

декремента интенсивности  $K_2$ . Максимальная интенсивность окраски тионином и импрегнации солями серебра не являлась различительным критерием при сравнении нейронов крыс для групп с различной склонностью к алкогольной зависимости. Информативными оказались изменения R: пик максимальной интенсивности окрасок в нейронах крыс группы СА определялся ближе к центру нейрона, по сравнению с аналогичным показателем в группе НА.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Компьютерная радиальная морфометрия является эффективным методом для выявления структурных особенностей нейронов в сложно организованных образованиях, таких как компоненты стриопаллидарной системы. С помощью формализованных показателей функции распределения интенсивности при морфометрии препаратов, окрашенных классическими для нейроморфологии методами – тионином по Нисслию и серебрением, удается показать особенности свойственные нейронам у животных с конституциональной склонностью к алкогольной зависимости. Метод представляется весьма перспективным для количественного анализа изображений при использовании гистохимических и иммуногистохимических окрасок.

*Gurov D.Yu., Pisarev V.B., Novochadov V.V., Potanin M.B.* Radial morphometry of neurons for the evaluation of the peculiarities of paleostriatum structures conditioned by their constitution // Vestnik of Volgograd State Medical University. – 2005. – № 1. – P. 6–8.

Quantitative approach based on radial morphometry of neurons has been applied to reveal the peculiarities of paleostriatum structure in rats with constituent addiction to alcohol consumption. Five indices were established for distributive function of stain intensity. Some of them were shown as new informative characteristics of neurons in rat striopallidum connected to the fact of high addiction to alcohol consumption. The method can be applied to carry on up-to-date histochemical and immune histochemical analysis in neuromorphology.

УДК 616.36-004-091

## КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ПАТОМОРФОЛОГИЯ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ

**М.В. Бенявский, А.А. Должиков**

*Курский государственный медицинский университет*

В последние десятилетия болезни печени занимают одно из существенных мест среди причин ранней нетрудоспособности и смертности лиц в возрасте 30–60 лет [2, 4, 6, 7]. Известное в настоящее время об этиологии, морфогенезе, клинко-морфологических особенностях диффузных заболеваний печени дает основания считать проблему вирусно-алкогольных поражений печени одной из ведущих в гепатологии нынешнего века [3, 6].

Предметом продолжающихся исследований являются критерии морфологической диагности-

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Автандилов Г.Г.* Основы количественной патологической анатомии. – М.: Медицина, 2002. – 240 с.
2. *Гуров Д.Ю.* // Вестник ВолГМУ. – 2004. – № 12. – С. 3–5.
3. *Гуров Д.Ю., Писарев В.Б.* // Арх. клин. и эксперим. медицины. – Донецк, 2003. – Т. 12. – № 1. – С. 8.
4. *Гуров Д.Ю., Писарев В.Б.* // Морфология. – 2004. – № 4. – С. 39.
5. *Мулик А.Б.* Оптимизация медико-биологического эксперимента in vivo. – Волгоград, 2003. – 212 с.
6. *Николлс Дж.Г., Мартин А.Р., Валлас Б.* и др. От нейрона к мозгу. – М.: УРСС, 2003. – 672 с.
7. *Новоладов В.В., Писарев В.Б., Фролов В.И.* // Бюл. ВНЦ РАМН. – 2004. – № 1. – С. 13–19.
8. *Писарев В.Б., Гуров Д.Ю., Потанин М.Б.* // Вестник ВолГМУ. – 2004. – № 10. – С. 3–6.
9. *Салимов Р.М.* Анализ механизмов алкогольной мотивации и ее фармакологическая коррекция: автореф. дис. ... доктора биол. наук. – М., 1998. – 38 с.
10. *Inoue K., Koizumi S., Yamagata K., et al.* // Life Sci. – 2003. – Vol. 74, № 3. – P. 189–197.
11. *Mann K., Agartz I., Harper C., et al.* // Alcohol. Clin. Exp. Res. – 2001. – Vol. 25, № 5. – S104 – S109.
12. *Thompson R.H., Swanson L.W.* // Brain Res. Rev. – 2003. – Vol. 41, № 2–3. – P. 153–202.

(13)

данная работа.

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Установить закономерности морфофункциональных изменений гепатоцитов при циррозах печени различной этиологии.

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на материале 1487 аутопсий, произведенных в патологоанатомическом отделении МУЗ ГБ скорой медицинской помощи г. Курска с 2000 по 2003 годы. Все данные формализовались в виде цифровых кодов и коэффициентов и регистрировались в электронной таблице "MS Excel XP". В последующем производился статистический анализ с определением средних относительных частот анализируемых показателей и их ошибок. Определение тенденции заболеваемости произведено путем регрессионного анализа.

Материал для патогистологического исследования фиксировали в 10 %-м формалине и заливали в парафин по стандартной методике. Из залитого материала изготавливали серийные срезы толщиной 5–7 мкм. Для обзорного исследования срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Выявление гликогена производили PAS-реакцией с приготовлением реактива Шиффа по методу "холодный Шифф". С целью диагностики признаков В-вирусной этиологии цирроза срезы окрашены орсеином по Шиката. Липиды выявляли окраской суданами-II, IV, сульфатом нильского голубого. Для изучения изменений ядрышкового аппарата гепатоцитов использовали выявление аргирофильных белков ядрышковых организаторов (argirophylic nucleolar organizer regions, AgNORs) путем импрегнации коллоидным раствором азотнокислого серебра. Диагностическую значимость качественных признаков оценивали по формуле Кульбака.

Морфометрическое исследование выполнено на материале всех 95 случаев цирроза печени за 2000–2003 г. Измерения произведены с помощью винтового окуляр-микрометра "МОВ-1-15х", сетки Автандилова и компьютерных программ "ImageTool" и "ImageJ (США)". Морфометрию выполняли на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином. В каждом случае производили не менее 100 измерений. Для информационного анализа морфометрических параметров [1] вычисляли абсолютную ( $H$ ), относительную ( $h$ ) энтропии, коэффициент избыточности ( $R$ ). В стандартном поле зрения  $\times 400$  подсчитывали относительное количество двуядерных гепатоцитов в центральных участках, на периферии ложных долек и суммарно, среднее количество мелких желчных протоков и холангиол на 10 цирротических септ. С помощью окулярной сетки Автандилова определя-

ли удельную площадь мелких желчных протоков и холангиол в цирротических септах.

Все количественные данные регистрировали в виде электронных таблиц "MS Excel XP" с последующим статистическим анализом.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В изученном нами материале патологоанатомических вскрытий цирроза печени с различным местом в структуре патологоанатомического диагноза выявлены в 95 случаях из 1487 аутопсий, что составляет 6,39 %. В 65 наблюдениях цирроз печени диагностирован как основное заболевание, в 8 как фоновое, в 22 как сопутствующее. По годам частота циррозов печени от общего количества аутопсии распределилась следующим образом: 2000 г – 5,71 %, 2001 – 5,57 %, 2002 – 2,83 %, 2003 – 10,04 %. При регрессионном анализе тенденции изменения частоты цирроза печени установлено, что она характеризуется ростом за последний год на 1,19 % и темпом прироста на 18,96 %, что характеризует резкую выраженность к повышению. Среди умерших больных как с осложненным циррозом печени, так и при его сопутствующей роли более чем в 2 раза преобладали мужчины (69,5 %).

На основании стандартных патоморфологических критериев с учетом клинико-anamnestических данных и наличия серологической верификации инфекции вирусом гепатита С в общем числе наблюдений этиологические варианты распределились следующим образом: 6 случаев вирусного цирроза (6,3 %), 69 алкогольного (72,6 %), 15 вирусно-алкогольного (15,8 %), 5 случаев первичного и вторичного билиарного (5,3 %). С-вирусный цирроз диагностирован в 3-х случаях (4,6 % всех случаев цирроза как основного заболевания) на основании патогистологических признаков и наличия серологической верификации.

Использование определения коэффициента диагностической информативности ( $I$ ) по формуле Кульбака подтвердило достоверность описательной характеристики патогномоничных для циррозов патогистологических признаков.

При сравнении алкогольного и вирусного цирроза печени установлено, что имеется пограничная диагностическая информативность воспаления при вирусном циррозе ( $I = 0,501$ ), что указывает на необходимость сопоставления случаев с примерно одинаковой степенью гистологической активности. При сопоставлении алкогольного и вирусного цирроза количественно подтверждена высокая диагностическая информативность жировой дистрофии ( $I = 2,99$ ) и внутريدолькового холестаза ( $I = 0,733$ ). При сопоставлении цирроза печени как фонового или основного заболевания с сопутствующим значения  $I$

для воспаления составили 1,35 и 0,76 соответственно. Для отложений телец Маллори они составили 0,23 и 0,37, то есть не имели диагностической информативности для различных вариантов течения алкогольного цирроза печени.

По фактическим результатам кариометрического исследования гепатоцитов ядра были подразделены по диаметру на 5 групп (размерных интервалов): менее 6 мкм; от 6,1 до 9 мкм; от 9,1 до 12 мкм; от 12,1 до 15 мкм; более 15 мкм. Кариометрические показатели свидетельствуют, что в цирротически измененной паренхиме печени достоверно увеличиваются диаметры ядер гепатоцитов, особенно в случаях, верифицированных как смешанные. В спектре диаметров происходит перераспределение за счет 2–3-х кратного увеличения доли ядер с диаметром более 12 и 15 мкм. Данное изменение является одним из признаков дисплазии гепатоцитов. При распределении диаметров ядер гепатоцитов в зависимости от течения – степени клинической манифестации (стадии) цирроза (основное заболевание или сопутствующее) выявлена зависимость между данными характеристиками в изученных случаях. Анализ кариометрических показателей (средних диаметров ядер и их спектра) свидетельствует о наличии характерных для различных этиологических вариантов цирроза особенностей. При вирусной этиологии (в чистом или смешанном варианте) специфичен сдвиг спектра диаметров в сторону крупных ядер (12 и более мкм), при этом более демонстративные изменения наблюдаются в группе диаметров 12–15 мкм. Степень сдвига кариометрических показателей достоверно больше при клинической значимости (декомпенсации) цирроза.

Существенно дополнил результаты кариометрии анализ ядерно-цитоплазматического отношения (ЯЦО). При вирусном циррозе печени средняя величина ЯЦО достоверно ( $p < 0,05$ ) выше, чем при алкогольном, что подтверждает ранее охарактеризованный сдвиг спектра диаметров ядер гепатоцитов в сторону их укрупнения – 12–15 мкм и более. Для анализа всей совокупности гепатоцитов по распределению величин ЯЦО полученные значения разделены на 8 групп с равным интервалом по 0,1 (ЯЦО от 0,1 до 0,7 и более), что позволило также выявить отличия в трех изученных группах с использованием методов информационного анализа.

Наибольшей как абсолютная, так и относительная средняя величины информационной энтропии оказались в группе вирусного цирроза, минимальные в группе цирроза смешанной этиологии (табл.). Наименьшая величина информационной энтропии ядер гепатоцитов при вирусно-алкогольном циррозе печени в совокупности с существенным сдвигом диаметров в сторону уве-

личения свидетельствует о диспластическом характере их сравнительной мономорфности.

Таблица

**Величины абсолютной ( $H$ ) и относительной ( $h$ ) информационной энтропии ЯЦО гепатоцитов**

Энтропия	Цирроз		
	Алкогольный	Вирусный	Смешанный
$H$	1,4601±0,4723	1,6805±0,2890	1,3070±0,3307*
$h$	48,7±4,3	53,8±4,6	43,6±3,5*

\* $p < 0,05$  в сравнении с вирусным циррозом.

При вирусном и смешанном циррозах выше корреляционная связь между удельной площадью ядра и цитоплазмы ( $r = 0,56$  и  $0,57$  соответственно), чем при алкогольном циррозе ( $r = 0,45$ ). Однако от удельной площади ядра ЯЦО в наибольшей степени зависит при алкогольном циррозе ( $r = 0,50$ ). При вирусном циррозе связь удельной площади цитоплазмы и ЯЦО наименьшая. Последнее, наряду с корреляцией между ядром и цитоплазмой, свидетельствует о значимом вкладе ядерных изменений в перестройку гепатоцитов при вирусном циррозе.

Подсчет количества двуядерных гепатоцитов в центральных и периферических зонах цирротических долек выявил достоверные отличия их количества как в разных зонах цирротических долек, так и между случаями алкогольного и вирусного цирроза. При этом во всех 3-х изученных группах количество двуядерных гепатоцитов преобладало в периферических участках долек в 2 (при смешанном) – 6 (при вирусном) раз.

При обзорном исследовании удается выделить 2 основных варианта пролиферации желчных протоков. В одних случаях вновь образующиеся протоки являются продолжением или боковыми ответвлениями предсуществующих. В других обнаруживаются многочисленные автономные фокусы пролиферации протоков, чаще в комплексе с мелкими узелками-регенератами гепатоцитов. В последнем случае дуктулярные структуры выглядят более индифферентными (менее дифференцированными), чем при первом варианте пролиферации.

Первый вариант пролиферации протоков характерен для цирроза алкогольной этиологии, сочетаясь с перипортальным холестазом. Второй и смешанный варианты чаще наблюдаются при вирусном и вирусно-алкогольном (смешанном) циррозах, особенно при мультилобулярной структуре цирротических узлов.

В наблюдениях алкогольного цирроза печени количество протоков варьировало от 11 до 63, составив в среднем  $34,5 \pm 4,8$  на 10 септ; при

(13)

вирусном циррозе соответственно от 12 до 89 и  $39,2 \pm 11,5$ , достоверно, таким образом, не отличаясь. Однако при вирусном циррозе в 2 раза выше коэффициент вариации (V) дуктулярных структур, что свидетельствует о достоверно более выраженном их полиморфизме. Определение удельной площади дуктулярных структур в цирротических септах методом точечного счета выявило результат, противоречащий морфологической картине и подсчету их количества. При алкогольном циррозе она составила  $14,1 \pm 0,3\%$ , при вирусном  $11,5 \pm 2,0\%$ , при смешанном  $13,7 \pm 1,8\%$ . Однако это объясняется существенно большей шириной септ при вирусном циррозе, в том числе и за счет массивных воспалительных инфильтратов. В связи с этим более надежным является подсчет количества дуктулярных структур на стандартное количество участков септ или портальных трактов.

В отличие от традиционного выделения 3-х основных вариантов распределения AgNoRs (ядрышковый, внеядрышковый диссоциированный, смешанный) мы на основании предварительного анализа микропрепаратов выделили 5 типов: I – только внутриядрышковое расположение AgNoRs при одном ядрышке в гепатоцитах; II – внутриядрышковое при одном ядрышке и внеядрышковое расположение AgNoRs; III – только внеядрышковое диссоциированное расположение AgNoRs; IV – внутриядрышковое при 2-х ядрышках; V – внутриядрышковое при 2-х ядрышках и внеядрышковое.

В 10 контрольных наблюдениях (без диагностированной патологии печени) выявлены только первые 3 типа распределения AgNORs с преобладанием (53,3 %) первого. Второй и третий типы представлены примерно в равной доле (20,0 и 26,7 % соответственно).

Во всех группах цирроза печени были выявлены все 5 типов распределения AgNORs с отличиями в зависимости от этиологии заболевания. В группе алкогольного цирроза оценено 1209 гепатоцитов, при вирусном – 668, при смешанном – 780.

При всех вариантах цирроза наблюдается достоверное и значительное уменьшение количества одноядрышковых гепатоцитов с внутриядрышковым расположением AgNORs, увеличивается степень их дисперсности. Увеличивается количество гепатоцитов II типа, в большей степени при алкогольном и смешанном циррозах. Количество гепатоцитов с распределением AgNORs III типа увеличивается в ряду: алкоголь-

ный цирроз – вирусный – смешанный

Соотношение количества гепатоцитов с диспергированным типом распределения AgNORs (II, III, V) к количеству с недиспергированным (I, IV) – коэффициент диспергированности, дает более полное представление о количестве AgNORs, чем анализ спектра распределения гепатоцитов различных типов. В контроле оно оказалось равным 0,87; при алкогольном циррозе – 1,69; при вирусном – 1,42; при смешанном – 2,75.

Среднее количество внеядрышковых гранул AgNORs на ядро составило 0,33 в контроле, 1,45 при алкогольном циррозе, 1,15 при вирусном, 1,44 при смешанном.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Сопоставление приведенных двух показателей свидетельствует о том, что при смешанном (вирусно-алкогольном) циррозе печени AgNORs характеризуются наибольшей диспергированностью. При алкогольном циррозе степень диспергированности AgNORs меньше, но среднее количество их на ядро также наибольшее. При вирусном циррозе и количество AgNORs, и степень их диспергированности наименьшие в сравнении с двумя другими этиологическими вариантами заболевания.

С одной стороны, это в очередной раз свидетельствует о наиболее выраженной тенденции развития диспластических изменений гепатоцитов при смешанной (вирусно-алкогольной) этиологии цирроза. С другой, меньшее количество AgNORs и меньшая степень их диспергированности при вирусном циррозе может быть следствием превалирования экспрессии вирусспецифических белков с подавлением собственной синтетической активности гепатоцитов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Автандилов Г.Г.* Медицинская морфометрия: руководство. – М.: Медицина, 1990. – 384 с.
2. *Левитан Б.Н., Дедов А.В.* // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. – 2002. – № 1. – С. 76–79.
3. *Серов В.В.* // Арх. патол. – 1999. – № 1. – С. 54–57.
4. *Серов В.В., Воинова Л.В.* // Арх. патол. – 2000. – № 2. – С. 41–44.
5. *Смирнов О.А., Насыров Р.А., Радченко В.Г.* и др. // Арх. патол. – 2002. – № 3. – С. 3–6.
6. *Хазанов А.И.* // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктол. – 2002. – № 2. – С. 6–15.
7. *Шмурун Р.И.* // Арх. патол. – 1998. – № 3. – С. 350–353.

*Benyavsky M.V., Dolzhikov A.A.* Quantitative pathomorphology of hepatocytes in liver cirrhosis // Vestnik of Volgograd State Medical University. – 2005. – № 1. – P. 8–11.

The aim of this study was to establish the most important structural changes of hepatic cells in liver cirrhosis, using morphometry of nuclei, nucleolar apparatus with systemic mathematical analysis. The material was taken from 95 autopsy cases. Data of quantitative analysis suggest high diagnostic value of karyometry and nucleolar organizer regions quantification for revealing the cause of liver cirrhosis.