

РЕЗУЛЬТАТЫ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ БИОПТАТОВ ТКАНИ ГЕАНГИОМЫ ПОСЛЕ КРИОДЕСТРУКЦИИ

THE RESULTS OF MORPHOLOGICAL STUDIES OF BIOPSY TISSUE HEMANGIOMAS AFTER CRYODESTRUCTION

*T. Kotova
V. Kochenov
S. Tsybusov
A. Gurin*

Annotation

The article is sanctified to the questions of morphological changes of the examined tissue hemangiomas after one, three and petiitsikapau cryotherapy. On the basis of the pathological changes occurring in the examined tissue at various time intervals, up to a full regeneration, with an effective multiplicity of cycles of cryotherapy.

Keywords: cryotherapy of hemangiomas, morphological changes, effective number of cycles.

Котова Татьяна Геннадьевна
К.м.н., научн. сотрудник, Нижегородская
государственная медицинская академия,
Научный клинический центр медицинской
криологии "онКолор"

Коченов Владимир Иванович
Д.м.н., ст. научн. сотрудник каф. оперативной
хирургии и топографической анатомии,
Нижегородская государственная медицинская
академия, дир., Научный клинический центр
медицинской криологии "онКолор"

Цыбусов Сергей Николаевич
Д.м.н., профессор, зав. каф. оперативной
хирургии и топографической анатомии,
проректор по учебной работе, Нижегородская
государственная медицинская академия

Гурин Антон Васильевич
Хирург, онколог клиничко-диагностического
отделения, ФГБУ "НИИ онкологии
им. проф. Н. Н. Петрова" МЗ РФ

Аннотация

В статье освещены вопросы морфологических изменений исследуемой ткани гемангиом после одного, трех- и пятициклового криовоздействия. На основании патоморфологических изменений происходящих в исследуемой ткани в различные временные промежутки, вплоть до полной регенерации, установлена эффективная кратность циклов криодеструкции.

Ключевые слова:

Криодеструкция гемангиом, морфологические изменения, эффективное количество циклов.

Введение

Многообразие способов лечения гемангиом, а также отсутствие четкого алгоритма свидетельствуют о распространенности патологии среди населения. Из всего многообразия существующих методов лечения отдельного внимания заслуживает метод криодеструкции новообразования [2].

Метод основан на кристаллизации воды в подлежащих тканях, с образованием растущих вне- и внутриклеточных кристаллов, разрушающих клеточные структуры, концентрацией электролитов, денатурацией биомолекул, биологических мембран, липидно-протеиновых комплексов, нарушением микроциркуляции и ишемией [3,4,5]. При криодеструкции биологическая ткань пре-

вращается в лед. Важно, что при ее проведении не происходит тепловой денатурации белков и нуклеиновых кислот. Возникающие нарушения преимущественно обусловлены изменениями, происходящими с водой, находящейся внутри и вне- клетки. Кровообращение, поступление кислорода, питательных веществ, тканевое дыхание и все биохимические процессы на время замораживания полностью останавливаются, также происходит полная остановка энергетических процессов в митохондриях, которые оказываются более не способны восстановиться [3]. В результате наступает гибель клеток, в которых были длительно парализованы все процессы жизнедеятельности. На сегодняшний день установлено пять основных механизмов криодеструкции: разрыв клеточной оболочки вследствие внутриклеточной кристаллизации (образование льда); денатурация клеточных белков; деги-

дратация и токсическое воздействие электролитов; сосудистый стаз и, как следствие его, возникновение вторичных микроинфарктов; температурный шок, внезапно наступающая гибель клетки от быстрого и резкого понижения температуры.

Поскольку мишенью для криодеструкции является вода, а наибольшее ее количество сосредоточено в сосудах, то наибольшему разрушению подвергается сосудистое русло ткани.

Наряду с механическими повреждениями при криодеструкции, отмечаются изменения реологических свойств крови, характерные для коагуляционного воздействия и, в частности, охлаждения, а именно возникновение стазов, тромбозов, выпадение обширных отложений фибрина. Кроме того, после замораживания – оттаивания возникают рефлекторные реакции со стороны сосудистого русла, выражающиеся в длительной вазодилатации [6,9].

Деструкция сосудов и нарушение реологических свойств крови приводит к блокаде кровотока в очаге криовоздействия, формированию очага ишемии и развитию воспалительной реакции. Прекращение кровообращения в подвергнутой криовоздействию ткани в дальнейшем приводит к развитию в нем ишемического крионекроза.

Существенное значение выживаемости клеток после замораживания, имеет скорость оттаивания ткани. Повреждающий эффект обусловлен как вне- и внутриклеточной перекристаллизацией, так и воздействием на органоиды клетки концентрированных растворов солей. При температуре -5°C и выше плавление основной массы льда в межклеточном пространстве понижает концентрацию находящихся здесь солей и уменьшает их повреждающее действие на клетки. Нарушения структуры клеток при этой температуре обусловлены потоком воды и солей через поврежденные клеточные мембраны в связи с наличием осмотического градиента давления во вне- и внутриклеточной среде.

В короткие сроки метод криодеструкции получил широкое распространение в качестве альтернативы хирургическому методу лечения гемангиом. Механизм криогенного воздействия на биологические ткани заключается в двух фазах [1,7].

Первая – первичное механическое повреждение ткани кристаллами льда, образующимися вне и внутри клеток, при этом внутри клетки возрастает концентрация электролитов, что может привести ее к гибели.

Вторая – фаза изменений после окончания криовоздействия: наступающее в результате обезвоживания "сморщивание" клетки ведет к ее гибели, причем большие повреждения возникают при медленном отогрева-

нии, без дополнительных источников подогрева. Наблюдается повышение проницаемости сосудистых стенок, нарушение их целостности, появляется отек и кровоизлияния в межклеточном пространстве, – эти процессы максимально выражены в первые сутки.

Как показывают результаты 507-го заседания общества онкологов "Криогенные технологии в онкологии" проведенного 25–26 февраля 2016 г. в Санкт-Петербурге на базе ФГБУ "НИИ онкологии им. Н.Н. Петрова" Минздрава России – количество эффективной кратности циклов криовоздействия до сих пор остается под знаком вопроса.

Материалы и методы

С целью изучения морфологической картины результатов криодеструкции нами проведены исследования микробиоптатов основных клинко-морфологических видов гемангиом у 36 пациентов. Для гистологического исследования пункционной иглой брали биоптаты тканей замороженных гемангиом и фиксировали их в 10% растворе формалина. Для светооптической микроскопии изучаемый материал заливался в парафин по общепринятой методике. На микротоме – изготавливались парафиновые срезы толщиной 7 мкм и окрашивались гематоксилином и эозином (МБИ – 6, об. 7, 10, ок. 10, 40, 100; микроскоп ЛОМО Микмед ВО-1 с использованием конденсатора темного поля зрения). Забор тканей проводился после одно- и многоциклового криовоздействия для сравнения полученных результатов.

Аналогично проводили исследование морфологической картины на 1, 3, 9, 14, 30 сутки. Кроме того, с целью уточнения ультраструктурных изменений в гемангиомах выборочно проводился электронно-микроскопический анализ ткани гемангиомы с использованием микроскопа Mini-Sem 5. Изготовление и изучение препаратов проводили по общепринятой методике без каких-либо особенностей. Исследования проводили на базе ЦНИЛ НижГМА.

После однократного цикла криовоздействия отмечался выраженный отек тканей, однако явлений крионекроза не было выявлено ни макроскопически, ни микроскопически.

Через сутки после трехциклового криовоздействия зона замораживания была представлена очагом поверхностного крионекроза по размерам примененного аппликатора, четко отграниченного от подлежащих участков нормальной ткани. Отек был выражен незначительно. Микроскопически зона крионекроза была ограничена слоями дермы и клетчатки и окружена лейкоцитарным валом. В подлежащих тканях явления отека и лейкоцитарной реакции были выражены незначительно. На 3-и

сутки после вмешательства прослеживалось четкое отграничение очага крионекроза лейкоцитарным валом. На 9–е сутки величина крионекротического струпа в 2–3 раза уменьшилась по сравнению с исходной, раневой дефект вокруг струпа был выполнен молодой грануляционной тканью, отек практически отсутствовал. На 14–е сутки после криовоздействия в зоне вмешательства полностью заживала рана, замещенная тонким нежным рубцом, вокруг которого отсутствовало перифокальное воспаление и другие патологические изменения. Микроскопически в препаратах обнаруживалась эпителизированная молодая грануляционная ткань, богатая клеточными элементами. Репаративные процессы в зоне замораживания происходили с восстановлением нормальной структуры тканей, что способствовало образованию тонкого и нежного рубца.

После пятициклового криовоздействия макроскопически зона замораживания была представлена картиной циркулярной деструкции тканей с резким отеком. Микроскопически в зоне некроза имелся некротический секвестр, окруженный резко выраженным лейкоцитарным валом, в периферических нормальных тканях обнаруживали значительный отек с явлениями круглоклеточной инфильтрации.

По результатам полученных данных нами установлено, что оптимальным количеством является трехцикловое криовоздействие.

Для более детального изучения образцов тканей использовали светооптическую микроскопию, а также микроскопию с использованием темного поля зрения, при котором хорошо видны изменения тканей в процессе замораживания (кристаллообразование, изменение клеточных стенок, мембран, ячеистость структур и т.д.) После криодеструкции ячеистость строения тканей образцов обусловлена процессами кристаллизации, выраженность которых характеризует степень дегидратации тканей и позволяет косвенно судить об их повреждении. При замораживании микробиоптатов тканей грубых нарушений ее гистоструктуры не отмечалось. При различном увеличении определялись неравномерно распределенные фибробласты, которые интимно связаны с элементами основы. Четко улавливались переходы цитоплазматических отростков, были видны свободно лежащие эритроциты в виде дискоцитов и сфероцитов.

Однократное криовоздействие приводило к существенному уплотнению ткани, которая приобретала при этом своеобразное ячеистое строение в виде различной величины полостей, возникших в результате сублимационной сушки на месте скопления кристаллов льда, выраженность которых характеризовала степень дегидратации тканей и позволяла косвенно судить об их повреждении. Перегородки между полостями имели различную толщину и направленность. Поверхность перегородок

имела неровные контуры. На гистограмме прослеживались кристаллы льда различных геометрических форм и размеров, чаще встречались мелкие кристаллы, как показано на **рис. 1**.

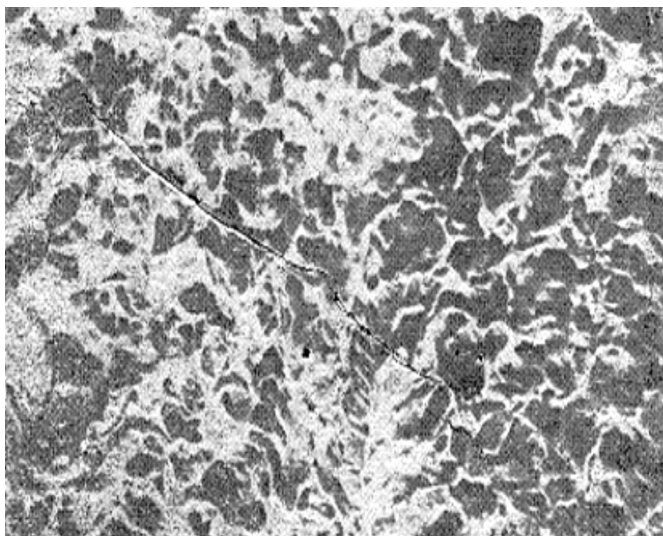


Рис.1. Образец патоморфологической картины ткани при одноцикловом криовоздействии. Ткань приобрела ячеистое строение, поверхность перегородок имела неровные контуры, увеличивалось общее количество кристаллов льда. (об.10., ок.40). Ув.х400.

При многоцикловом замораживании кристаллы льда не только увеличивались и становились больших размеров, но и количество их было существенно больше. Ячеистость строения исследуемой ткани была более выражена, перегородки уплощены, поверхность перегородок имела сглаженные контуры. Отдельные клетки и волокнистые структуры не определялись.

При аналитическом изучении образцов ткани гемангиомы после трех- и пятициклового замораживания не было выявлено существенной разницы в указанных изменениях ультраструктуры образцов в зависимости от числа циклов криовоздействия (3 или 5). См. **рис. 2, 3**.

При изучении полученных образцов ткани после однократного замораживания отмечено, что общее количество кристаллов льда сравнительно больше, чем при многоцикловом (3,5) криовоздействии ($p < 0,05$). Однако количество крупных кристаллов льда встречается значительно чаще при многоцикловом (3,5) криовоздействии, чем при одноразовом замораживании ($p < 0,05$).

Для изучения эффективной кратности повторных циклов и установления их оптимального количества подсчитано совокупное число кристаллов при 3- и 5-циклово-м криовоздействии. При анализе полученных данных статистически значимых различий в общем количестве кристаллов между 3- и 5-циклово-м криовоздействии не выявлено ($p > 0,05$).

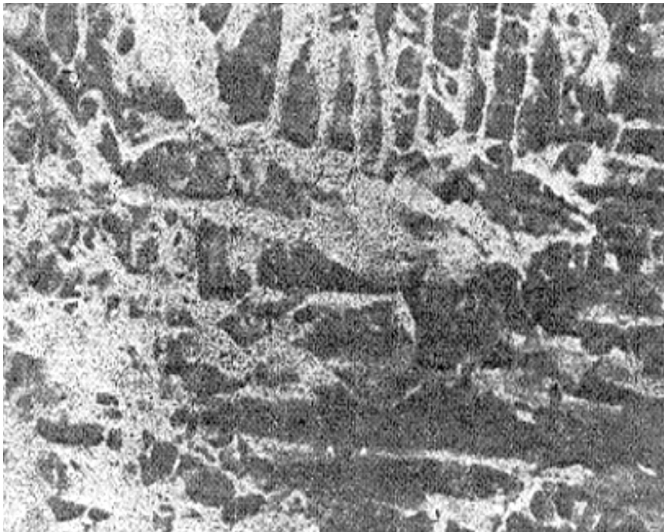


Рис. 2. Образец ткани после трехциклового криовоздействия. Ячеистость строения исследуемой ткани более выражена, перегородки уплощены отдельные клетки не прослеживаются, кристаллы льда больших размеров в значительном количестве. (об. 10., ок. 40). Ув.х400.

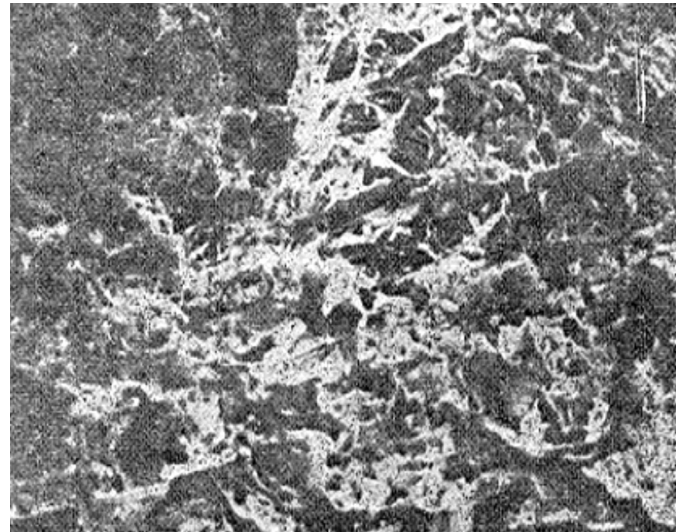


Рис.3. Образец ткани после пятициклового криовоздействия. Ультраструктура ткани существенно не изменена, а также количества различных кристаллов не выявлено. (об. 10, ок. 40). Ув.х400.

Также не определено достоверных различий в числе больших, средних и малых кристаллов ($p > 0,05$).

Выводы

Обобщая результаты проведенных исследований, нами установлено, что при многоциклового замораживании образцы исследуемой ткани гемангиомы подвергаются более сильной деструкции, чем при однократном крио-

воздействии, за счет возникновения большего количества крупных кристаллов льда, а вот существенной разницы в их повреждении при 3- и 5-циклового замораживании не выявлено.

Таким образом, результаты собственных экспериментальных исследований свидетельствуют, что для усиления криоповреждения тканей в зоне воздействия жидким азотом необходимым и достаточным является трехциклового криодеструкция.

ЛИТЕРАТУРА

1. Корниенко, Н.Н. Криодеструктивная терапия гемангиом лица у детей / Вестник хирургии. – М., 1990. – № 2. – с. 68–71.
2. Коченов В.И., Цыбусов С.Н., Артифксова А.А., Буланов Г.А., и соавт. Способ лечения новообразований. // Патент на изобретение RUS 2447857
3. Макарычева Т.Г. Лечение геморроя методом компрессионной криодеструкции. / дис. ... канд. мед. наук / Т. Г. Макарычева. – Н. Новгород: НижГМА, 2007. – 100 с.
4. Макарычева Т.Г., Цыбусов С.Н., Буланов Г.А. Динамика локальных изменений после криодеструкции геморроидальных узлов. // Актуальные вопросы хирургии и клинической анатомии: Сборник научных трудов X научно-практической конференции в рамках Международной выставки "Медицина и здоровье 2004" – Пермь – 2004 – с. 84–85.
5. Макарычева Т.Г., Цыбусов С.Н., Коченов В.И. Патоморфоз тканей геморроидальных узлов после компрессионной криодеструкции в сочетании с глубоким адгезивным криовоздействием. // Новое в практической медицинской криологии: материалы научно-практической конференции. – Москва, 2005 – с. 17–19.
6. Темнова И.В., Артифксова А.А., Коченов В.И., Цыбусов С.Н. Особенности криохирургического лечения кожных новообразований. // International Journal in Immunorehabilitation. – Москва, 2009 Т.11–с. 36а
7. Трушкевич, Л.И. Криохирургия как основной метод лечения при рецидивах рака кожи / Онкология. – М., 1976. – № 6. – с. 173–176.
8. Boucobza, M. Cerebral developmental venous anomalies associated with head and neck venous malformations / M. Boucobza, O. Enjolras, J. Guichard // AJNR Am J Neuroradiol. – 1996. – May. 17 (5). – p. 987–994.
9. Cortese, A. Angiomas of the maxillofacial area: a clinical study with MR and angio-MR / A. Cortese, N. Letizie, M. Cargiulo // Minevra Stomatol. – 1996. – Sep. 45(9). – p. 415–419.