

ЗАПАЛЬНО-РЕПАРАЦІЙНІ ПРОЦЕСИ В ПЕЧІНКІ ЗАЛЕЖНО ВІД СПОСОБУ ЇЇ РЕЗЕКЦІЇ

О.В. Малоштан, Д.І. Скорий, В.Ф. Омельченко, Н.М. Неклюдова

Інститут загальної та невідкладної хірургії АМН України

Реферат

У експерименті на кролях та свинях вивчали ступінь ушкодження печінки при її резекції за допомогою фізичних чинників: ультразвукової та електричної коагуляції, струменем стислого газу або рідини, скальпелем, роздавллюванням затискувачем. Доведено, що, незалежно від технології розтину печінки, її паренхіма у площині рани ушкоджується більше у тих випадках, коли застосовується дігітоклазія, або роздавллювання затискувачем. За оцінкою ступеню руйнації печінки її розтин за допомогою термічного чинника (електричний струм або ультразвук) є також досить агресивним. Більш ощадливою й тому перспективною виявилася технологія дисекції струменем стислого газу. Подальші запально-репараційні процеси на рановій поверхні печінки перебігали за класичною схемою - очищення від некрозу, судинна реакція, проліфераційні процеси з утворенням сполучної тканини, що закриває ранову поверхню органа. При цьому спостерігали чотири ділянки за ступенем пошкодження: некрозу, некробіозу, проліферації та втраченої диференціації.

Ключові слова: резекція печінки, дисекція печінки, ступінь ушкодження

Abstract

INFLAMMATORY-REPARATIVE PROCESSES FOLLOWING LIVER RESECTION

A.V. MALOSHTAN, D.I. SKORY, V.F. OMELCHENKO, N.N. NEKLUDOVA

Institute of General and Urgent Surgery of AMS of Ukraine

Experiments using rabbits and pigs were done to examine the degree of liver damage that occurred following liver resection as a result of physical factors, including ultrasound and electric coagulation, a jet of compressed gas or liquid, a scalpel, digitoclasia, and a crushing clamp. There was more damage to liver parenchyma when digitoclasia and the crushing clamp were applied, regardless of the liver section resected. Thermal techniques (electric current or ultrasound) also resulted in extensive damage. The degree of liver destruction with dissection using a jet of compressed gas appeared to be less; therefore, this appears to be a useful approach. The inflammatory-reparative processes that occurred at the liver wound surface followed the classical scheme, with clearing of necrosis, a vascular reaction, and proliferative processes that form connective tissue covering the liver wound surface. Four zones depending on the degree of damage were observed: necrosis, necrobiosis, proliferation, and loss of differentiation.

Key words: liver resection, liver dissection, degree of damage

Вступ

При резекції печінки для дисекції її трубчастих структур (судини, жовчні протоки) і гемостазу паренхіми застосовуються різні технології: електрична і ультразвукова коагуляція, кріодеструкція, рідинний або газовий струмінь, механічне затискування, або перев'язка лігатурою [2, 4]. Умовно всі форми дисекції можна розділити на два типи: з наявністю термічного чинника і без нього. Термічний чинник присутній при всіх видах електричної та ультразвукової коагуляції і відсутній при струменевих видах дисекції, дігітоклазії, розтині скальпелем або ножицями. При дії термічного чинника на великій площі результати пошкодження можуть мати відчутний негативний вплив не тільки на оперований орган, але і на організм в цілому [5]. Метою цього дослідження було визначення масштабів пошкодження паренхіми печінки в зоні резекційної рани.

Матеріал і методи

Як предмет вивчення запально-репараційних процесів при резекції вибрані печінка кролика і свині: дисекція скальпелем, методом роздавллювання (дігітоклазія), ультразвукова ("Sonoca 300" фірми Soring, Німеччина) і електрична коагуляція ("Високочастотний хірургічний апарат В/С/Д" фірми Karl Storz, Німеччина), а також рідинний ("Hydrojet" фірми Erbe, Німеччина) або газовий струмінь (оригінальна конструкція "Pneumojet", Україна). У лабораторних тварин (32 кролика і 15 свиней) виконували первинну резекцію печінки за допомогою технології, що вивчалася, а потім на 7-8 добу, 21-22 добу і через 6 місяців проводилася ререзекція в області первинної рани печінки з морфологічним дослідженням цієї ділянки.

Дослідження виконували мікроскопом Granum L3003, оснащеним цифровою фотовідеокамерою SCIENLAB T500 5.0MPix. Препарати забарвлювали гематоксиліном і еозином та за методом ван Гізона, проводили PAS-реакція на глікоген. Морфометричні дослідження були двох видів: тканинна морфометрія (обсяжність некрозу, ділянок запалення і репарації) та клі-

тинна (зміни внутрішньоклітинних органел). Фіксували основні морфометричні показники, що характеризують стан клітинних елементів за методами Г.Г. Автанділова (1990) [1]: кількість клітин із гіпертрофованими ядрами, розмір ядер, співвідношення їх великого і малого діаметрів, площа цитоплазми і ядра, їх периметр, ядерно-цитоплазматичне відношення, кількість мітозів, кількість двоядерних клітин, кількість нормальних клітин і які дегенерують, кількість лімфоцитів, макрофагів, еозинофілів і нейтрофілів у полі зору, об'ємна частка колагенових волокон.

Морфологічне дослідження проводили за двома напрямками: запальна реакція і печінкова репарація. Оцінку морфологічних змін проводили у 10 полях зору препарату від кожної тварини із урахуванням ступеню вираженості ознаки, яку вивчали, на всій площі зрізу, причому із кожного шматочка досліджуваної тканини виготовляли не менше 5 зрізів одного забарвлення. Як порівняння використовували біоптати цих же тканин, віддалених від місця пошкодження на відстань більше 20 мм. Операції тваринам виконували згідно із принципами біоетики за методами, рекомендованими В.П. Пішаком та співавт., (2006) [3]. Наркоз виконували кролям: ксилазін (5мг/кг) + кетамін (6-8 мг/кг), свиням: кетамін (2 мг/кг) + тіопентал натрію (15 мг/кг/час), автоназія - передозуванням.

Результати й обговорення

Не дивлячись на відмінність застосованих для дисекції або гемостазу фізичних чинників, у тканинах печінки простежено загальні закономірності подальших запально-репараційних процесів. У місцях впливу умовно виділяли чотири ділянки пошкодження: ділянка явного некрозу, ділянка некробіозу ("уявного благополуччя"), ділянка зворотних ушкоджень (проліферації) і ділянка безпосередньо прилеглих до пошкодження незмінених тканин (втраченої або мінливої диференціації).

Ділянка I - явного некрозу становила крайову ділянку ушкодження і характеризувалася повною або частковою дефрагментацією тканин із ділянками карбонізації (після коагуляції) і відсутністю клітинних елементів. Ця ділянка добре виражена відразу після пошкодження. Далі, внаслідок процесів автолізу ділянка поступово нівелювалася.

Ділянка II - некробіозу була прилегла безпосередньо до ділянки некрозу, містила гепатоцити із явищами дистрофії різного ступеню вираженості, місцями із явищами пікнозу. Візуально мало пошкоджені тканини у більшій частині ділянки видавалися зі збереженою життєздатністю. Ця ділянка також була виражена тільки протягом першого тижня після пошкодження і потім нівелювалася.

Ділянка III - проліферації характеризувалася відсутністю загибелі клітин на всіх наступних запально-репараційних стадіях процесу загоєння і була основною ділянкою проліфераційних і фібропластичних процесів. Вона була відсутня відразу після пошкодження, але добре простежувалася на 7-8 і 21-22 добу дослідження.

Ділянка IV - на межі ділянки або ділянка із нестійкою (втраченою або що змінюється) диференціацією клітин. Характеризувалася відсутністю видимих у мікроскоп ушкоджень клітин, але при проведенні морфометричних досліджень клітин у них виявляли ознаки порушення їх функціонального стану. У цій ділянці спочатку спостерігали процес дедиференціації гепатоцитів із їх проліферацією, а потім знову відбувалося диференціювання на повноцінну клітку із виконанням своїх тканинних функцій. Ця ділянка так само була відсутня відразу після ушкодження і простежувалася лише у подальших дослідженнях. Необхідність у її виділенні полягає у тому, що під час процесу запалення і репарації гепатоцити цієї ділянки не виконують свої тканинні функції, втрачаючи високий ступінь диференціювання. Це може мати клінічне значення при великих резекціях органу на тлі хронічних захворювань із функціональною недостатністю (цироз, фіброз).

Ширина перерахованих ділянок та їх вираженість змінювалася залежно від інтенсивності агресивного впливу і термінів дослідження. Безпосередньо після травми визначали лише ділянки некрозу і некробіозу. Ділянки III і IV, навпаки, не визначалися у момент ушкодження, але чітко простежувалися на наступних стадіях запалення і репарації. Загоєння пошкодженої ділянки печінки відбувалося через запалення із подальшим рубцюванням. При цьому простежувалися такі його періоди:

- переважання дистрофічних процесів із розпа-

дом і лізисом пошкоджених тканин, видалення із ранової поверхні некротичних тканин і загиблих клітин (до тижня);

- переважання проліфераційних процесів із розвитком грануляцій і репарацією печінкової тканини (1-2 тижні);

- диференціація клітин регенератів і рубцювання дефектів (до місяця).

Морфологія печінки при використанні різних способів резекції так само не була однаковою. Край ділянки печінки, що резектували газоструменевим дисектором, мав досить "рваний" вигляд, але тканина печінки була пошкоджена мало, тобто гепатоцити зберігали середньої еухромності ядро і глікоген у цитоплазмі. Проте, на 8-у добу після резекції операційна рана печінки покривалася досить товстою верствою некротичних мас із каріолізом, що були відмежовані від живої печінкової тканини верствою грануляційної тканини із початковими ознаками дозрівання. На 24-у добу спостерігали повне загоєння операційної рани із формуванням рівного рубця, проте із наявністю дифузно розташованих лімфоцитів у внутрішній верстві рубцевої тканини. При використанні газоструменевого дисектора рубець, що формувався на рані, був тонким і мало інфільтрованим макрофагами і лімфоцитами.

При використанні ультразвукового дисектора або електричного коагулятора мікроскопічне дослідження ушкодженої ділянки печінки показало наявність нерівного, "рваного" краю розсічення печінкової тканини. Окрім того, мали місце досить глибокі, різної ширини щілини під печінкову оболонку і в товщу печінкової тканини, переважно вздовж порталного тракту, а також крововиливи. Зміни були більш виражені при використанні електрокоагулятора. Через 8 діб після використання ультразвукового дисектора поверхня рани була покрита дозріваючою грануляційною тканиною із упродовженням її "відростків" у печінкову тканину, очевидно, у місця розшарування при здійсненні дисекції. У віддалених ділянках печінки відзначалося деяке зменшення морфофункціональної активності гепатоцитів, а клітини Купфера в ендотелійній вистилці синусоїдів були багаточисленні й активні. Через 3 тижні після дисекції поверхня рани покривалася зрілим рубцем, більшою части-

ною досить тонким, але місцями містила "острівці" порталної строми. Звертало увагу відшарування рубцевої тканини від печінкової тканини, що підлягала, на великій відстані, чого не відзначалося в інших варіантах дисекції. Окрім того, описані при використанні інших засобів дисекції вогнища макрофагально-лімфоцитарної інфільтрації паренхіми печінки у цьому випадку були відсутні, що можна трактувати як вияв мінімального її руйнування, що дозволяє уникнути можливості розвитку аутоімунних реакцій.

При використанні роздавлюючих затискачів у момент травми мікроскопічно край ділянки, що резектували, був сильно розмитий, із широкими розривами, особливо за контурами часточок, крововиливами і з ділянками ущільнення печінкової тканини. Використання скальпеля для резекції давало майже рівний край резектованої ділянки, найближчі верстви гепатоцитів не мали ознак пошкодження, часточки були з'єднані. Звертало увагу зняття кровоносних судин. Використання скальпеля при дослідженні видаленої тканини виглядало оптимальним.

На 7-8 добу після резекції ділянки печінки методом роздавлювання край рани печінки мав ознаки загоєння із величезними полями неорганізованої некротичної печінкової тканини. У ділянках грануляційної тканини була густа нейтрофільно-макрофагально-лімфоцитарна інфільтрація. Де-не-де були вогнища склерозу, зазвичай оточуючи невелику групу гепатоцитів із тріадою. Після резекції печінки із використанням скальпеля рана була повністю закрита широкою верствою дозріваючої грануляційної тканини із макрофагально-лімфоцитарною інфільтрацією. У товщі грануляцій відзначалося наявність "острівців" печінкової тканини. Межа між рубцем, що формувався, і печінкової тканиною була чіткою. Таким чином, загоєння післяопераційної рани на печінці при резекції шляхом роздавлювання відбувається важче, в основному, очевидно, у зв'язку із наростанням у динаміці обсягу некротичної печінкової тканини.

На 21 добу рана після роздавлювання була закрита широким рубцем. У рубцевій тканині були "печінкові острівці", багато гемосидерину. Звертала увагу наявність у печінковій тканині на великій відстані від поверхні загоєної рани вогнищ некрозу печінки з нейтрофілами, мак-

рофагами і лімфоцитами навколо, виражений інтерстиційний склероз. Можна припустити, що великі обсяги довго існуючої некротичної тканини в організмі призвели до формування аутоімунного запального процесу. Рана після видалення печінкової тканини скальпелем також була повністю закрита рубцем. У рубці виявлені осередки помірного плазмоцитно-лімфоцитного інфільтрату, а у печінковій тканині на віддалі від рубця - вогнища некрозу із макрофагами і лімфоцитами навколо. При використанні газоструменевого дисектора мікроскопічна картина печінки у ділянці загоєної рани була аналогічна, але чітко зазначалося формування більш тонкого рубця, наявність меншої кількості осередків макрофагально-лімфоцитної інфільтрації у рубці, менш виражений інтерстиційний склероз печінки і менша кількість вогнищ склерозу, що знову утворювалися у печінковій тканині, у порівнянні із методом дигітоклазії.

Відмінності у загоєнні рани на печінці при використанні скальпеля і газоструменевого дисектора мало зрозумілі (чому формується більш вузький рубець при газоструменевій технології?).

Дослідження пошкодженої тканини печінки, взятої для дослідження у віддалені терміни (6 місяців) після резекції, показало, що ознаки динаміки запально-репараційного процесу повністю були відсутні і мікроскопічна картина відповідала повній завершеності цього процесу. Ніяких обумовлених раніше ділянок пошкодження виявити не вдалося, окрім тих, що на колишній рановій поверхні тканини печінки визначалася сполучнотканинна капсула, яка згладжувала всі нерівності регенерату шляхом заповнення всіх його язикоподібних вдавлень і випинань. Новостворений регенерат придбав будову, що властива для інтактної тканини печінки. Відмінність полягала лише в дещо порушеній геометрії печінкових часточок, правильності форми ворітної та печінкової венозних систем. Водночас, було багато гепатоцитів неправильної або нетипової форми, більше, ніж в інтактній тка-

нині печінки, гепатоцитів великих і малих розмірів, хоча кількість двоядерних клітин не перевищувала їх кількості у інтактних гепатоцитах.

Висновки

1. При пошкодженні тканини печінки будь-яким фізичним чинником у перебігу ранового процесу присутні всі його основні компоненти - судинна реакція, запалення, проліферація судин і сполучнотканинних клітин, формування колагенових і еластичних волокон, закриття ними ранової поверхні органу. Однак, в залежності від виду фізичного чинника і величини пошкодження інтенсивність і тривалість кожного компонента запалення різні.

2. Мікроскопічне дослідження ділянки печінки, що резектували, та динаміка загоєння рани печінки показали, що максимальне первинне пошкодження відбувається при резекції шляхом роздавлювання або дигітоклазії, при загоєнні така рана має найгірші показники. Особливо необхідно відзначити появу вогнищ віддаленого некрозу печінкової тканини, ймовірно аутоімунного характеру. Менш травматичними є термічні способи - ультразвукова або електрична коагуляція. Оптимальний результат відзначено при використанні газоструменевого дисектора. Саме при використанні цієї технології явища аутоімунного характеру мінімальні.

Література

1. Автанділов Г.Г. Медицинская морфометрия. Руководство.- М.: Медицина, 1990.- 384с.
2. Майстренко Н.А., Юшкин А.С., Курыгин Ап.А. Физические способы диссекции и коагуляции тканей в абдоминальной хирургии (руководство для врачей).- Санкт-Петербург "Наука", 2004.- 151с.
3. Пішак В.П., Висоцька В.Г., Магальяс В.М., Булик П.С., Діал. М.В. Лабораторні тварини в медико-біологічних експериментах. Чернівці, 2006, 349с.
4. Тканесохраняющая высокочастотная электросварочная хирургия: атлас; под ред. Б.Е.Патона и О.Н.Ивановой.- К.: "Наукова думка" НАН України, 2009.- 199с.
5. Черкова Н.В. Сравнительная оценка регенерации печени при воздействии электрокоагуляции и ультразвукового скальпеля // Вісн. Харк. нац. ун-ту.- 2004.- Серія "Медицина", вип..7; №614.- С.13-16.