

чивый к гентамицину. Осложнений в ходе дренирования и лечения кист печени под ультразвуковым контролем не было. Длительность стационарного лечения у пациентов составила 15 койко-дней.

Выводы

Таким образом, малоинвазивное лечение интрапаренхиматозных кист печени средних размеров является методом выбора при данной патологии. Вмешательство малотравматично, послеоперационный период протекает комфортно, отсутствуют послеоперационные осложнения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградов, А. В. Дифференциальный диагноз внутренних болезней / А. В. Виноградов. — 3-е изд. — М.: МИА, 2001. — 606 с.
2. Принципы лечения непаразитарных кист печени / М. Ф. Заривчацкий [и др.] // Вестник хирургии. — 2006. — Т. 165, № 4. — С. 31–33.
3. Методы лапароскопического лечения кист печени / В. Н. Филижанко [и др.] // Анн. хир. гепатологии — 2001. — Т. 6, № 2. — С. 41–46.

УДК 616.36-003.93:[612.35:612.6.03]

ОЦЕНКА РЕГЕНЕРАЦИИ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ЕЕ РЕЗЕКЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Ким К. М., Остапец В. И.

Научный руководитель: к.м.н., доцент А. Г. Скуратов

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

Введение

Доказано, что печень, обладая уникальной способностью к самообновлению, практически полностью восстанавливается после травмы. Дефицит ткани печени восполняется после обширных потерь вплоть до 75 % массы органа. Способность мезенхимальных стволовых клеток (МСК) к дифференцировке не только в мезодермальные клеточные линии (остеобласты, хондробласты, адипоциты, миоциты и кардиомиоциты), но и в немезодермальные клетки, в том числе гепатоциты [1], способствовала активному изучению влияния МСК на регенерацию печени при ее повреждении [2].

Цель

Исследовать регенерацию печени на хирургической модели резекции органа здоровых животных и при ретрорсин-индуцированном поражении печени и оценить репаративный эффект трансплантации мезенхимальных стволовых клеток в эксперименте.

Материал и методы исследования

Крысы самцы линии Wistar массой 250–300 г были разделены на 4 группы, по 10 животных в каждой: 1) 1-я группа — здоровые крысы, которым выполнялась резекция 2/3 печени; 2) 2-я группа — здоровые крысы, которым выполнялась резекция 2/3 печени с одномоментной интрапортальной трансплантацией МСК; 3) 3-я — крысы с ретрорсин-индуцированным поражением печени, которым выполнялась резекция 2/3 печени; 4) 4-я группа — крысы с ретрорсин-индуцированным поражением печени, которым выполнялась резекция 2/3 печени с одномоментной интрапортальной трансплантацией МСК.

Ретрорсин — гепатотропный алкалоид вызывает токсическое поражение печени, блокирует деление гепатоцитов между фазой «S» и «G2» клеточного цикла. Клетки остаются заблокированными после синтеза ДНК и до фазы деления «M».

МСК выделяли из жировой ткани паховой области животных по стандартной методике протокола и затем культивировали в CO₂-инкубаторе [3]. Для экспериментов использовали МСК второго–третьего пассажей.

Статистический анализ данных проводили при помощи пакета «Statistica» 10.0 (StatSoft). Проверку соответствия распределения количественных данных закону нормального распределения выполняли с помощью критерия Шапиро — Уилка (W -критерий). Количественные данные, распределение которых не являлось нормальным, описывали с помощью медианы, 25-го и 75-го процентилей. Для сравнения двух выборок количественных признаков использовали U -тест Манна — Уитни. Статистически значимым считали результат, если вероятность отвергнуть нулевую гипотезу об отсутствии различий не превышала 5 % ($p < 0,05$).

Результаты исследования и их обсуждение

Группа 1. Исследование регенерации печени после резекции. Резецированные доли печени (0-е сутки эксперимента) имели нормальную гистоархитектонику, четко дифференцировались печеночные доли с центральным расположением центральных вен. Сосуды и желчные протоки триад не были патологически изменены. На 14-е сут после резекции масса печени восстановилась за счет гипертрофии оставшейся доли органа. До резекции она составляла 12,2 (11,8; 12,7) г, через 14 сут — 12 (11,7; 12,5) г; $p < 0,05$. При обзорной микроскопии отмечались новообразованные доли с пролиферирующими гепатоцитами, желчными протоками и сосудами. В цитоплазме гепатоцитов наблюдалась выраженная зернистая пылевидная дистрофия (признак функционального напряжения органа). Так же определялись пролиферирующие гепатоциты, диффузная инфильтрация единичными гистиоцитами и мелкими лимфоцитами, полнокровие синусов, увеличенные в размерах ядра гепатоцитов, ядрышки (от 1 до 3), митозы и двухъядерные гепатоциты.

Группа 2 (резекция печени с трансплантацией МСК). На 14-е сут после резекции с одномоментной интрапортальной трансплантацией МСК в печени отмечалась пролиферация гепатоцитов, желчных протоков и сосудов. Определялись увеличенные в размерах ядра гепатоцитов, ядрышки (от 1 до 4), митозы (1–2) в 10 полях зрения и двухъядерные клетки.

Группа 3 (исследование регенерации печени после резекции на фоне ретрорсин-индуцированного поражения). При введении крысам ретрорсина наблюдалась картина токсического поражения и жировой дистрофии печени. Клеточная пролиферативная и инфильтративная реакция были незначительными. Так же наблюдалась слабо выраженная лимфоидная инфильтрация портальных трактов. Отмечалось уменьшение числа клеток в одном поле зрения и увеличение размера гепатоцитов. Резецированные доли печени (0-е сутки) имели правильную гистоархитектонику, четко дифференцировались печеночные доли с центральным расположением центральных вен. В гепатоцитах определялись дистрофические изменения умеренной степени выраженности. На 14-е сут после резекции процессы регенерации были ослаблены по сравнению с таковыми в здоровой печени. Выявлялись отдельные гепатоциты с эозинофильной цитоплазмой и кариорексисом. Ядра гепатоцитов слабо увеличены в размерах, ядрышки — единичные. Отмечались крупно- и мелкокапельная дистрофия гепатоцитов, преимущественно по периферии печеночных долек, зернистая дистрофия гепатоцитов (признак функционального напряжения органа), единичные пролиферирующие гепатоциты с 1–2 крупными ядрышками, слабо выраженные некробиотические изменения, венозное полнокровие сосудов стромы (таблица 1).

Группа 4 (резекция печени на фоне ретрорсин-индуцированного поражения с трансплантацией МСК). Через 14 дней после резекции и трансплантации МСК печень восстановила свой объем и массу. Масса печени статистически значимо больше, чем в случае резекции без введения МСК: 11,7 (11,2; 12,5) г и 8,1 (7,8; 8,6) г соответственно, $p < 0,05$. Паренхима печени темно-коричневого

цвета, с хорошо выявляемой, что характерно для данного органа, зернистостью. Внутри и внепеченочные желчные протоки не расширены, хорошо проходимы. Микроскопически доли печени имели нормальную гистоархитектонику (четко дифференцировались печеночные дольки с центральным расположением центральных вен), а также отмечалось повышение митотической активности гепатоцитов. Наличие пылевидных включений в цитоплазме свидетельствовало о функциональной напряженности органа. Сосуды и желчные протоки триад не были патологически изменены. Единично определялись дистрофические изменения слабой степени выраженности или эозинофильная цитоплазма и кариорексис. Ядра крупные, с хорошо определяемым хроматином, ядрышками. Микроскопически в перипортальной зоне выявлены пролиферирующие гепатоциты с реактивной атипией ядер (за счет увеличения ядерного компонента в ядерно-цитоплазматическом соотношении), а также конденсации хроматина, преимущественно по периферии сосудов венозного русла. Выявлялись двухъядерные гепатоциты, 1–4 ядрышка. Желчные протоки — с пролиферацией эпителия (таблица 1).

Таблица 1 — Морфометрические показатели ткани печени животных групп 3 и 4

Показатель	Группа 3		Группа 4	
	0-е сутки	14-е сутки	0-е сутки	14-е сутки
Диаметр ядра, мкм	18,7 (13,3–16,1)	21,8 (19,2–24,5)	18,5 (13,3–19,2)	25,1 (18,8–26,8)
Площадь ядра, мкм ²	356,9 (243,4–224,1)	472,7 (423,3–497,6)	345,1 (268,4–389,1)	522,7 (442,3–686,2)
Площадь цитоплазмы, мкм ²	2121,1 (1769,4–2254,2)	2124,2 (1657,5–2101,2)	2195,1 (1889,4–2354,2)	2064 (1547,1–2125,3)
Ядерно-цитоплазматический индекс	0,168	0,222	0,157	0,253
Двухъядерные клетки	0,5	1,5	0,7	2,0
Ядрышки	1,5 (1,4–,2)	1,7 (1,3–2,2)	1,8 (1,0–2,1)	1,9 (1,3–2,3)
Митозы	0	0	1	1

Выводы

На экспериментальной модели резекции печени показана регенерация органа, в механизмах которой участвуют в основном зрелые гепатоциты. Отмечалось усиление их митотической активности и увеличение их ядерного аппарата. Ретрорсин-индуцированное поражение печени угнетало митотическую активность гепатоцитов, собственные механизмы регенерации оказались несостоятельными для восстановления нормальной морфологической структуры органа. Репаративный рост печени был резко ослаблен и осуществлялся не столько за счет митотических делений клеток паренхимы и их полиплоидизации, сколько вследствие гипертрофии гепатоцитов. На фоне интрапортальной трансплантации аутологичных МСК наблюдалась активизация механизмов клеточной и внутриклеточной регенерации печени по сравнению с таковыми у животных контрольной группы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Скуратов, А. Г. Экспрессия маркерных генов гепатоцит-подобными клетками, дифференцированными из мезенхимальных стволовых клеток / А. Г. Скуратов, Д. Р. Петренев, А. Н. Кондрачук // Проблемы здоровья и экологии. — 2013. — № 3 (37). — С. 105–110.
2. Черных, Е. Р. Стволовые клетки в регенерации печени: новые подходы к лечению печеночной недостаточности / Е. Р. Черных, А. А. Останин, А. И. Пальцев // Гепатология. — 2004. — № 5. — С. 24–33.
3. A protocol for isolation and culture of mesenchymal stem cells from mouse compact bone / H. Zhu [et al.] // Nat. Protoc. — 2010. — Vol. 5 (3). — P. 550–560.