

УДК616.36-076:616.36-002-022.6-036.12

Н.В. Петренко

## ПЛОИДОМЕТРИЧЕСКАЯ И КАРИОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОПТАТОВ ПЕЧЕНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКИХ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТАХ

Российская медицинская академия  
последипломного образования (г. Москва)

*Ключевые слова: хронические гепатиты, биопсия печени, кариометрия.*

Изменения функционального состояния гепатоцитов при хронических вирусных гепатитах (ХВГ) изучены недостаточно. Обычное описание пунктатов печени дает возможность субъективно оценить выраженность дистрофических, воспалительных и репаративных процессов [8, 9]. Однако наиболее ранние изменения ядер и цитоплазмы клеток печени и интенсивности их реакций на действие вируса остаются недостаточно изученными [9, 10]. В то же время сведения о динамике пролиферативной активности гепатоцитов, изменении объемов их ядер, соотношении между количеством клеток, имеющих большие и малые ядра, могли бы иметь и диагностическое значение при системном изучении пунктатов печени. Для решения этих задач необходим морфометрический анализ гистологических срезов при диагностике ХВГ [7]. Для этого следует провести визуализацию комплекса морфометрических данных, скрытых от патолога при обычных гистологических исследованиях гепатоцитов, поврежденных вирусом. Следует ожидать, что эти данные позволят точнее оценивать морфофункциональное состояние печени и в соответствии с этим решать вопросы прогноза [1–5].

Цель исследования состояла в получении комплекса кариометрических и плоидометрических характеристик биоптатов печени при ХВГ для уточнения морфологической диагностики активности и степени выраженности патологического процесса.

Исследован материал, полученный при тонкоигольной пункционной биопсии печени от 200 пациентов (127 мужчин и 73 женщины в возрасте от 18 до 52 лет), страдавших ХВГ С, В, В+С, G и неизвестной этиологии различной степени лабораторной активности и сроков заболевания (от 6 месяцев до нескольких лет), находившихся на лечении в гастроэнтерологическом отделении НО «МФ МСЧ 1 АМО ЗИЛ»\*. Пунктаты печени фиксировали в 10% формалине и заливали в парафин. Срезы толщиной 4 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, по ван-Гизону, орсеином

\* Автор выражает благодарность сотрудникам гастроэнтерологического отделения НО «МФ МСЧ 1 АМО ЗИЛ» (заведующая отделением Е.В. Томилова) за предоставление материала для гистологического исследования.

по методу Шиката, проводили ШИК-реакцию. При достаточном объеме материала дополнительно проводили окраску замороженных срезов на жир. Срезы толщиной 8 мкм окрашивали по методике Фельгена для выявления ДНК. Для сравнения были исследованы образцы печени, полученные от пациентов, не страдавших вирусными гепатитами, — пунктаты «условно нормальной» печени [6]. Плоидометрические измерения проводили на интерфазных ядрах гепатоцитов на компьютерном анализаторе изображений «Имаджер-ЦГ» с версией программы «Автан-Сан» по методу сравнительной микроспектрофотометрии, разработанному Г.Г. Автандиловым [3].

С целью установления «гистологического стандарта плоидности» определяли среднюю интегральную яркость достаточной выборки ядер малых лимфоцитов в срезах, которую принимали за диплоидный набор хромосом. Половину указанного стандарта принимали за единицу плоидности. Сведения о плоидности ядер гепатоцитов автоматически получали на анализаторе путем деления средних показателей интегральной яркости ядер гепатоцитов на единицу стандарта плоидности. Полученные данные подвергали статистической обработке. Различия считали достоверными при уровне вероятности безошибочного суждения 0,95.

В табл. 1 вошли значения средней плоидности и площади ядер гепатоцитов, их среднеквадратичные отклонения, выраженные в абсолютных значениях и процентах отклонения от среднего. Кроме того, рассчитаны нормированные величины средней плоидности и площади относительно средних значений, характеризующих «нормальную ткань» печени.

На рис. 1 изображена зависимость средней плоидности и средней площади ядер от типа исследуемой группы (гепатита). Отчетливо видно, что изменения в плоидности и площади скоррелированы. Кроме того, наблюдается значительное увеличение обоих параметров в случае хронического гепатита В, умеренной степени активности (группа 6). Эти же параметры в «нормальной ткани» печени оказались существенно меньше.

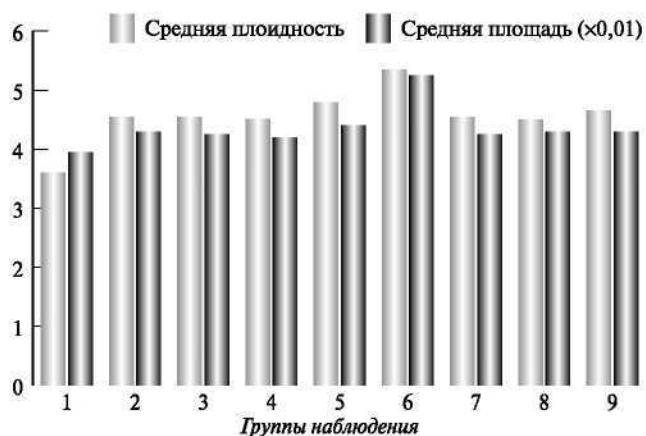


Рис. 1. Показатели средней плоидности гепатоцитов при разных формах ХВГ.

Таблица 1

Кариометрическая и плоидометрическая характеристики биоптатов печени при ХВГ

Группа наблюдения	ХВГ	Число наблюдений	Средняя плоидность	Превышение показателей плоидности от нормы	Средняя плоидность относительно нормы	Среднее квадратичное отклонение	Среднее квадратичное отклонение, % от нормы	Ошибка выборки ( $\pm m$ )	Средняя площадь	Средняя площадь ( $\times 0,01$ )	Средняя площадь относительно нормы	Превышение показателей площади от нормы	Среднее квадратичное отклонение, % от нормы	Среднее квадратичное отклонение	Ошибка выборки ( $\pm m$ )
1	Нормальная ткань*	29	3,62	—	1,00	0,19	5,4	0,036	397,7	3,98	1,00	—	5,3	21,2	3,9
2	С, минимальная активность	35	4,56	0,94	1,26	0,15	3,3	0,025	423,2	4,23	1,06	25,4	3,3	13,8	2,3
3	С, умеренная активность	67	4,57	0,95	1,26	0,11	2,3	0,013	419,6	4,20	1,06	21,9	4,9	20,7	2,5
4	С, слабая активность	67	4,54	0,92	1,25	0,11	2,4	0,013	416,4	4,16	1,05	18,7	2,3	9,7	1,2
5	В, слабая активность	6	4,80	1,18	1,33	0,40	8,3	0,164	441,3	4,41	1,11	43,6	8,2	36,2	15
6	В, умеренная активность	18	5,31	1,68	1,47	0,27	5,2	0,065	522,1	5,22	1,31	124,4	5,8	30,5	7,2
7	В+С, слабая активность	14	4,57	0,95	1,26	0,23	5,0	0,061	417,3	4,17	1,05	19,6	4,8	20,2	5,4
8	G	4	4,50	0,88	1,24	0,41	9,0	0,203	432,3	4,32	1,09	34,5	7,6	32,7	16
9	Неясной этиологии	26	4,65	1,03	1,29	0,20	4,2	0,038	422,4	4,22	1,06	24,7	4,2	17,7	3,5

\* Значения, нормированные на соответствующий показатель «нормальной ткани печени».

Для того чтобы убедиться в корреляции показателей средней плоидности и средней площади ядер была изучена зависимость нормированных средней плоидности и средней площади ядер от типа исследуемой группы ХВГ (рис. 2).

При анализе показателей плоидности, превышающих плоидность ядер гепатоцитов в нормальной печени, установлено, что синтез ДНК наиболее интенсив-

но шел при ХВГ В со слабой и умеренной степенью активности. Это может учитываться при проведении дифференциальной диагностики с другими формами гепатитов. Несколько выше пролиферативная активность отмечалась при гепатитах неясной этиологии. Все остальные формы ХВГ характеризовались усилением синтеза ДНК в ядрах, что связано с повреждающим действием вирусов на геном гепатоцитов.

Высокая степень корреляции этих показателей, по-видимому, говорит об их тесной взаимосвязи и, возможно, взаимозависимости.

С этой целью было изучено также распределение площадей ядер гепатоцитов при различных формах ХВГ (табл. 2). Для этого вычислялось количество ядер, имеющих площадь меньше и больше некоего порогового разделительного значения. Далее вычислялось общее количество разделенных по такому критерию малых и больших ядер гепатоцитов в группе. После этого получалось отношение общего количества гепатоцитов с большими и малыми ядрами. Эти зависимости были исследованы при установке двух пороговых уровней в 300 и 400 пикселей (рис. 3).

Получены нормированные зависимости отношения количества больших и малых ядер гепатоцитов при установке соответствующего порогового разделительного уровня.

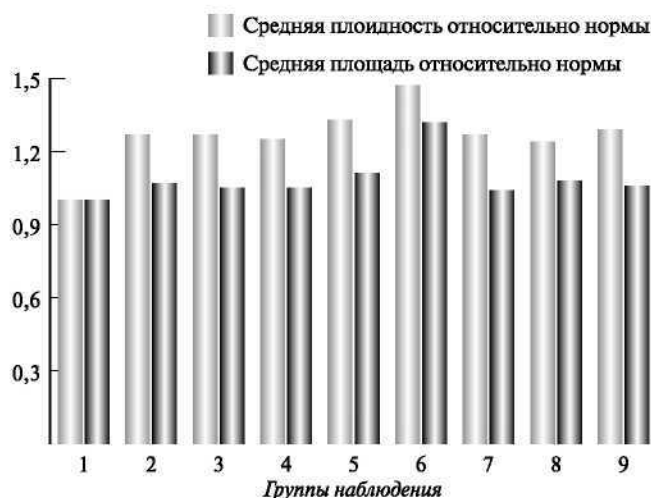


Рис. 2. Зависимость нормированных показателей средних плоидности и площади при разных формах ХВГ.

Таблица 2

Распределение площади ядер гепатоцитов при ХВГ

Группа наблюдения	ХВГ	Сумма малых ядер	Сумма больших ядер	относительно нормы		Сумма малых ядер	Сумма больших ядер	относительно нормы	
				Большие / Малые (300 пиксе.)	Большие / Малые (300 пиксе.)			Большие / Малые (400 пиксе.)	Большие / Малые (400 пиксе.)
1	Нормальная ткань	386	1340	3,47	1,00	946	868	0,92	1,00
2	С, минимальная активность	116	987	8,51	2,45	654	455	0,70	0,76
3	С, умеренная активность	340	1671	4,91	1,42	1145	879	0,77	0,84
4	С, слабая активность	284	1678	5,91	1,70	1084	888	0,82	0,89
5	В, слабая активность	12	163	13,58	3,91	75	99	1,32	1,44
6	В, умеренная активность	40	312	7,80	2,25	150	202	1,35	1,47
7	В+С, слабая активность	63	399	6,33	1,82	258	204	0,79	0,86
8	G	12	95	7,92	2,28	44	62	1,41	1,54
9	Неясной этиологии	112	667	5,96	1,72	464	311	0,67	0,73

Показано, что в 4, 5 и 7 группах хронических гепатитов при установке «условно пороговой» границы в 400 пикселей наблюдается увеличение доли больших ядер гепатоцитов по отношению к малым в сравнении с группами 1, 2, 3, 6 и 8. Такое условное разделение, по-видимому, могло бы служить синдромальным признаком ХВГ В и G и свидетельствовало о большей пролиферативной активности клеток печени.

Разделение вблизи среднего уровня площади по всем группам (средняя площадь равна 422 пикселям), по-видимому, оправданно и хорошо разделяет наблюдаемые группы вирусных гепатитов, что можно использовать в дифференциальной диагностике. Установка порогового разделительного уровня в 300 пикселей отчетливо выделяет группу гепатитов 4 (ХВГ С со слабой степенью активности), что, по-видимому, указывает на существенное уменьшение доли клеток с малыми ядрами (площадью <300 пикселей)

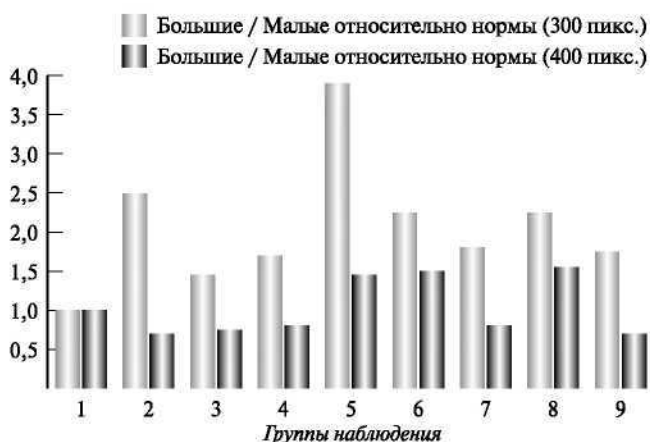


Рис. 3. Отношения количества больших и малых ядер гепатоцитов при установке соответствующего порогового разделительного уровня.

Таким образом, в результате плоидометрического исследования обнаружено различно выраженное усиление репаративной активности гепатоцитов при различных формах вирусных гепатитов. Кроме того, выявлена закономерность изменения соотношения между гепатоцитами с малыми и большими ядрами, также косвенно указывающая на различия в интенсивности пролиферативного процесса. Объективные характеристики морфологических изменений в пунктах печени могут способствовать принятию оптимальных диагностических решений.

#### Литература

1. Автандилов Г.Г. // Цитологическая диагностика новообразований. — М., 1969. — С. 71—73.
2. Автандилов Г.Г. Морфометрия в патологии. — М.: Медицина, 1973.
3. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. — М.: Медицина, 1990.
4. Автандилов Г.Г. Основы количественной патологической анатомии. — М.: Медицина, 2002.
5. Автандилов Г.Г. // Клинико-лабораторный консилиум. — 2004. — №2. — С. 39-42.
6. Автандилов Г.Г., Байрамкулов М.Д. // Клинические перспективы гастроэнтерологии, гепатологии. — 2004. — №1. — С. 2-6.
7. Автандилов Г.Г., Григорьева С.Г., Лоранская И.Д., Петренко Н.В. // Тихоокеанский медицинский журнал. — 2000. — №4. — С. 9-11.
8. Серов В.В., Апросина З.Г., Крель П.Е. и др. // Арх. патол. — 2004. — №6. — С. 6-11.
9. Серов В.В. // Арх. патол. — 1999. — №1. — С. 54-57.
10. Комарова Д.В., Цинзерлинг В.А. Морфологическая диагностика инфекционных поражений печени. — СПб.: СОТИС, 1999.

Поступила в редакцию 03.06.05.

#### PLOIDOMETRIC AND CARYOMETRIC DESCRIPTION OF LIVER BIOPSY MATERIAL UNDER CHRONIC VIRAL HEPATITIS

N. V. Petrenko

Russian Medical Academy of Post-Graduate Education (Moscow)

Summary — The author provides data on morphologic and morphometric studies of liver puncture samples carried out using computer image analyser on the basis of comparative microspec-

trophotometry. On testing biopsy material obtained from 200 patients suffering from chronic hepatitis of different aetiology, the author has detected intensification of hepatocytes restoration activity marked in different ways and under different forms of viral hepatitis. The author has identified the regularity in the changing correlation between hepatocytes of small and large nuclei that implicatively evidenced the differences in the intensity of proliferative process observed in liver.

*Pacific Medical Journal, 2005, No. 2, p. 38-41.*

УДК616.216-018.73-072.1:616.89-008.441.13

Е.А. Гулифанов, В.С. Каредина, Н.М. Горбик

### ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ НОСА ЧЕЛОВЕКА ПРИ ОДНОКРАТНОМ ПРИЕМЕ АЛКОГОЛЯ

Клинико-диагностический центр (г. Владивосток), Владивостокский государственный медицинский университет

*Ключевые слова: алкоголь, транспортная функция мерцательного эпителия, передняя активная риноманометрия, эндоскопия.*

Профилактика и лечение заболеваний носа и околоносовых пазух — одна из актуальных проблем современной медицины. За последние 10 лет заболеваемость синуситами выросла в 3 раза, а больные, госпитализированные по поводу болезней околоносовых пазух, составляют примерно две трети от общего числа пациентов специализированных стационаров [9]. Нормальное функционирование слизистой оболочки носа обеспечивается рядом механизмов, среди которых полноценная иннервация, кровоснабжение и вентиляция полости носа, местная продукция слизи и перилимфарной жидкости, мукоцилиарный транспорт, иммунологические, химические и клеточные факторы защиты организма от инфекции [8, 10, 12]. Обращает на себя внимание то, что потребление алкоголя в Российской Федерации за последние 10 лет увеличилось в 1,5 раза [3]. Между тем влияние употребления алкоголя на слизистую оболочку верхних дыхательных путей в современной литературе практически не отражено. Исследуя состояние ЛОР-органов у больных с хроническим алкоголизмом, Л.Я. Ховерс и др. обнаружили, что 29,6% из них страдает хроническим ринитом [11]. Л.А. Миракян в эксперименте на белых крысах установил, что при хронической алкогольной интоксикации в слизистой оболочке носа происходит увеличение количества желез с повышенным слизеобразованием, развивается обильная лимфоидноклеточная инфильтрация с явлениями фиброза и склероза [6].

Цель нашего исследования заключалась в определении функционального состояния слизистой

оболочки носа у людей при однократном приеме алкоголя.

Обследовано 43 человека (мужчины). Обследуемые принимали внутрь раствор этилового спирта из расчета 1 г этанола на 1 кг массы тела. Контрольная группа в количестве 22 лиц аналогичных пола и возраста выпивала по 120 мл физиологического раствора.

Для объективной оценки мы использовали специальные методы исследования, которые в настоящее время являются «золотым стандартом» оториноларингологии. К ним относятся инструментальная эндоскопия, передняя активная риноманометрия, сахаринный тест [2, 13].

Эндоскопическое исследование носовой полости осуществлялось жестким эндоскопом фирмы Karl Storz, диаметром 4 мм и с углом обзора 0° и 30°.

Для исследования мукоцилиарного транспорта использовали пищевой сахарин фирмы Hergestell-GMBH (Германия). Таблетку сахарина разделяли на 5 равных весовых частей, в результате получали крупинку весом 10 мг. Ее помещали на поверхность нижней носовой раковины, отступя 1 см от переднего конца. Время прохождения сахарина через нос фиксировали по секундомеру при появлении ощущения сладкого в полости рта при периодических глотательных движениях (одно глотательное движение в минуту).

Объективное исследование дыхательной функции носа осуществлялось методом передней активной риноманометрии аппаратом Jaeger (Германия).

Сущность метода заключается в количественном измерении градиента давления и скорости воздушного потока на слизистую оболочку носа, которые создаются в условиях физиологического носового дыхания. Результаты риноманометрии выдаются прибором в виде графика в системе координат, причем форма и параметры полученной кривой определяют степень нарушения носового дыхания. Для изучения был выбран один показатель: суммарное сопротивление воздушному потоку, выражающееся в Па/см<sup>3</sup>/с. Для исключения влияния на обследование носового цикла применялся назальный деконгестант — 0,1% раствор ксимелина в виде дозированного спрея.

Способы статистической обработки полученных данных включали в себя параметрические методы исследования, в частности средние величины (M), их достоверность через ошибку средних ( $\pm m$ ), доверительный интервал ( $tm=A$ ) и коэффициент Стьюдента [5].