

А.Н. Плеханов¹, С.П. Чикотеев³, Л.Ю. Раевская⁴, О.А. Гольдберг², О.В. Кания⁵

ПРОГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ИЗУЧЕНИЯ МОРФОСТРУКТУРЫ ПЕЧЕНИ В РЕЗУЛЬТАТАХ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ ЕЕ ОЧАГОВЫХ ОБРАЗОВАНИЙ

¹ Бурятский филиал НЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН (Улан-Удэ)

² НЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)

³ Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

⁴ Иркутский диагностический центр (Иркутск)

⁵ Областная клиническая больница (Иркутск)

В результате исследования морфоструктуры печени определен морфологический индекс тяжести поражения печени (МИТ), позволивший выделить легкую, среднюю и тяжелую степени поражения печени. При наличии МИТ 15 баллов вероятность развития печеночной недостаточности после резекции печени составляет 100 %.

После обширной резекции печени пролиферативная активность гепатоцитов увеличивается на 2 и 5-е сутки эксперимента. Резекция печени стимулирует проапоптотический фактор.

Ключевые слова: печень, патология, морфология, прогноз

PROGNOSTICAL VALUE OF STUDYING MORPHOLOGY OF THE LIVER AS A RESULT OF SURGICAL ITS TREATMENT TUMOR

A.N. Plekhanov¹, S.P. Chikoteyev³, L.Ju. Rayevskaya⁴, O.A. Goldberg², O.V. Kania⁵

¹ Buriat Branch SC RRS ESSC SB RAMS, Ulan-Ude

² SC RRS ESSC SB RAMS, Irkutsk

³ Irkutsk State Medical University, Irkutsk

⁴ Irkutsk Diagnostic Center, Irkutsk

⁵ Regional Clinical Hospital, Irkutsk

As a result of research morphology a liver the morphological index of weight of defeat of a liver (MEATH) is determined, allowed to allocate easy, average and heavy degrees of defeat of a liver. At presence MEATH 15 points the probability of development of hepatic insufficiency after resections of a liver makes 100 %.

After an extensive resection of liver proliferative activity hepatocytes is increased by 2 and 5 day of experiment. The resection of a liver stimulates proapoptotic the factor.

Key words: liver, pathology, morphology, prognosis

В последние годы в мире развитие гепатологии привело к значительному увеличению количества радикальных операций по поводу объемных образований печени (ООП). Однако высокая частота послеоперационных осложнений (от 15 до 75 %, в среднем 38 %) [2, 5] и смертельных исходов (1–75 %) [1, 4] является серьезным препятствием для широкого внедрения этих операций.

Наиболее опасным, а нередко фатальным осложнением раннего послеоперационного периода является печеночно-клеточная недостаточность, которая проявляется, прежде всего, гибелью гепатоцитов, прогрессированием гипербилирубинемии и стойким угнетением факторов свертывания крови [3].

Установить печеночную недостаточность на ранней стадии не всегда удается. Широко используемые общепринятые методы выявляют грубые нарушения функции печени, имеющие подчас необратимый характер. В этой связи диагностика печеночной недостаточности, прогноз ее развития в послеоперационном периоде должны основываться не столько на клинических, сколько на морфологических данных, позволяющих в перспективе оценивать резервные возможности печени.

Вышесказанное побудило нас провести исследование морфоструктуры печени для выявления наиболее значимых прогностических признаков неблагоприятного исхода оперативного вмешательства на печени, особенно при выполнении обширных резекций.

Цель исследования: изучить морфоструктурное состояние печени у больных с объемными образованиями для определения прогноза и коррекции печеночной недостаточности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть работы выполнялась крысах, которым выполнена обширная резекция печени в объеме (70 %), и, тем самым, моделировалась печеночная недостаточность. В эксперименте были использованы крысы-самцы породы Вистар в возрасте не менее 6 месяцев с массой тела 200–250 г. Животных содержали в условиях вивария при свободном доступе к пище и воде на рационе питания, соответствующем нормативам ГОСТа.

Клиническая часть включала исследование морфоструктуры печени у больных с различными очаговыми образованиями.

Морфологические изменения печени изучали с помощью световой микроскопии и иммуноморфологического исследования. Для обзорной световой микроскопии материал фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина. На светооптическом уровне исследовали депарафинированные срезы, окрашенные гематоксилином и эозином.

Для иммуноморфологического исследования материал фиксировали в 5% нейтральном формалине в течение 24 часов с последующей заливкой в парафин. Срезы толщиной 5–7 мкм после депарафинизации нагревали в микроволновой печи при 700 W в 10 mM цитратном буфере с pH 6,0 4 раза по 5 минут. Для исследования пролиферативной активности использовали готовое к применению моноклональное антитело Ki 67, клон MM₁ (Novocastra Laboratories Ltd.). Для исследования апоптоза – поликлональное антитело Anti-Bax (BD Biosciences) в разведении 1 : 1000. Блок эндогенной пероксидазы в срезах осуществляли Peroxidase-Blocking Solution, DAKO. Визуализация – DAKO LSAB + Kit Peroxidase и DAB + Chromogen, DAKO. Для количественной оценки экспрессии подсчитывали клетки со специфическим позитивным окрашиванием ядер (Ki 67) и специфическим позитивным окрашиванием в цитоплазме (Bax) в 2000 гепатоцитов в каждом случае.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Морфоструктурные изменения печени по периферии очагового образования независимо от этиологического характера заболевания отмечались многообразием их проявлений. Для оценки степени морфологической деструкции печени были избраны 9 морфологических критериев, которые наблюдались нами при микроскопическом исследовании препаратов (дистрофии гепатоцитов, холестаза, воспалительной инфильтрации портальных трактов, разрушении пограничной пластинки, фокальных, ступенчатых, мостовидных некрозах, периполез) (табл. 1).

Нарушения функционального состояния печени морфологически связаны как с дистрофическими изменениями печеночной паренхимы, так и с прогрессирующей потерей клеточных элементов

паренхимы. В 18 наблюдениях нами была отмечена дистрофия отдельных групп гепатоцитов различной степени выраженности (вакуольная, баллонная, жировая).

В 10 случаях в микропрепаратах отмечались выраженные холестаза в виде желчных тромбов в желчных капиллярах. Они наблюдались у больных с обширными очаговыми образованиями печени, причиной которых у 3-х явилось паразитарное альвеококковое поражение печени, у 3-х – гепатоцеллюлярный рак, у 4-х – гемангиома печени.

Холестаза, по нашим данным, были связаны с нарушениями желчеобразования и желчевыделения вследствие компрессии внутривенных протоковых структур обширными очаговыми образованиями печени. Во всех этих наблюдениях они сочетались с фокальными некрозами гепатоцитов наиболее пораженных клеток

Практически у всех больных имелась воспалительная инфильтрация портальных трактов в паренхиме печени, окружающей очаговое образование. Выраженная активность процесса отмечалась в 8 наблюдениях, что коррелировало с тяжестью патологического процесса в печени, сочеталось с выраженными моноцеллюлярными некрозами в 5 случаях, а в 2 наблюдениях с холестазом. Развитие патологического процесса в печени сопровождалось разрушением пограничной пластинки. В 4 наблюдениях эти изменения были незначительные, в 6 других – более выраженные.

При микроскопическом исследовании печени у больных с ООП отмечались некрозы мостовидные, ступенчатые и моноцеллюлярные.

Мостовидные некрозы верифицированы в 7 наблюдениях. В 4 из них в послеоперационном периоде развилась тяжелой степени печеночная недостаточность, приведшая к смерти.

В 8 случаях некрозы были ступенчатые или перипортальные, сопровождающиеся воспалительной инфильтрацией портальных трактов. Отдельной формой некрозов печени, наблюдаемых нами у 17 пациентов, были моноцеллюлярные некрозы, представленные отдельными фокальными некрозами гепатоцитов.

Таблица 1

Оценка морфоструктурных изменений печени при очаговых образованиях

Морфологические факторы	Количество наблюдений
Дистрофия гепатоцитов	18
Киллерный эффект	14
Воспалительная инфильтрация портальных трактов	23
Состояние пограничной пластинки (степень разрушения)	10
Фокальные (моноцеллюлярные некрозы)	17
Перипортальные (ступенчатые некрозы)	9
Мостовидные некрозы	7
Формирование цирротических узелков (цирроз)	2
Холестаза (желчные тромбы в желчных капиллярах)	10

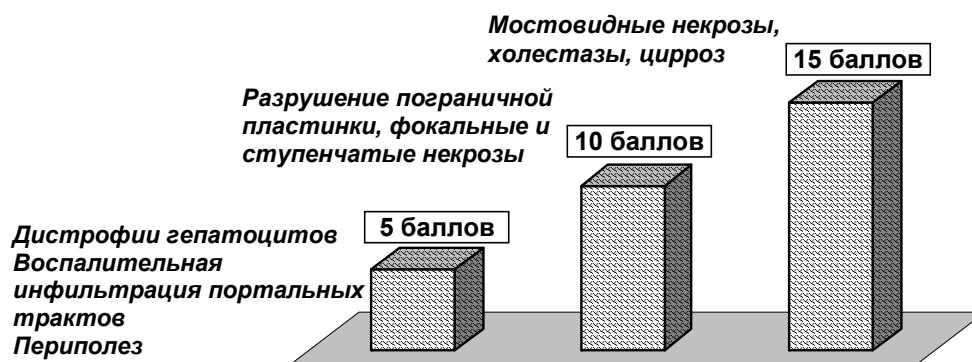


Рис. 1. Балльная система оценки выраженности морфологических изменений у больных с очаговыми образованиями печени.

Об определенной активности патологического процесса в печени и степени повреждения гепатоцитов можно судить по киллерному эффекту (периполез), который отмечался практически во всех наблюдениях независимо от этиологии ООП. И, тем не менее, все многообразие морфологических факторов, наблюдаемых нами при очаговой патологии печени, не выявило этиологических особенностей поражения печени вне опухолевого процесса.

Вышесказанное побудило нас провести исследование для выявления наиболее значимых прогностических признаков неблагоприятного исхода оперативного вмешательства на печени, особенно при выполнении обширных резекций.

При этом мы применили балльную систему оценки патологических изменений ткани печени (рис. 1).

В результате исследования определен морфологический индекс тяжести поражения печени (МИТ), позволивший выделить легкую степень (5 баллов), среднюю степень (10 баллов) и тяжелую степень поражения печени (15 баллов). При наличии воспалительной инфильтрации портальных трактов, периполеза и дистрофии гепатоцитов тяжесть поражения оценивали в 5 баллов, при присоединении фокальных и ступенчатых некрозов, а также разрушении пограничной пластинки — в 10 баллов и при наличии всех морфологических признаков — в 15 баллов.

Имелись достоверные различия в частоте печеночной недостаточности между легкой и средней степенями поражения печени, между легкой и тяжелой степенями, однако между средней и тяжелой имелись различия, но они были не достоверными (табл. 2).

При наличии МИТ 15 баллов вероятность развития печеночной недостаточности после резекций печени составляет 100 %, то есть подобная балльная градация пациентов по выраженности морфологических изменений позволила выделить группу абсолютного риска развития печеночной недостаточности (15 баллов), относительно низкого (10 баллов) и наиболее благоприятного исхода операции (5 баллов).

Наблюдение за процессом регенерации печени после обширной резекции показало увеличение массы печени к 11-м суткам эксперимента, однако, достоверных различий на 2, 5 и 11-е сутки не отмечалось. Тем не менее, митотическая активность ядер гепатоцитов достоверно изменялась в различные сроки наблюдения. Митотический индекс на 2-е сутки составил $0,375 \pm 0,085$, на 5-е сутки — $0,625 \pm 0,025$, на 11 — $0,825 \pm 0,025$ ($p_F = 0,01$). С целью определения выраженности апоптоза и пролиферативной активности гепатоцитов в ходе эксперимента нами проведено иммуноморфологическое исследование. При этом были использованы моноклональный антитело-проапоптотический фактор Вах (ингибитор bcl-2) и Ki-67 — маркер пролиферативной активности гепатоцитов.

При подсчете клеток был отмечен дисбаланс между пролиферативной активностью гепатоцитов и их апоптозом. К 5-м суткам после операции апоптоз достоверно не уменьшался (табл. 3).

Из таблицы видно, что на 2-е сутки эксперимента апоптоз преобладал над пролиферацией ($p_F = 0,02$). Аналогичные изменения были отмечены и на 5-е сутки, однако пролиферативная активность на 5-е сутки увеличивалась, а достоверные различия Вах между 2 и 5-ми сутками отсутствовали, в связи с чем различия соотношения Ki-67/Вах в эти сроки были недостоверны ($p_F = 0,3$).

На 2-е сутки Ki-67 составлял $26,5 \pm 2,5$ клеток (ДИ-18,4-34,5), на 5-е сутки — $37,7 \pm 2,4$ клеток (ДИ-29,9-45,5). Различия показателя Ki-67 были достоверны ($p_F = 0,02$). Кроме того, имелись достоверные различия этого показателя между 2, 5-ми сутками по отношению к норме ($p_F = 0,003$ и $p_F = 0,0004$ соответственно).

Показатели Вах на 2-е сутки составили $43,7 \pm 1,4$ клетки (ДИ-38,9-48,5) на 5-е $40,7 \pm 1,2$ (ДИ-36,7-44,7). Различия были статистически не достоверны ($p_F = 0,16$). Однако имелись достоверные различия этого показателя между 2, 5-ми сутками эксперимента по отношению к норме ($p_F = 0,00006$ и $p_F = 0,00008$ соответственно).

Результаты исследования показали, что после обширной резекции печени отмечалось прогрес-

Таблица 2

Прогнозирование печеночной недостаточности в зависимости от степени морфологической деструкции печени

МИТ	Количество больных	ПН	Летальность
Легкая степень (5 баллов)	12*	3 (25 %)	–
Средняя степень (10 баллов)	25**	11 (44 %)	2 (8 %)
Тяжелая степень (15 баллов)	10***	10 (100 %)	4 (40 %)

Примечание: **p* – достоверность различий между легкой и средней степенями ($p_F = 0,0006$), ** – между средней и тяжелой ($p_F > 0,05$), *** – между легкой и тяжелой ($p_F = 0,001$).

Таблица 3

Соотношение активности пролиферации и апоптоза

Сутки	Ki-67	Вах
2-е сутки	26,5 ± 2,5 клеток/1000*	43,7 ± 1,4 клетки/1000
5-е сутки	37,7 ± 2,4 клетки/1000**	40,7 ± 1,2 клеток/1000**
Норма	6,5 ± 0,6 клеток/1000***	10,0 ± 0,9 клеток/1000***

Примечание: * *p* – достоверные различия между 2 и 5-ми сутками, ** – между 5-ми сутками и нормой ($p_F < 0,05$), *** – между 2-ми сутками и нормой.

сивное увеличение пролиферативной активности гепатоцитов на 2 и 5-е сутки эксперимента. Кроме того, резекция печени стимулирует проапоптотический фактор.

ВЫВОДЫ

1. Важным и объективным прогностическим критерием при выполнении обширных резекций печени у больных с очаговыми поражениями является исследование исходного морфо-функционального состояния печени. При этом необходимо учитывать морфологический индекс тяжести поражения печени. В случае, когда его оценка составляет 15 баллов от выполнения обширных резекций печени следует воздержаться, так как прогноз исхода операции сомнительный.

2. Апоптоз, происходящий после резекции печени, является одним из механизмов гибели гепатоцитов при развитии печеночной недостаточности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fulminant hepatic failure: Summary of a workshop / J.H. Hoofnagle, R.L. Carithers, C. Shapiro et al. // *Hepatology*. – 1995. – Vol. 21. – P. 240–252.
2. Iusifoglu N.B. Prognostically significant factors of complications after liver resection / N.B. Iusifoglu // *Vestn. Khir. Im. I. I. Grek*. – 1999. – Vol. 158, N 4. – P. 97–100.
3. Limited hepatic resection for selected cirrhotic patients with primary liver cancer / T. Kanematsu, K. Takenaka, T. Matsumata et al. // *Ann. Surg.* – 1984. – Vol. 199. – P. 51–56.
4. Panis Y. Progressive necrosis after hepatectomy and the pathophysiology of liver failure after massive resection / Y. Panis, D.M. Mc. Mullan, J.C. Emond // *Surgery*. – 1997. – Vol. 121, N 2. – P. 142–149.
5. Use and outcome of liver transplantation in acetaminophen-induced acute liver failure / W. Bernal, J. Wendon, M. Rela et al. // *Hepatology*. – 1998. – Vol. 27. – P. 1050–1055.