

С.В. Тимофеев, А.В. Борсуков, Е.С. Коваленко, А.Х. Амиров

ФГОУ ВПО Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина, Проблемная научно-исследовательская лаборатория «Ультразвуковые исследования и Малоинвазивные технологии» (Смоленская государственная медицинская академия), Отдел ветеринарной медицины Смоленского научно-исследовательского института сельского хозяйства Россельхозакадемии

ВОЗМОЖНОСТИ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО ЛИЗИСА ПРИ ЛЕЧЕНИИ ОПУХОЛЕЙ ЗЛОКАЧЕСТВЕННОГО ГЕНЕЗА У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ КРЫС

Проблема злокачественных новообразований представляет большой интерес, как с биологической, так и с медико-ветеринарной точки зрения. Вряд ли существует другая научная проблема, которая привлекала бы такое большое число исследователей самых различных направлений.

Опухоли широко распространены в природе и встречаются не только у человека, но и у всех видов животных, в том числе у домашних, диких и лабораторных.

Исходя из сказанного, любой научный труд по онкологии, содержащий фактический материал по распознаванию и лечению новообразований в различных органах и системах животного организма, следует рассматривать как ценный вклад в сокровищницу науки и клинической практики. [78.11.].

На сегодняшний день методом выбора при лечении злокачественных опухолей печени является ее резекция [5]. Несмотря на значительные успехи в хирургическом лечении опухолей печени у 80-85% пациентов выполнить радикальные операции невозможно [10]. В 70% операция удаления метастатического узла признана невозможной по общеклиническому состоянию и в 30% установлена нерезектабельность самого метастатического очага [6]. Рецидив опухоли в течение 3-5 лет после резекции печени наблюдается у 70-90% пациентов. Из них повторную резекцию удается выполнить не более чем в 10% случаев.

Из выше изложенного очевидно, что паллиативная противоопухолевая терапия требуется более чем у 80% больных с метастатическими поражениями печени.

Последнее десятилетие характеризовалось значительным интересом к различным методам локального воздействия на опухолевый процесс [2.6.9.]. К данным методам относятся: радиочастотная абляция, склеротерапия этиловым спиртом, кри-

одеструкция, микроволновая коагуляция и электрохимический лизис [1.3.12.].

Электрохимический лизис – это форма абляции, достигающая деструкцию ткани путем использования постоянного тока.

Диапазон использования ЭХЛ весьма широк: злокачественные и доброкачественные опухоли пищевода, гортани, молочной железы, предстательной железы, поджелудочной железы, кожи, легких, головы, шеи, щитовидной железы [4.].

Имеющиеся в настоящее время экспериментальные и клинические работы, посвященные использованию ЭХЛ в онкологии, не дают ответа на некоторые вопросы.

Во-первых, выбор режима ЭХЛ, а в частности определения расстояния между электродами, времени воздействия и расстояния между электродами, носит в настоящее время эмпирический характер и основывается в основном на опыте врача. Так, по словам Рудольфа Пекара, одного из родоначальников ЭХЛ, при проведении ЭХЛ «врачебное искусство заключается в правильной интерпозиции электродов и выборе оптимального значения силы тока и времени воздействия...» [8.].

Литературных данных не достаточно, чтобы построить модель поведения биологического объекта «опухолевая ткань», на основании которой можно было бы прогнозировать результат лечения в каждом конкретном случае, а соответственно и выбрать индивидуальный режим ЭХЛ для достижения максимального девитализирующего эффекта с минимальными побочными эффектами.

Цель исследований – экспериментально обосновать выбор режима электрохимического лизиса (ЭХЛ) опухолей злокачественного генеза.

Отсюда исходят следующие задачи:

- выявить типы морфологических реакций опухолевой ткани на ЭХЛ;

Таблица 1

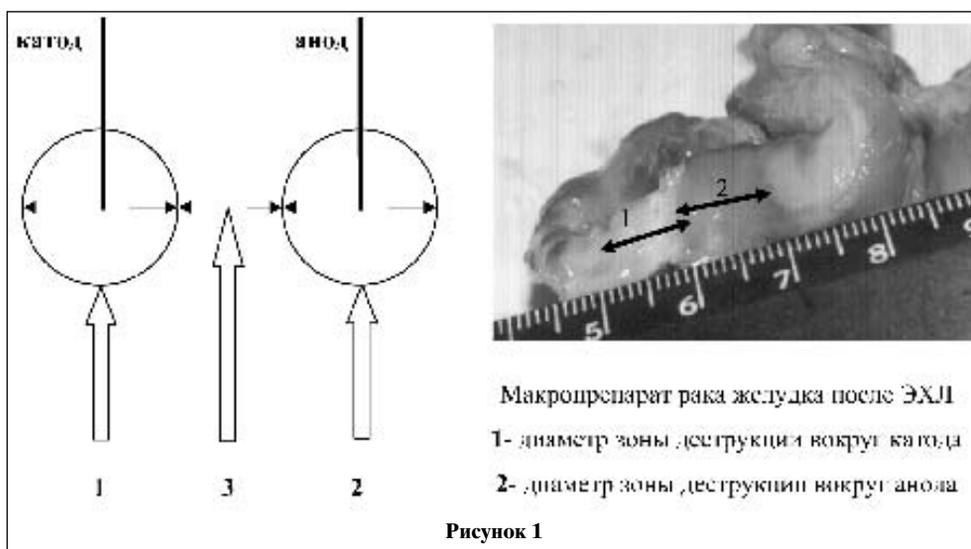
Макропрепараты опухолей, используемых в эксперименте.

Локализация опухоли	Количество
Рак желудка	18
Кардиоэзофагеальный рак	1
Рак слепой кишки	2
Рак восходящей ободочной кишки	1
Рак печеночного угла ободочной кишки	1
Рак поперечно-ободочной кишки	4
Рак сигмовидной кишки	3
Рак прямой кишки	4
Рак ректосигмоидного отдела толстого кишечника	2

Таблица 2

Факторные признаки.

Факторный признак	Градации факторного признака	Единицы измерения
Сила тока	75,50,90	mA
Время воздействия	20,40	минута
Расстояние между электродами	10,15	мм



- выявить зависимость размера деструкции опухолевой ткани при ЭХЛ от режимных параметров;

- проверить работоспособность выявленных зависимостей.

Материалы и методы: Было проведено 85 сеансов электрохимического лизиса опухолевой ткани. При этом было использовано 36 макропрепаратов опухолей желудочно-кишечного тракта, полученных интраоперационно (ЭХЛ проводился в течение 1-2 часов после удаление опухоли). Структура макропрепаратов опухолей, используемых в эксперименте, в зависимости от локализации патологического процесса представлена в таб. №1.

Факторными признаками были: сила тока (I), время воздействия (t), расстояние

между электродами (r). Каждый факторный признак имел 2 градации (таблица 2).

После проведения ЭХЛ проводилась визуальная и гистологическая оценка опухолевой ткани. Визуальная оценка включала измерение следующих зон: зона макроскопически измененной ткани вокруг катода – 1, зона макроскопически измененной ткани вокруг анода – 2, зона макроскопически неизмененной ткани между электродами – 3 (рисунок 1).

Гистологическая оценка особенностей тканевого патоморфоза проводилась в зависимости от полярности электрода и режима ЭХЛ. Оценивались 5 гистологических зон (рисунок 2):

Для гистологической оценки каждой зоны отбирался материал объемом 125

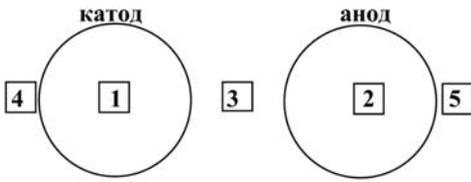
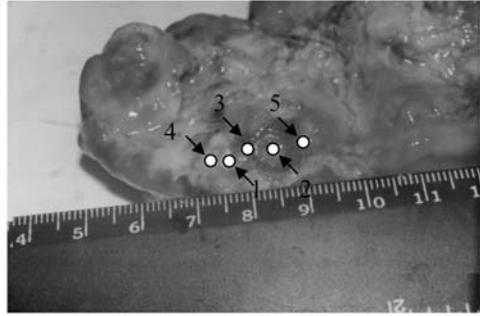


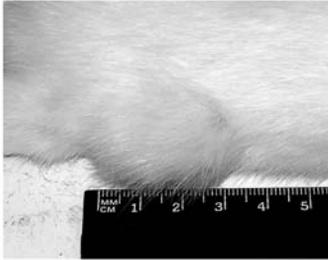
Схема гистологической оценки



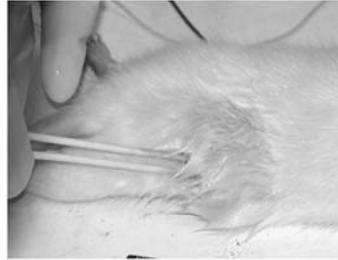
Макропрепарат рака желудка после ЭХЛ

- 1 – цент зоны макроскопически измененной ткани вокруг катода;
- 2 – центр зоны макроскопически измененной ткани вокруг анода;
- 3 – центр зоны макроскопически неизмененной ткани между электродами;
- 4 – 5 мм от границы зоны макроскопически измененной ткани вокруг катода в сторону неизмененной ткани;
- 5 – 5 мм от границы зоны макроскопически измененной ткани вокруг анода в сторону неизмененной ткани.

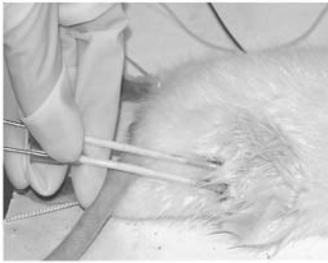
Рисунок 2.



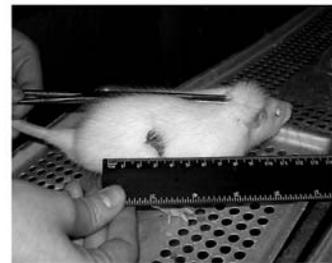
Опухолевый узел через 1 месяц после привития



Введение проводников для электродов



ЭХЛ привитой опухоли



Через 10 дней после ЭХЛ

Рисунок 3.

мм³. Препараты окрашивались гематоксилин-эозином. Гистологическая оценка, проводимая путем световой микроскопии (увеличение $\times 120$), включала характер некроза тканевых структур, включая строму, сосудистые структуры, характер дистрофии клеток.

Формулы, описывающие зависимость диаметра суммарной зоны деструкции вок-

руг электродов (зоны деструкции вокруг катода + зона деструкции вокруг анода) и диаметра зоны макроскопически неизмененной ткани вокруг электродов, были получены путем множественного регрессионного анализа данных визуальной оценки.

Для проверки работоспособности полученных зависимостей была привита пересаживаемая опухоль РС-I (гепатоцеллю-

Варианты ответов опухолевой ткани на ЭХЛ.

Варианты ответов	Морфологическая характеристика
Слабо выраженная деструкция.	Изменение объема клеток (увеличение или уменьшение), изменение структуры цитоплазмы (появление зернистости, вакуолизации, если таковой раньше не было), уменьшение или увеличение ядер, изменение формы опухолевых гистологических комплексов клеток (железы при аденокарциноме, трабекулы, тяжи, очаговые скопления клеток и т.д.), изменение хромности (цветовой насыщенности – гипо- или гиперхромия).
Умеренно выраженная деструкция.	Деформация клеток и ядер, частичное разрушение комплексов из клеток или отдельных комплексов, деформация клеток стромы.
Выраженная деструкция.	Резкая деформация клеток и ядер с разрушением многих из них, разрушение групп комплексов, разрушение клеток и гистологических компонентов стромы (нервов, сосудов и др.). Потеря связи между клетками (клетки лежат беспорядочно). Неравномерность окраски ткани.
Субтотальный и тотальный некроз.	Тотальная или субтотальная утрата гистологической структуры ткани.

лярный рак) 20 белым беспородным крысам (самцам) с проведением ЭХЛ через 1 месяц. Объем привитых опухолевых узлов на момент лизиса колебался от 525 мм³ до 1733 мм³. Режимные параметры ЭХЛ выбирались на основании полученных зависимостей (рис. 3).

После ЭХЛ была проведена немедленная (после ЭХЛ непосредственно), ранняя отсроченная (через 1 месяц после ЭХЛ), отсроченная (через 3 месяца после ЭХЛ), отдаленная (через 6 месяцев после ЭХЛ) визуальная (определение размеров) и гистологическая оценка опухолевого узла, капсулы и окружающих тканей.

Результаты исследований.

Гистологические варианты ответов опухолевой ткани на ЭХЛ можно представить в виде: слабо выраженной деструкции, умеренно выраженной деструкции, выраженной деструкции, субтотального и тотального некроза. Морфологическая характеристика каждого из вышеуказанных вариантов представлена в таблице 3.

Выраженная деструкция опухолевой ткани, субтотальный и тотальный некроз соответствуют III и IV степени опухолевого патоморфоза, что свидетельствует о полной девитализации опухолевой ткани.

Морфологические особенности воздействия ЭХЛ на опухолевую ткань в зависимости от полярности электродов, удаленности от электрода, силы тока, времени воздействия и расстояния между электродами представлены в таблице 4.

Из вышепредставленной таблицы видно, что выраженная деструкция, тотальный и субтотальный некроз опухолевой ткани могут быть достигнуты при силе тока не менее 75 мА.

Уравнение (находится в стадии оформления патента), описывающее зависимость

диаметра суммарной зоны макроскопически измененной ткани вокруг электродов от факторных признаков:

$$Dc = K1CI + K2Ct + K3Cr, \text{ где}$$

Dc – диаметр суммарной зоны деструкции опухолевой ткани вокруг электродов;

I – сила тока;

t – время воздействия;

r – расстояние между электродами;

K1 ; K2 ; K3 – коэффициенты.

Данное уравнение описывает 95% выборочных показателей.

Уравнение (находится в стадии оформления патента), описывающее зависимость диаметра зоны макроскопически неизменной ткани между электродами от факторных признаков имеет следующий вид:

$$D = M1CI + M2Ct + M3Cr, \text{ где}$$

D – диаметр зоны макроскопически неизменной опухолевой ткани между электродами;

I – сила тока;

t – время воздействия;

r – расстояние между электродами;

M1; M2; M3 – коэффициенты.

Данное уравнение описывает 51% выборочных данных.

Зоны макроскопически измененной опухолевой ткани привитых узлов вокруг электродов сразу же после проведения ЭХЛ были представлены до 50% объема узла некрозом, на остальных участках отмечалась умеренно выраженная и выраженная деструкция. Участок макроскопически неизменной ткани между зонами деструкции вокруг электродов характеризовался умеренно выраженной деструкцией.

При оценке зоны ЭХЛ через месяц после деструкции привитой опухоли у 3 крыс в месте локализации опухоли определялся очаг, представленный «молодой» соедини-

Морфологические особенности воздействия ЭХЛ на печеночную ткань в зависимости от полярности электродов, удаленности от электрода и режима ЭХЛ.

Режим ЭХЛ	1 5 мм от границы видимо измененной ткани вокруг анода в сторону неизменной ткани.	2 Центр зоны измененной ткани вокруг анода.	3 Центр зоны видимо неизменной ткани между электродами	4 Центр зоны измененной ткани вокруг катода.	5 5 мм от границы видимо измененной ткани вокруг катода в сторону неизменной ткани.
90 mA 10 mm 20 min	Во всех полях зрения умеренная деструкция.	Во всех полях зрения тотальный некроз.	Во всех полях зрения выраженная деструкция.	Во всех полях зрения тотальный некроз.	Во всех полях зрения умеренная деструкция.
90 mA 10 mm 40 min	Во всех полях зрения умеренная деструкция.	Во всех полях зрения тотальный некроз.	Во всех полях зрения тотальный некроз.	Во всех полях зрения тотальный некроз.	Во всех полях зрения умеренная деструкция.
90 mA 15 mm 20 min			Во всех полях зрения умеренная деструкция.		
90 mA 15 mm 40 min			Во всех полях зрения умеренная деструкция.		
75 mA 10 mm 20 min		Умеренная деструкция паренхиматозного компонента, слабая деструкция стромального компонента		Выраженная деструкция субтотальный некроз) паренхиматозного компонента, слабая, очагами умеренная деструкция стромального компонента.	
75 mA 10 mm 40 min		Во всех полях зрения умеренная деструкция.	Во всех полях зрения умеренная деструкция.	Во всех полях зрения умеренная деструкция.	
75 mA 15 mm 20 min		Во всех полях зрения умеренная деструкция.	Во всех полях зрения умеренная деструкция.	Во всех полях зрения умеренная деструкция.	
50 mA 10 mm 20 min		Во всех полях зрения структуры опухолевой ткани с явлениями умеренной деструкции.	1/3 полей зрения умеренная деструкция, на остальных участках слабая.	Во всех полях зрения структуры опухолевой ткани с явлениями умеренной деструкции.	
50 mA 10 mm 40 min		Во всех полях зрения структуры опухолевой ткани с выраженной деструкцией.	Во всех полях зрения структуры опухолевой ткани с умеренной деструкцией.	Во всех полях зрения структуры опухолевой ткани с умеренной деструкцией.	

тельной тканью с элементами лимфоцитарной инфильтрации (рис. 4А). У 1 крысы в очаге, состоящем из «молодой» соединительной ткани определялись 2 полости, заполненные рыхлыми массами (слизь) – остатки псевдожелезистых структур формы гепатоцеллюлярного рака на фоне выраженного патоморфоза (рис. 4Б). У 1 крысы отмечалось уменьшение опухолевого узла с 882 мм³ до 31,5 мм³ (рис. 4В).

Отсроченные результаты (через 3 месяца после ЭХЛ) характеризовались пол-

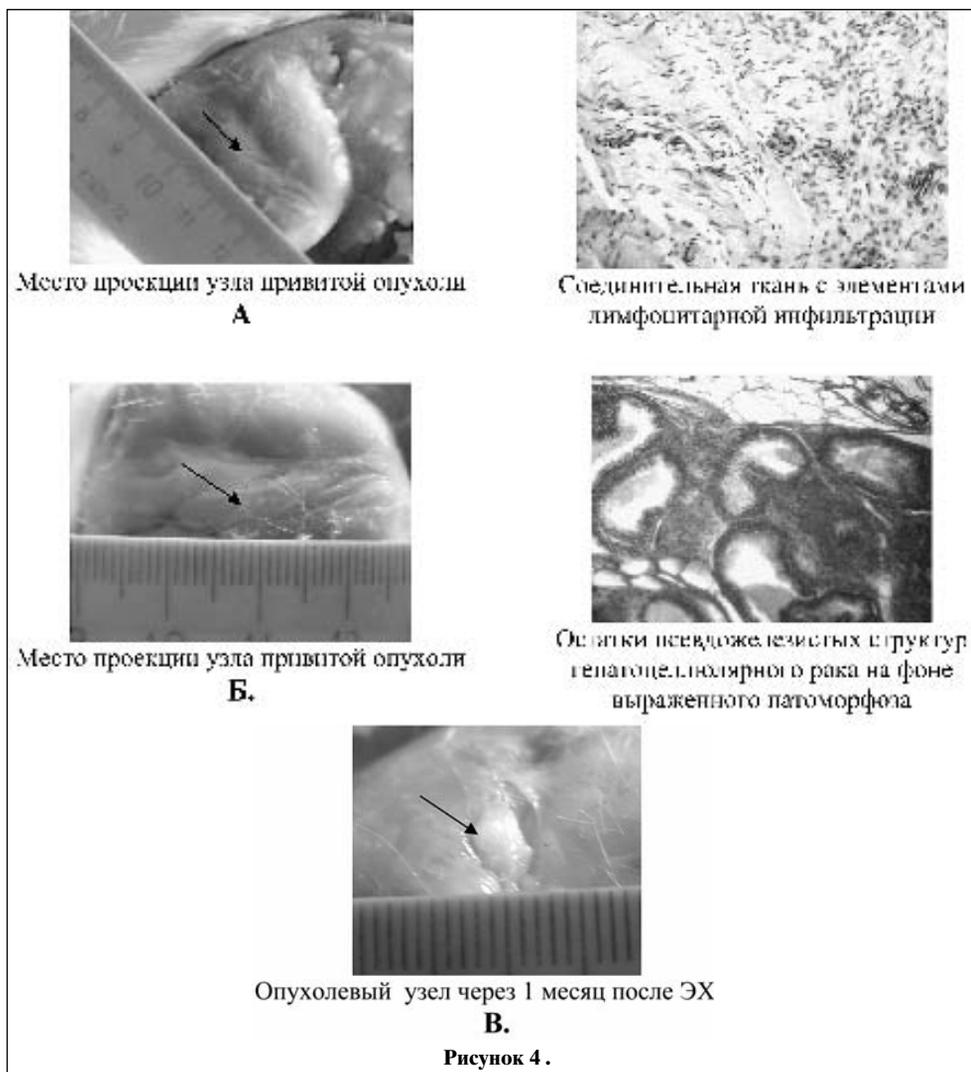
ной регрессией опухоли в 1 случае, частичной регрессией опухоли в 1 случае (уменьшение опухолевого узла от 1050 мм³ до 105 мм³) и прогрессией опухоли в 3 случаях.

Отдаленные результаты представлены в виде полной регрессии в 2 случаях и частичной регрессии в 3 случаях. При этом в 2-х случаях отмечалось уменьшение опухолевого узла до 630 мм³ (начальный объем опухоли – 1260 мм³) и до 236 мм³ (начальный объем опухоли – 945 мм³) (Рис. 5).

Один случай частичной регрессии ха-

Результаты ЭХЛ привитых опухолей.

Результат	Через 1 месяц после ЭХЛ	Через 3 месяца после ЭХЛ	Через 6 месяцев после ЭХЛ
Полная регрессия	3	1	2
Частичная регрессия	2	1	3
Прогрессия	0	3	-



рактировался тем, что опухолевый узел в месте его проекции не визуализировался, однако при гистологическом исследовании тканей места проекции узла в «рубцовой» ткани на фоне смешанной воспалительной инфильтрации определялись одиночные компоненты опухолевой ткани (рис. 6).

Суммарные результаты ЭХЛ привитых опухолей представлены в таблице 5

Общее количество полных регрессий составляет 6, частичная регрессия – 6, прогрессия – 3.

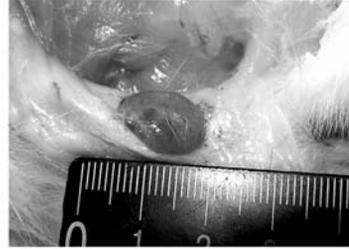
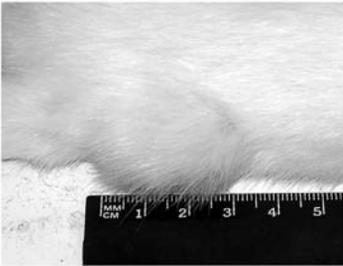
Дифференцированная характеристика результатов в зависимости от начального объема узла представлена в таблице 6.

Заключение. Морфологические варианты реакции опухолевой ткани на ЭХЛ представлены в виде 4 степеней деструкции: слабая деструкция, умеренно выраженная деструкция; выраженная деструкция; субтотальный и тотальный некроз.

Выраженная деструкция, тотальный и субтотальный некроз достигается при использовании силы тока не менее чем 90 мА.

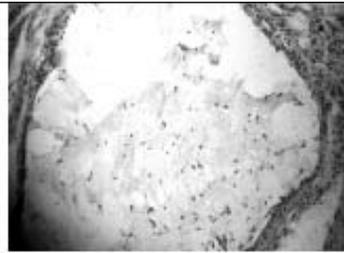
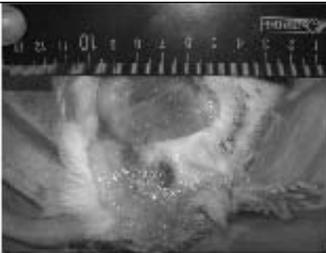
Результаты ЭХЛ привитых опухолей в зависимости от объема опухолевого узла.

Ранние отсроченные результаты (1 месяц после ЭХЛ)		
Начальный объем узла (мм ³)	Объем узла после ЭХЛ (мм ³)	Результат
529	-	Полная регрессия
623	-	Полная регрессия
525	-	Полная регрессия
889	31,5	Частичная регрессия
840	Макроскопически не визуализируется, микроскопически определяются остатки псевдожелезистых структур гепатоцеллюлярного рака на фоне выраженного патоморфоза	Частичная регрессия
Отсроченные результаты (3 месяца после ЭХЛ)		
Начальный объем узла (мм ³)	Объем узла после ЭХЛ (мм ³)	Результат
630	-	Полная регрессия
1050	105	Частичная регрессия
1355	3150	Прогрессия
1733	5670	Прогрессия
1470	4410	Прогрессия
Отдаленные результаты (6 месяцев после ЭХЛ)		
Начальный объем узла (мм ³)	Объем узла после ЭХЛ (мм ³)	Результат
735	-	Полная регрессия
735	-	Полная регрессия
945	236	Частичная регрессия
1260	630	Частичная регрессия
787	Макроскопически не визуализируется, микроскопически определяются на фоне смешанной воспалительной инфильтрации определялись одиночные компоненты опухолевой ткани	Частичная регрессия



Опухолевый узел до ЭХЛ (объем узла 945мм³) Опухолевый узел через 6 месяцев после ЭХЛ (объем узла 236 мм³)

Рисунок 5.



Место проекции опухолевого узла (через 6 месяцев после ЭХЛ) В рубцовой ткани на фоне воспалительной инфильтрации определяются одиночные компоненты опухолевой ткани.

Рисунок 6.

Выявленные зависимости размера деструкции опухолевой ткани от режимных параметров ЭХЛ позволяют планировать параметры ЭХЛ в зависимости от необходимого объема деструкции.

ЭХЛ может быть использован как самостоятельный метод девитализации опухоли, так и в предоперационном периоде для повышения условия абластичности оперативного пособия.

Литература

1. А. В. Борсуков Оценка результатов склеротерапии злокачественных опухолей печени по данным ультразвуковой томографии. В кн.: *Анн. хир. гепатологии. Материалы IV конференции хирургов-гепатологов. Тула, 1996 г.* С. 203.
2. А. В. Борсуков – Перспективы малоинвазивного электрохимического лизиса злокачественных очаговых поражений печени. В кн.: *Научно-технический прогресс отечественной лучевой диагностики и лучевой терапии. 2004 г.* С.36-39.
3. А. В. Борсуков. и соавт. Миниинвазивная склеротерапия 96% этанолом единичных метастазов и неосложненных кист печени. *Анналы хирургической гепатологии. Т. 9. №1, 2004 г.* С. 79-89.
4. А. В. Борсуков. Способ малоинвазивного электрохимического лизиса метастазов в печени. Патент RU 2229904, положительное решение Российского агентства по патентам и товарным знакам (ФИПС) от 6 января 2004 года.
5. Д. А. Гранов, П. Г. Таразов, В. Н. Польшалов, А. А. Поликарпов. Регионарная химиотерапия после резекции печени по поводу рака В кн.: *Анн. хир. гепатологии. Материалы IV конференции хирургов-гепатологов. Тула, 1996 г.* С. 214-215.
6. А. А. Пономарёв., Е. П. Куликов., Н. С. Караваев. Опухоли и опухолеподобные образования печени и желчных протоков. Рязань: «Узорочье», 2000. 372 с.
7. Профилактика злокачественных опухолей. Под ред. А. И. Сереброва и С. А. Холдина. М., «Медицина», 1974.
8. П. Ф. Терехов *Ветеринарная клиническая онкология.* М.: Колос, 1983.
9. А. В. Шапошников., Ю. С. Сидоренко., А. В. Тетерников., Ю. Н. Бордюшков, Е. М. Непомнящая., А. А. Перфилов *Локальная терапия опухолей печени. Новые направления. Актуальные проблемы современной хирургии: материалы конгресса 22-25 февраля 2003 г.* Москва
10. А. В. Шапошников, Ю. Н. Бордюшков, Е. М. Непомнящая, А. А. Перфилов. Локальная терапия нерезектабельных опухолей печени. *Анналы хирургической гепатологии. 2004. том 9. № 1.* с. 89-94.
11. Лейкозы и злокачественные опухоли животных. Под ред. В. П. Шишкова и Л. Г. Бурбы. М., «Колос», 1977.
12. В. И. Ярема и соавт. Особенности выполнения чрескожной чреспеченочной внутриопухолевой акватермодеструкции под ультразвуковым контролем в хирургическом компоненте лечения метастатических раков печени. В кн.: *Материалы VIII симпозиума с международным участием «Современные методы инструментальной диагностики».* М.: Фирма СТРОМ, 2004 С. 218-222.
13. Bouzani H., Polastri R., Galgario M. et al. *Second World Congress International Hepato-Pancreato-Pancreato-Biliary Association. Biologny 1996 P. 026.*

УДК 619:576.8.0573.29

В. Ю. Чепкова

ГНУ Краснодарский научно-исследовательский ветеринарный институт

ИММУНОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ОРГАНОВ КРЫС ПОД ВЛИЯНИЕМ СОЧЕТАНИЯ МИКОТОКСИНОВ И ИХ ФАРМАКОКОРРЕКЦИЯ

В настоящее время перед животноводством остро стоит проблема получения максимального количества продукции высокого качества при минимальных денежных затратах. Данной цели невозможно достичь без создания стад животных с сильной иммунной системой, способной противостоять стрессовым воздействиям окружающей среды.

В условиях тёплого и влажного климата Краснодарского края серьёзную опасность представляют микотоксикозы – заболевания животных, вызванные попаданием в организм с кормом ядовитых продуктов жизнедеятельности грибов. Острые микотоксикозы хотя и отличаются

широким охватом поголовья и высокой летальностью, но сравнительно легко диагностируются и ликвидируются путём исключения поражённого корма. Хронические же микотоксикозы представляют ещё большую опасность, так как в настоящее время практически не диагностируются ввиду отсутствия ярко выраженных клинических признаков (Иваницкий М. Е., 2000; Кравцов А. П., 2000). Поступление в организм нескольких различных токсинов даже в субтоксических дозах приводят к развитию заболевания, характеризующегося снижением естественной резистентности организма, иммунодефицитными состояниями, уменьшением