

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Количественные геометрические и качественные показатели очага волнового воздействия зависят от вида применяемого генератора, его режима работы, мощности и плотности поглощенной энергии тканями.

Максимально возможное увеличение мощности МВА до 45 W приводит к закономерному максимальному увеличению выходных параметров работы генератора при низком уровне плотности экспозиционной энергии.

Максимально возможный уровень изменения морфометрических параметров очага абляции при МВА отмечен в диапазоне экспозиционной энергии от 12800 до 14400 Дж, что соответствует мощности 40 и 45 W.

Применение РЧА в автоматическом режиме позволяет получить наибольший объем поврежденных тканей при минимально возможных качественных характеристиках зоны поражения. Предпочтительнее использовать РЧА в режиме ручного управления.

К наиболее выраженному повреждению ткани МВА приводит при относительно невысоких показателях поглощенной энергии с низкой плотностью. Эти по-

казатели сопоставимы с результатами применения РЧА в режиме ручного управления.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бебуришвили А. Г., Зюбина, Е. Н., Спиридонов Е. Г. и др. // Вестник ВолгГМУ. — 2013. — № 2 (46). — С. 78—86.
2. Спиридонов Е. Г., Смирнов А. В., Яцышен В. В. и др. // Вестник ВолгГМУ. — 2013. — № 3 (47). — С. 95—99.
3. Сидоров Д. В., Гришин Н. А., Ложкин М. В. и др. // Онкохирургия. — 2012. — Т. 4, № 1. — С. 50—54.
4. Сидоров Д. В., Степанов С. О., Гришин Н. А. и др. // Онкология. — 2013. — № 2. — С. 27—31.
5. Andreano A., Lee F. T., Brace C., et al. // Medical physics. — 2010. — Vol. 6, № 37. — P. 2967—2973.
6. Brace C. L. // Critical reviews in biomedical engineering. — 2010. — Vol. 38, № 1. — P. 65—78.

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, ВолгГМУ, e-mail: seg-s@mail.ru

УДК 57.089.615.616-092.9

ГИСТОХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ТКАНИ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ФИБРОЗЕ ХИМИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА

Ю. И. Великородная, А. Я. Почепцов

Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии, Волгоград

Было проведено моделирование фиброза печени, индуцированного четыреххлористым углеродом и этанолом. Обнаруженные изменения в гистоэнзимологическом профиле печеночной ткани свидетельствуют о метаболических сдвигах в гепатоцитах в сторону усиления процессов аэробного гликолиза.

Ключевые слова: фиброз, печень, гистохимический анализ.

HISTOCHEMICAL ANALYSIS OF HEPATIC TISSUE IN EXPERIMENT ON AN ANIMAL MODEL OF CHEMICAL-INDUCED HEPATIC FIBROSIS

Yu. I. Velikorodnaya, A. Ya. Pochepstov

Chemical-induced hepatic fibrosis was induced with carbon tetrachloride and ethanol. The observed changes in histochemical profile of hepatic tissue indicate metabolic changes in hepatocytes in the direction of strengthening of aerobic glycolysis processes.

Key words: fibrosis, liver, histochemical analysis.

Фиброз печени — широко распространенное заболевание, одной из причин которого является хроническая интоксикация [3]. Среди токсикантов, обладающих гепатотоксическим и фибротическим действием находятся хлорированные углеводороды, спирты, альдегиды и другие соединения. Данное заболевание сопровождается снижением всех основных функций органа, а при прогрессировании трансформируется в цирроз с дальнейшей малигнизацией.

Значительное место в диагностике и оценке эффективности терапии при фиброзе печени занимают

исследования молекулярных механизмов образования внеклеточного матрикса, регулирование скорости его синтеза и деградации. В клинической и экспериментальной практике используют несколько биомаркеров фиброза печени, определяемых в плазме крови [1].

Однако изменение гистоэнзимологического профиля печени не всегда коррелирует с биохимическими параметрами сыворотки крови. Применение гистохимических методов позволяет выявить количественные изменения, происходящие с ферментами и субстратами

в неразрывной связи с клеточными или тканевыми структурами исследуемого органа.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение направленности метаболических путей в печеночной ткани при экспериментальном фиброзе печени химического генеза с применением гистохимических методов.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Моделирование фиброза печени

Эксперимент проводили на беспородных белых крысах-самцах весом 220—270 г. Крыс содержали в клетках по 8 особей в каждой в помещениях с искусственным освещением (8.00—20.00 ч. — свет, 20.00—8.00 ч. — темнота) при 20—22 °С в условиях свободного доступа к воде и пище. Животные были поделены на две группы: контроль и опыт.

При моделировании фиброза печени на белых крысах принималось во внимание наличие у них мощной репаративной системы, поэтому первостепенное значение придавалось стойкости фибротических изменений [4, 5]. В связи с этим нами была выбрана модель фиброза с хроническим введением четыреххлористого углерода (ЧХУ) на фоне постоянной алкоголизации. Эксперимент проводили по следующей схеме. За 7 дней до начала введения ЧХУ животным в качестве питья начинали давать 5%-й водный раствор этанола *ad libitum*. Раствор ЧХУ в растительном масле в соотношении 1:3 вводили внутривентрикулярно через зонд дважды в неделю в дозе 0,1 мл/100 г массы тела в течение 8 недель. В течение всего периода индуцирования фиброза печени крысам в качестве питья давали 5%-й раствор этанола. По данным патогистологического исследования, у подопытных животных развивался выраженный фиброз печени с наличием порто-портальных и порто-центральных септ и образованием ложных долек (рис. 1). Степень фиброза печени по шкале METAVIR составляла 3 балла.

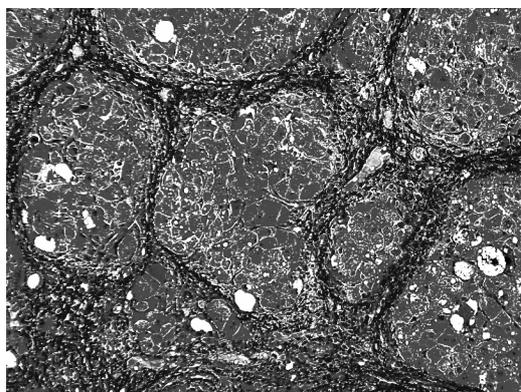


Рис. 1. Ткань печени крысы через 8 недель после начала эксперимента. Фиброзные порто-портальные и порто-центральные септы. Образование ложных долек. Баллонная дистрофия гепатоцитов. Окраска по Masson. Исходное увеличение $\times 100$

2. Гистохимическое исследование

Материалом для гистохимического исследования служила ткань печени интактных и подопытных животных.

Образцы тканей подопытных и контрольных животных, предназначенные для гистохимического исследования, помещали на один блок, замораживали при температуре -18—20 °С и резали в криостате. Полученные срезы монтировали на одно предметное стекло и инкубировали. В данной работе были использованы следующие методы: определение активности щелочной фосфатазы (ЩФ), кислой фосфатазы (КФ), сукцинатдегидрогеназы (СДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), малатдегидрогеназы (МДГ), цитохромоксидазы (ЦХО), липазы, а также определение содержания гликогена и нейтральных липидов [2].

Полученные препараты изучали и фотографировали с помощью микроскопа AxioScopeA1 (Zeiss), оборудованного цифровой камерой AxioCam MRc5 и обрабатывали в программе ZENpro 2011 (Zeiss). Активность гистохимических реакций определялась в условных единицах как $\text{Log}_{10}(F_{\text{in}}/F_{\text{out}})$ в 4 полях зрения. Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы Statistica 7.0 с использованием непараметрического U-критерия Манна-Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гистохимический анализ показал достоверное увеличение активности ЩФ, липазы, ЦХО, а также СДГ и МДГ (табл., рис. 2). При этом уровень гликогена и активность КФ и ЛДГ оставались неизменными (статистически незначимыми). Также отмечали мелкокапельный стеатоз гепатоцитов по периферии печеночных долек (рис. 3).

Изменение активности ферментов в ткани печени при экспериментальном фиброзе ($M \pm \sigma$)

Исследуемый параметр	Контроль	Опыт
Гликоген	0,343 \pm 0,041	0,335 \pm 0,028
Липаза	0,250 \pm 0,071	0,334 \pm 0,081* \uparrow
МДГ	0,366 \pm 0,070	0,484 \pm 0,052* \uparrow
СДГ	0,572 \pm 0,070	0,690 \pm 0,053* \uparrow
ЛДГ	0,583 \pm 0,122	0,608 \pm 0,076
ЦХО	0,506 \pm 0,040	0,534 \pm 0,035* \uparrow
КФ	0,498 \pm 0,054	0,524 \pm 0,055
ЩФ	0,172 \pm 0,017	0,231 \pm 0,032* \uparrow

* $p < 0,01$.

Активация ЩФ, являющейся маркерным ферментом желчных протоков, свидетельствовала об ее избыточном накоплении в гепатоцитах вследствие нарушения экскреции данного фермента в систему желчных протоков. Причиной этого могла являться как внутриклеточная патология гепатоцитов, так и деформация архитектоники билиарных сосудов при фиброзе печени.

Увеличение активности липазы в сочетании с неизменным уровнем гликогена служило признаком того, что в качестве биоэнергетического ресурса гепатоцитов были задействованы липиды, накапливающиеся в паренхиме печени.

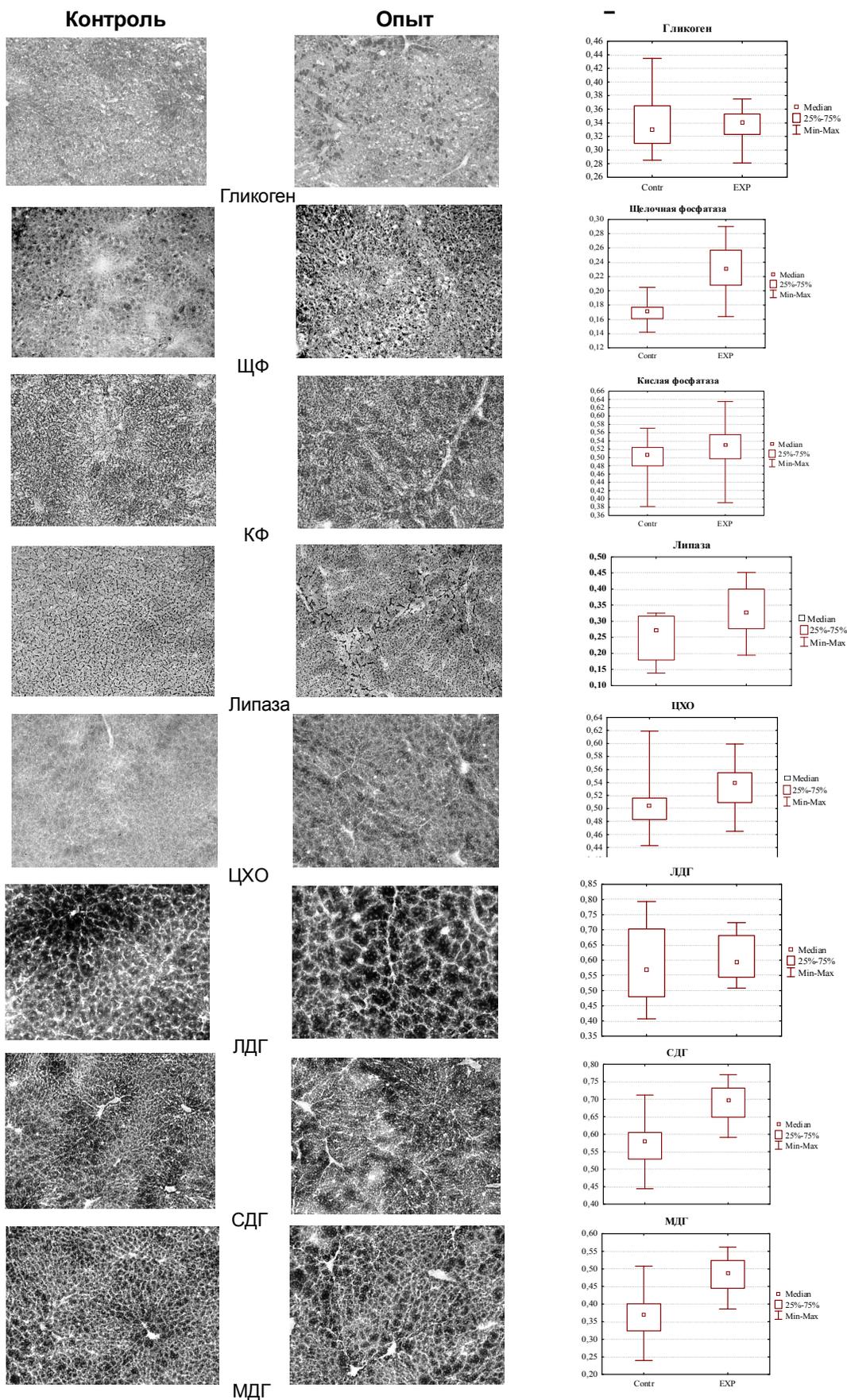


Рис. 2. Изменение гистохимического профиля ткани печени крыс при экспериментальном фиброзе печени. Исходное увеличение x100



Рис. 3. Хроническая интоксикация ЧХУ в течение 8 недель. Стеатоз гепатоцитов, расположенных по периферии печеночной дольки. Окраска Суданом III-IV. Исходное увеличение $\times 100$

Отсутствовали изменения в активности ЛДГ, которая катализирует реакцию восстановления пировиноградной кислоты до лактата в отсутствие кислорода, следовательно, весь пируват, образовавшийся при расщеплении триглицеридов, поступал в цикл Кребса. Косвенным признаком усиления цикла трикарбоновых кислот являлось одновременное увеличение активности СДГ (20%) и ЦХО (5,5%), которые имеют исключительно митохондриальную локализацию, а также МДГ (на 32%), присутствующей в клетке в виде цитозольного и митохондриального изоферментов.

При изучении гистохимических препаратов обращало на себя внимание, что кроме количественного увеличения активности ферментов происходили изменения в топографии их распределения в паренхиме печени. Так, если у интактных животных участки с вы-

сокой биохимической активностью локализовались в центральной части печеночной дольки, то у животных с индуцированным фиброзом происходило смещение энзиматической активности в гепатоцитах к периферии печеночных долек, где они обнаруживались в областях, непосредственно прилегающих к септам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о значительных метаболических сдвигах в гепатоцитах при экспериментальном фиброзе печени химического генеза в сторону активации процессов аэробного гликолиза с перемещением зон наибольшей метаболической активности гепатоцитов к периферии печеночных долек.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вельков В. В. Сывороточные биомаркеры фиброза печени: до свидания, биопсия. — М.: Lomonosoff Print, 2009. — 40 с.
2. Кононский А. И. Гистохимия. — Киев.: Вища школа, 1976. — 178 с.
3. Курышева Л. Н // Русский медицинский журнал. — 2010. — № 18 (28). — С. 1713—1714.
4. Iredale J. P. // J. Clin. Invest. — 2007. — Vol. 117. — P. 539—548.
5. Iredale J. P., Benyon R. C., Pickering J., McCullen M., et al. // J. Clin. Invest. — 1998. — Vol. 102 (3). — P. 538—549.

Контактная информация

Почепцов Александр Яковлевич — заведующий лабораторией патоморфологии, ФГУП «Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии и профпатологии» ФМБА России, e-mail: pochepcov@rihtop.ru.