

11. Шаврин А. П., Головской Б. В. // Клиницист. — 2011. — № 4. — С. 17—21.
12. Holmes T. H., Rahe R. H. // J. Psychosom. Res. — 1967. — Vol. 11. — P. 213—218.
13. Canau A., Devereux R. V., Roman M. J. // J. Amer. Coll. Cardiol. — 1992. — Vol. 19. — P. 1550—1558.

Контактная информация

Бастриков Олег Юрьевич — к. м. н., доцент кафедры внутренних болезней и военно-полевой терапии, Южно-Уральский государственный медицинский университет, e-mail: obastrikov@yandex.ru

К ВОПРОСУ СТАНДАРТИЗАЦИИ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ОЦЕНКИ БИОПТАТОВ ПЕЧЕНИ ПРИ РАДИОЧАСТОТНОЙ АБЛАЦИИ

Е. Г. Спиридонов, А. В. Смирнов, В. В. Яцышен, О. Ю. Евсюков, Е. С. Алейникова

Волгоградский государственный медицинский университет

В работе представлены результаты качественного и количественного изучения структурных преобразований ткани печени при применении радиочастотной абляции. Предложены классификационные критерии, позволяющие оценить характер морфологических преобразований при лучевом воздействии с учетом повреждения и компенсации.

Ключевые слова: радиочастотная абляция, морфологическая стандартизация, биоптаты печени.

TO THE QUESTION OF THE STANDARTIZATION OF MORPHOLOGICAL EVALUATION OF THE LIVER BIOPSY MATERIAL BY RADIO FREQUENCY ABLATION

E. G. Spiridonov, A. V. Smirnov, V. V. Yatsishen, O. U. Evsiukov, E. S. Aleinikova

The work presents results of qualitative and quantitative studies of structural changes of the liver tissue using radio frequency ablation. There are classified criteria given which provide a means of evaluating the nature of morphological changes in radiation exposure taking into consideration the damage and compensation.

Key words: radiofrequency ablation, morphological standardization, liver biopsy material.

В настоящее время актуальной задачей патологической анатомии является разработка стандартизированного подхода к морфологическому исследованию и интерпретации полученных результатов [4]. Особый интерес представляет интегральный морфологический анализ данных, полученных при применении современных малоинвазивных способов лечения метастатического и первичного опухолевого поражения печени, в частности, методом локальной деструкции зон поражения радиочастотной термоабляцией (РЧА). Под радиочастотной абляцией (РЧА) понимают деструкцию тканей, возникающую под воздействием электромагнитной волны, колеблющейся с частотой от 300 до 500 кГц. Физические параметры излучения достаточны для образования молекулярного фрикционного тепла, но не вызывают нейро-мышечной стимуляции и не вызывают ионизирующего излучения. Оптимальной считается температура нагрева тканей до 60 °С, при которой происходит практически мгновенная гибель клеток с разрушением микроциркуляторного русла. РЧА, как и химиотерапия, является одним из компонентом локорегиональной терапии, включающей комплексное воздействие на опухоль, и рекомендована ВОЗ, Международным противораковым союзом, National Comprehensive Cancer Network (NCCN), 2010, США. В исследованиях [2, 3] отмечено, что слабо изученными в плане морфологи-

ческой диагностики остаются оценка полноты деструкции опухолевых очагов в зависимости от их тканевой структуры, морфологические изменения ткани печени в непосредственной близости от места приложения РЧА, системные эффекты метода.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Разработка структурного стандартизированного подхода к морфологическому исследованию, позволяющего в общем виде решать задачи морфологического анализа биоптатов печени после РЧА воздействия с учетом соотношения процессов повреждения и компенсации, сосудистых реакций и адаптивных преобразований стромы.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использован генератор Cool-tip RF Ablation System с игольчатым охлаждаемым электродом. Генератор имеет максимальную мощность 200 Вт при частоте 480 кГц и систему управления по импедансу. Значения импеданса могут колебаться в пределах от 25 до 1000 Ом. Особенностью данного генератора является возможность изменения конечных параметров абляции путем изменения времени воздействия, мощности излучения и температуры рабочей части электрода, то есть создание определенных режимов работы.

Для определения оптимального режима РЧ-воздействия аппаратом Cool-tip RF Ablation System и возможности экстраполяции полученных данных на организм человека проведена оценка изменений в ткани печени, подвергнутой радиочастотному воздействию в различных условиях. Отобраны кролики породы стандартная шиншилла массой от трех до пяти кг, средний вес животного составил $(4,1 \pm 0,6)$ кг. В серии экспериментов под наркозом выполняли срединную лапаротомию, непосредственно под печень помещали стандартный пассивный «обратный» электрод от РЧ-генератора. В паренхиме печени погружали активный игольчатый охлаждаемый электрод на глубину 25 мм. В условиях сохранившегося кровообращения в режиме ручного управления проводили РЧ-воздействие в течение одной, пяти, десяти минут. Температура охлаждающей жидкости составила 2°C , что соответствовало рекомендуемым параметрам фирмы-производителя оборудования. По окончании эксперимента животное умерщвляли, создавая воздушную эмболию. Непосредственно сразу по окончании воздействия печень извлекали, проводили необходимые измерения и фиксировали орган формалином. Всего выполнено 24 процедуры абляции при средней мощности работы генератора.

Для качественной и количественной оценки изменений в ткани печени срезы производили перпендикулярно направлению введения электрода, в трех сформированных концентрических зонах — в центре радиочастотного воздействия, в непосредственной близости от центрального очага, а также на расстоянии 1,0 см от него. Для адекватного выявления структурных изменений в печени необходимо строго соблюдать методы фиксации биопсийного материала в фиксирующих растворах. Наиболее адекватной считаем фиксацию в нейтральном ($\text{pH} = 7,4$) забуференном растворе формалина в течение 2 ч при комнатной температуре или жидкости Боуэна (4—6 ч при комнатной температуре). Далее материал обезживали, заливали в парафин по общепринятой методике и изготавливали срезы толщиной 3—5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином, пикриновой кислотой и кислым фуксином по Ван Гизону. Для анализа результатов исследования использованы возможности методов описательной статистики LibreOfficeCalc 3.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При макроскопическом изучении ткани печени при РЧА с разным временем экспозиции излучения отмечен стереотипный характер изменений, заключающихся в формировании трех овально-концентрических зон с четкими разделяющими границами, — темно-коричневой центральной зоны, сформированной в месте непосредственного воздействия канала электрода, желто-серой промежуточной зоны, буровато-коричневой периферической зоны (рис. 1).

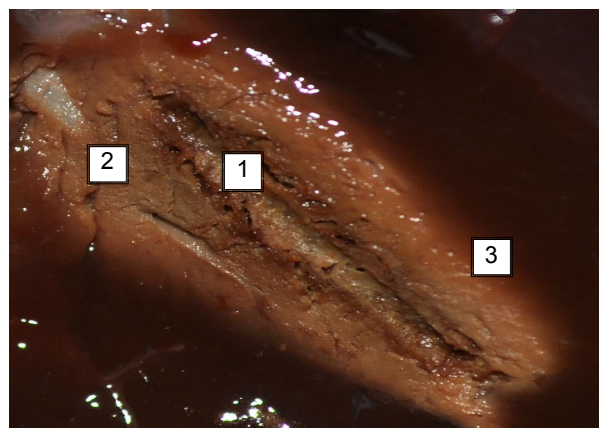


Рис. 1. Макроскопическая картина печени при РЧА-воздействии: 1 — канал электрода, 2 — промежуточная зона, 3 — периферическая зона

При микроскопическом исследовании установлено, что степень выраженности повреждения печеночных клеток и их микроокружения находится в прямой зависимости от времени экспозиции лучевого воздействия. При РЧА с минимальной временной экспозицией лучевого воздействия отмечается слабо выраженная дилатация синусоидов в центральной зоне лучевого воздействия (максимальный диаметр формирующейся кавернозно-подобной полости не превышает пяти поперечных размеров цитоплазмы гепатоцитов этой зоны), отмечаются признаки очагового коагуляционного некроза отдельных клеток в самом центре очага, тогда как в периферической и промежуточной зонах ткань печени полностью сохраняет свою гистоангиоархитектонику (рис. 2). С увеличением времени воздействия отмечаются следующие преобразования ткани печени: центральную зону составляют очаги коагуляционного некроза гепатоцитов, окруженные кавернозно-расширенными синусоидными капиллярами с частичной или полной десквамацией эндотелиоцитов, деформированными печеночными балками (рис. 3). В промежуточной зоне наблюдается неравномерная дисконфлексация печеночных балок, запустевание перисинусоидальных пространств, стазы эритроцитов в синусоидных капиллярах, цитоплазма печеночных клеток гомогенизирована, ядра некоторых гепатоцитов сморщены, отмечается очаговый кариорексис и кариолизис. В периферической зоне — межлочный отек, стазы эритроцитов и лейкоцитов в синусоидах, ядра гепатоцитов овальной формы, цитоплазма печеночных клеток с характерной зернистостью (рис. 4). Для оценки степени выраженности повреждения структурных компонентов печеночной ткани в трех зонах выполнено морфометрическое исследование с использованием следующих параметров: относительная площадь коагуляционного некроза центральной зоны, наибольшая площадь кавернозно-подобной полости в центральной зоне, относительная площадь необратимо поврежденных гепатоцитов в промежуточной и периферической зонах (табл. 1, 2).

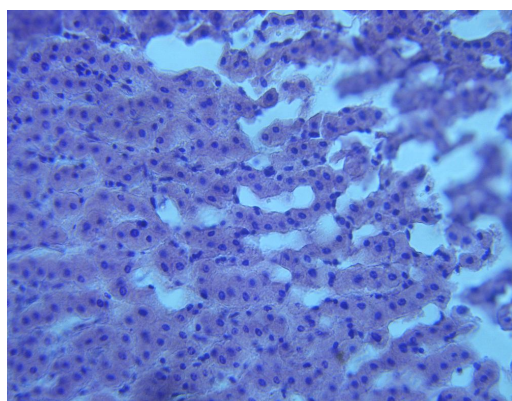


Рис. 2. РЧА в течение 1 мин, начало формирования кавернозно-подобных полостей, минимальное повреждение гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 400$

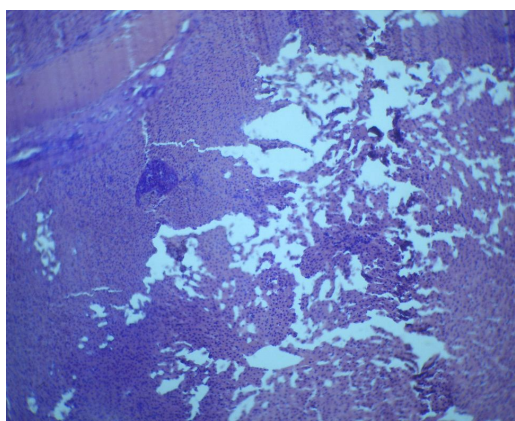


Рис. 4. Диссоциация балочного строения, эритроцитарный тромб в вене портального тракта, массивная дезорганизация гепатоцитов в центральной зоне. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$

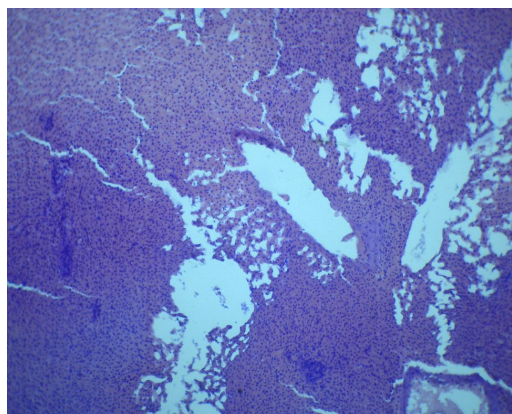


Рис. 3. Сформированные кавернозно-подобные очаги, коагуляционное повреждение гепатоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, ув. $\times 200$

В соответствии с характером и степенью структурных изменений предлагается описательный алгоритм, позволяющий унифицировать систему оценки морфологических преобразований печеночной ткани при лучевом воздействии [7]. В качестве морфологических критериев степени ответа печеночной ткани на радиочастотное воздействие предлагается следующая система оценки: G — критерии изменения общего плана строения (гистоархитектоники), к ним относим следующие параметры: балочное строение, стромально-паренхиматозные взаимоотношения, соотношение зон деструкции и неизменной печеночной ткани; А — критерии, отражающие изменения сосудистого русла в их связи с гистоархитектоникой, к ним относим: состояние синусоидных капилляров (степень дилатации, заполнения клеточными

Таблица 1

Средние показатели очага абляции при различных режимах радиочастотного воздействия

Режим работы	Относительная площадь коагуляционного повреждения центральной зоны, %	Наибольшая площадь кавернозно-подобной полости, мкм^2	Относительная площадь поврежденных гепатоцитов в промежуточной зоне, %	Относительная площадь поврежденных гепатоцитов в периферической зоне, %
Минимальный	$2,77 \pm 0,09$	$321,29 \pm 12,40$	$1,93 \pm 0,07$	$0,64 \pm 0,01$
Средний	$14,66 \pm 3,1$	$4100,79 \pm 21,20$	$8,63 \pm 2,30$	$3,40 \pm 0,04$
Максимальный	$6,40 \pm 1,07$	$1129,03 \pm 9,50$	$1,96 \pm 0,05$	$1,13 \pm 0,02$

Таблица 2

Средние показатели гистологической оценки очага абляции при различных режимах радиочастотного воздействия

Режим работы	Относительная площадь коагуляционного повреждения центральной зоны, %	Наибольшая площадь кавернозно-подобной полости, мкм^2	Относительная площадь поврежденных гепатоцитов в промежуточной зоне, %	Относительная площадь поврежденных гепатоцитов в периферической зоне, %
Ручной	$7,94 \pm 1,90$	$1850,37 \pm 12,40$	$4,17 \pm 0,06$	$1,72 \pm 0,03$
Автоматически регулируемый	$2,94 \pm 0,09$	$2069,37 \pm 27,90$	$2,70 \pm 0,03$	$1,63 \pm 0,03$

Примечание. Центральная зона — зона печеночной ткани в непосредственной близости от помещения электрода РЧА, промежуточная зона — макроскопически визуализируемая кольцевидная область желтовато-коричневого цвета в окружности центральной зоны, периферическая зона — концентрическая область шириной 1 см около промежуточной зоны.

элементами, экссудатом), центральные вены и перипортальный сосудистый сегмент, состояние портального кровотока (артериол, венул и лимфатических капилляров); S — так называемые «малые» критерии, уточняющие и дополняющие суть первых двух групп, к ним относим: размеры и форма гепатоцитов, состояние цитоплазмы гепатоцитов (наличие/отсутствие вакуолизации и/или зернистости), ядра гепатоцитов (размеры, число,

форма, состояние субнуклеарного материала), состояние эндотелия сосудов (синусоидов, портальных), другие (размеры, число, локализация фон Купферовских макрофагов, pit-клеток, клеток Ито и др.) (табл. 3—5).

На основании предложенных классификаций в проведенном исследовании оптимальным можно считать средний режим РЧА, что соответствует G2A1-2-S1 по классификационным критериям.

Таблица 3

Характеристика критериев G при РЧА печени

Критерий G	Морфология повреждений	Морфология компенсации
G1	Ткань печени сохраняет типичное балочное строение, портальные тракты расположены в углах классической печеночной доли. Относительная площадь зоны деструкции не превышает 20 % в центральной зоне РЧА-воздействия, 10 % и 5 % в промежуточной и периферической зонах соответственно	Компенсаторные реакции выражены слабо, общий план соотношения стромы и паренхимы сохранен
G2	Балочное строение частично нарушено за счет увеличения относительной площади деструкции печеночной ткани в центральной зоне РЧА-воздействия до 30 %, в промежуточной и периферической зонах — до 20 % и 10 % соответственно	Умеренный склероз портальной и внутридольковой стромы с частичной дезорганизацией типичного балочного строения
G3	Балочное строение нарушено за счет увеличения относительной площади деструкции печеночной ткани в центральной зоне РЧА-воздействия до 40-50 %, в промежуточной и периферической зонах — до 30 % и 20 % соответственно	Выраженные признаки компенсации в виде активации регенерации гепатоцитов и диффузного склероза стромы
G4	Дискомплекса́ция печеночных балок за счет формирования бесструктурных масс в центральной зоне РЧА-воздействия, увеличение степени дезорганизации ткани в промежуточной и периферической зонах более 40 %	Цирротическая дезорганизация печеночной ткани

Таблица 4

Характеристика критериев A при РЧА печени

Критерий A	Морфология повреждений	Морфология компенсации
A1	Синусоидные капилляры умеренно расширены в центральной зоне, заполнены единичными спущенными клеточными элементами в состоянии коагуляционного некроза, эритроцитами. Умеренно выраженное полнокровие центральных вен. Портальные сосуды обычного строения.	Очаговая капилляризация синусоидов в центральной зоне
A2	Синусоидные капилляры расширены в центральной зоне с формированием кавернозно-подобных полостей, частично выстланных уплощенными эндотелиоцитами, заполнены спущенными клеточными элементами в состоянии коагуляционного некроза, эритроцитами, эозинофильным экссудатом. Центрилобулярные фокальные очаги деструкции и кровоизлияния.	Начало формирования портокавальных анастомозов в склерозированной строме, выраженная капилляризация внутридольковых синусоидов
A3	Резкая дилатация кавернозно-подобных полостей с их очаговой деструкцией, заполнение их дериватами фибрина, желчным пигментом, эритроцитами, коагулированными клеточными элементами. Центрилобулярные кровоизлияния.	Склеротическое замещение полостей, полная перестройка сосудистого русла, организация внутрисплетных тромбов
A4	Бесструктурные массы в центральной зоне РЧА-воздействия.	Портокавальное шунтирование во всех зонах на фоне цирротической трансформации

Характеристика малых критериев при РЧА печени

Критерий S	Морфология повреждений	Морфология компенсации
S1	Слабо выраженная деформация гепатоцитов с сохранением контурной целостности клеточной мембраны, неоднородность цитоплазмы за счет диффузной зернистости и мелкоочаговой вакуолизации, гиперхромия ядер в отдельных клетках.	Очаговая гиперплазия и гипертрофия гепатоцитов печеночных балок в промежуточной и периферической зонах
S2	Сглаженность клеточных границ, деформация клеток (неровные контуры), неоднородность цитоплазмы за счет очаговой вакуолизации. Увеличение количества гепатоцитов с гиперхромными ядрами.	Усиление гиперплазии и гипертрофии гепатоцитов в промежуточной и периферической зонах, увеличение ядерно-цитоплазматического отношения, повышение митотической активности гепатоцитов
S3	Деформация и отсутствие четкости мембран клеток, многие клетки расположены беспорядочно, с гомогенной темной цитоплазмой и сморщенным или лапчатым ядром.	Усиление гиперплазии и гипертрофии гепатоцитов во всех зонах, активация межклеточных коопераций между гепатоцитами, мононуклеарными клетками, фибробластами, эндотелиоцитами
S4	Бесструктурные массы клеточных элементов и обломков их ядер с фибрином, эритроцитами.	Нарушения регенерации гепатоцитов, пролиферация резидентных макрофагов, активация NK-клеток

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложенные критерии позволяют оценить степень изменения гисто- и ангио-архитектоники, структурно-паренхиматозные взаимоотношения при повреждениях печени, связанных с радиоволновым воздействием и процессами его компенсации. Предложенная нами расширенная классификация позволяет использовать встроенный алгоритм практической оценки изучаемого метода в условиях применения различных видов радиочастотного воздействия на ткань печени.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борсуков А. В., Алибегов Р. А., Андреева О. В. и др. Малоинвазивный электрохимический лизис в гепатологии, маммологии, урологии, эндокринологии. — М.: «Мед-практика-М», 2008. — 316 с

2. Куликовский В. Ф. и др. // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». — 2005. — № 4. — С. 38—44.

3. Куликовский В. Ф., Набережный Д. И. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. — 2009. — Т. 2, № 1. — С. 51—59.

4. Снигур Г. Л., Смирнов А. В. // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. — 2010. — Вып. 3 (35). — С. 112—115.

Контактная информация

Спиридонов Евгений Геннадиевич — к. м. н., асс. кафедры факультетской хирургии с курсом эндоскопии и эндоскопической хирургии ФУВ и с курсом сердечно-сосудистой хирургии ФУВ, Волгоградский государственный медицинский университет, e-mail: seg-s@mail.ru