительной ткани в области триад, большое количество ложных долек, застойные явления в портальных сосудах. Кроме того, в контрольной группе не отмечено клеточной регенерации (отсутствуют митозы). Частичное восстановление структуры органа связано с внутриклеточной регенерацией –

регенераторной гипертрофией гепатоцитов. Динамика морфологических изменений приведена в таблице 4.

Таблица 4

Динамика морфологических изменений при циррозе печени

Критерий		1 месяц	2 месяца	3 месяца
Коэффициент нормализации паренхимы	основная	1,38±0,01	3,74±0,01	4,43±0,02
	контроль	1,78±0,06	2,20±0,02	2,60±0,02
Коэффициент склеротизации	основная	0,123±0,004	0,087±0,003	0,064±0,002
	контроль	0,167±0,002	0,156±0,002	0,154±0,002
Диаметр ядра	основная	7,77±0,21	7,27±0,16	7,01±0,12
	контроль	7,79±0,22	7,55±0,19	6,78±0,17

2. Криохирургическое лечение цирроза печени в клинике

Все больные после поступления в стационар подвергались комплексному обследованию, направленному на уточнение природы поражения печени и стадии процесса. Из лабораторных анализов: легкой степени анемия (Hb - 102 г/л) встретилась у одной больной, ускорение СОЭ – у 5 - ти больных (от 25 до 42 мм/ч), повышение билирубина (36,4 – 10,5 – 25,9), тимоловой пробы (16,8 ЕД), снижение сулемовой пробы (0,9 мл) – у одной больной, повышение уровня АЛАТ (до 2,53 ммоль/чхл) – у четырех больных. Содержание общего белка у всех больных оказалось в пределах нормы (от 78,4 до 92,7 г/л). У пяти больных отмечено снижение ПТИ (от 70,4 до 83,3 %). Таким образом, у всех больных встретились более или менее выраженные цитолитический, мезенхимально – воспалительный синдромы, синдромы анемии и желтухи, что является довольно характерным для лабораторной диагностики цирроза печени. Иммунологические методы исследования позволили определить вирусную этиологию цирроза у 3 – х больных. Вирус гепатита В – у одной больной, микст – инфекция (ВГВ + ВГС) – у двух больных. Выполнение доплерографии и исследование поглотительно – экскреторной функции печени не выявило существенных гемодинамических

расстройств ни у одного больного. Проведение ЭГДС позволило выявить очаговое варикозное расширение вен пищевода только у одной больной.

Комплексная оценка полученных данных позволила установить стадию цирроза печени следующим образом: у 4 - х больных – компенсация, у трех – декомпенсация. Стадия процесса устанавливалась на основании международной классификации циррозов печени (Лос – Анджелес, 1994) в зависимости от выраженности печеночно – клеточной недостаточности и портальной гипертензии. Печеночно – клеточная недостаточность оценивалась по Чайлд – Пью (Child, Pugh). Принадлежность к классу А, В или С устанавливалась после подсчета баллов по следующим критериям: уровень билирубина, альбумина, ПТИ, наличие или отсутствие энцефалопатии, асцита. Четверо больных отнесены к классу А (компенсация) – 5 – 6 баллов, соответственно, и трое больных - к классу В (декомпенсация) – 7 – 9 баллов.

Предоперационная подготовка

Весь комплекс предоперационных мероприятий был направлен на решение следующих задач:

1. Снижение активности процесса.
2. Ликвидация или, по крайней мере, уменьшение проявлений (осложнений) цирроза печени – асцита, портальной гипертензии.
3. Проведение заместительной терапии (ликвидация анемии, диспротеинемии).

В случаях с компенсированным циррозом консервативные мероприятия были направлены на создание функционального резерва печени. Назначались внутривенные инфузии 5 % раствора глюкозы с аскорбиновой кислотой, эссенциале и витамины группы В. Этой терапии оказывалось достаточно для коррекции существующих нарушений (повышение трансаминаз, изменение осадочных проб).

В случаях декомпенсированного цирроза с наличием желтухи и асцита консервативная терапия включала в себя назначение диеты в пределах стола № 5 с ограничением поваренной соли (асцит). Дезинтоксикационная терапия включала в себя внутривенное капельное введение 5 % раствора глюкозы 500 мл с 5 % - ным

раствором аскорбиновой кислоты – 4 мл и введение 200 мл гемодеза. Для улучшения клеточного метаболизма назначались витамины В₆ и В₁₂, которые чередовались через день и эссенциале по 5 мл ежедневно. В одном случае при наличии активности процесса назначали преднизолон в суточной дозе – 30 мг. Лечение асцита осуществляли путем комбинирования диуретических препаратов - антагонистов альдостерона и препаратов тиазидового ряда. Нами использовалась комбинация спиронолактон (100 мг/сут) – фуросемид (40 мг/сут). Заместительная терапия (анемия) включала переливание эритроцитарной массы. Коррекция диспротеинемии проводилась внутривенными инфузиями 5 % - го раствора альбумина и свежезамороженной плазмы.

Все больные оперированы по ликвидации активности процесса.

Техника операции

Операцию выполняли под эндотрахеальным наркозом. В 6 случаях из 7 – ми нами использовался косой доступ в правом подреберье (доступ Кохера), поскольку он обеспечивает достаточный хороший обзор и подход к обеим долям печени. После вскрытия брюшной полости проводилась визуальная оценка состояния печени (размер, цвет, форма), при пальпаторном исследовании оценивалась консистенция органа. После этого выполнялась биопсия. Учитывая то, что цирроз печени оказался фоновым заболеванием для желчнокаменной болезни (у 2 – х больных) и кист печени (1 больная), то в этих трех случаях операция носила симультанный характер: холецистэктомия + криодеструкция, иссечение кист печени + криодеструкция. Криодеструкция выполнялась с помощью оригинальной криоустановки, разработанной в Зональном Гепатологическом Центре г. Томска (патент РФ 2189795 от 27.09.2002 «Криохирургический инструмент») посегментарно из 10 – 15 точек. Исключением являлись I, VII, VIII сегменты, поскольку для доступа к ним потребовалось бы либо расширение операционного доступа, либо мобилизация печени, что, на наш взгляд, не является оправданным. Экспозиция криодеструктора на печени составляла 30 секунд на каждой точке. Брюшная полость либо ушивалась наглухо, либо оставлялся дренаж в

подпеченочное пространство (в случае сочетания операции с холецистэктомией или иссечением кист печени).

Течение послеоперационного периода у всех больных гладкое. В общем анализе крови в одном случае отмечена анемия (гемоглобин 80,8 г/л), компенсированная двукратным переливанием эритроцитарной массы. В биохимическом анализе крови в ближайшем послеоперационном периоде в 5 случаях зафиксировано увеличение АлАТ (максимально до 2,76 ммоль/ч×л), в одном случае – повышение общего билирубина до 34,7 мкмоль/л за счет непрямой фракции – 23,8 мкмоль/л. К моменту выписки данные показатели пришли в норму. Средний показатель койко – дня составил 18,3, послеоперационный период составил в среднем – 11,8 дней.

Отдаленные результаты прослежены нами у одной больной (1 год после перенесенной операции цистэктомии + криодеструкции печени). Больная была отнесена нами к классу А по Child – Pugh (компенсация). Субъективно больная чувствует себя удовлетворительно. Периодически беспокоит тяжесть в правом подреберье. При объективном осмотре – кожные покровы обычной окраски. Асцита нет. При ультразвуковом исследовании: печень не увеличена, правильной формы, контуры ровные, структура однородная. При доплерографии сосудов печени – гемодинамические показатели в пределах нормы. В общем и биохимическом анализах крови – без отклонений от нормы.

ВЫВОДЫ

1. Интоксикация 50% раствором четыреххлористого углерода на протяжении 2,5 месяцев вызывает микро – и макроскопические изменения печени крыс характерные для хронического гепатита и цирроза печени.
2. Криодеструкция печени крыс с хроническим гепатитом и циррозом печени выполненная из 10 точек с экспозицией 10 секунд оказывает стимулирующее влияние на процессы регенерации органа.

3. Криодеструкция цирротически измененной печени оказывает регрессирующее влияние на процессы фибротической перестройки органа. Оценка коэффициента склеротизации в основной группе животных через 3 месяца показывает значительное его уменьшение, практически достигающее нормы – $0,064 \pm 0,002$.
4. Криодеструкция цирротически измененной печени вызывает гистологическую нормализацию структуры органа, что проявляется увеличением коэффициента нормализации паренхимы вплоть до нормальных цифр – $4,43 \pm 0,02$, исчезновением ложных долек и восстановлением сосудистой системы.
5. Криодеструкция печени является безопасной операцией в плане развития интра - и послеоперационных осложнений. Не было отмечено послеоперационной летальности, в послеоперационном периоде – кровотечения, желчеистечения, образования абсцессов брюшной полости, печеночной недостаточности.
6. Применение криодеструкции печени у больных с циррозом печени оказывается простым в техническом исполнении и эффективным в плане стабилизации процесса (исчезновение клинических проявлений заболевания, нормализация печеночного кровотока и биохимических показателей крови).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Применение криодеструкции у больных с хроническими диффузными заболеваниями печени является эффективным и патогенетически обоснованным методом лечения, в связи с чем представляется оправданным направление таких больных в хирургические стационары для оперативного лечения.
2. Представляется перспективным более широкое внедрение криохирургической аппаратуры в хирургические стационары общего профиля.

3. Применение криодеструкции для лечения хронического гепатита и цирроза печени возможно как в случае вирусной, так и токсической природы поражения печени.
4. Криодеструкция печени показана больным преимущественно в компенсированной и субкомпенсированной стадии заболевания, когда еще сохраняются морфологические основы регенерации.
5. В стадии декомпенсации криодеструкция возможна в ближайшие сроки после появления признаков осложнений цирроза печени – портальной гипертензии, асцита, с учетом возможности их коррекции в предоперационном периоде.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Криохирургическое лечение цирроза печени // Актуальные вопросы эндокринной хирургии, хирургической гепатологии и трансфузионной медицины. – Пермь, 2003. – С. 138 – 142. (соавт. Альперович Б. И., Киселева Ю. В.).
2. Применение лапароскопической техники для лечения хронических гепатитов и циррозов печени (экспериментальное исследование) // II конгресс хирургов Казахстана, 2003 г. – Алма – Аты, 2003. – С. 27 – 29. (соавт. Альперович Б. И.).
3. Криохирургическое лечение хронических гепатитов и циррозов печени // Сибирский журнал гастроэнтерологии и гепатологии. – 2003. - № 16, 17. – С. 122 – 124. (соавт. Альперович Б. И., Киселева Ю. В.).
4. Применение криодеструкции в лечении цирроза печени // Актуальные проблемы медицины. Сборник научных трудов. – Томск, 2004. – Т. 3, № 2. – С. 241 – 242.
5. Возможности криодеструкции в лечении цирроза печени // Бюллетень Сибирской медицины. – 2004. – Т. 3, № 2. – С. 79 – 84. (соавт. Альперович Б. И., Киселева Ю. В.).

6. Применение криодеструкции в лечении цирроза печени // Здоровоохранение Башкортостана. – 2004. – № 3. – С. 28.
7. Локальная гипотермия в лечении цирроза печени // Анналы хирургической гепатологии. – 2004. – Т. 9, № 2. – С. 236 – 237.

СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДЯ – диаметр ядра

КНП – коэффициент нормализации паренхимы

КС – коэффициент склеротизации

МИ – митотический индекс

ПВИ – плотность воспалительной инфильтрации

ЯЦО – ядерно – цитоплазматическое отношение