

## Литература

1. Караюлян С.Р., Сванидзе Н.Л. Усиление регенерации при обширных поражениях печени // Хирургия. – 1985. – №2. – С. 139-143.
2. Логинов А.С., Блок Ю.Е. Хронические гепатиты и циррозы печени. – М.: Медицина, 1987. – 273 с.
3. Низкие температуры при лечении хронических диффузных заболеваний печени / Б.П. Сандомирский, Н.С. Сигал, Н.В. Дубровский. – Киев: Наук. думка, 1992. – 136 с.
4. Петренко А.Ю., Оченашко О.В. Влияние препаратов эмбриональных тканей человека на интенсивность перекисного окисления липидов при остром токсическом гепатите у крыс // Пробл. криобиологии. – 2001. – №2. – С. 66-71.
5. Рубецкой А.С., Короткина Р.Н. Методика создания экспериментального цирроза у кроликов // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1960. – Т.6, №2. – С.122-124.
6. Рябчиков О.П., Кузнецова Л.В., Назимова С.В. и др. Гормональный и клеточный состав препаратов фетальных тканей человека // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 1998. – Т.126, прил.1. – С. 156-157.
7. Сигал Н.С. Деструктивно-восстановительные процессы после криовоздействий на патологически измененную печень: Автореф. дис... канд. биол. наук. – Харьков, 1989. – 16 с.
8. Солопаева И.М., Косых А.А., Жданова Т.Ф. и др. Сравнение хронической патологии печени в эксперименте и клинике / Биологическая характеристика лабораторных животных и экстраполяция на человека экспериментальных данных. – М., 1980. – С. 276-277.
9. Cremones R.V., Pereira-Filho A.A., Magalhaes R. et al. Experimental cirrhosis induced by carbon tetrachloride inhalation: adaptation of the technique and evaluation of lipid peroxidation // Arg. Gastroenterol. – 2001. – Vol.38, №1. – P. 40-47.
10. Sennikov S.V., Krysov S.V., Injelevskaya T.V. Production of cytokines by immature erythroid cells derived from human embryonic liver // Eur. Cytokine Netw. – 2001. – Vol.12, №2. – P. 274-279.

Поступило 15.10.2002

## References

1. Karagyulyan S.P., Swanidze N.P. Regeneration potentiation at extensive injuries of liver // Khirurgiya. – 1985. – N2. – P. 139-143.
2. Loginov A.S., Blok Yu. Ye. Chronic liver hepatitis and cirrhoses. – M.: Meditsina, 1987. – 273 p.
3. Low temperatures in treating of chronic diffuse diseases of liver / Sandomirsky B.P., Sigal N.S., Dubrovskiy N.V. – Kiev: Naukova dumka, 1992. – 136 p.
4. Petrenko A. Yu., Ochenashko O.V. Influence of human embryonic tissue preparations on lipids peroxidation intensity in rats acute toxic hepatitis // Probl. of Cryobiology. – 2001. – N2. – P. 66-71.
5. Rubetskoy A.S., Korotkina R.N. Method of obtaining of experimental cirrhosis in rabbits // Byul. Eksperim. Biol. i Med. – 1960. – V.6, N2. – P. 122-124.
6. Ryabchikov O.P., Kuznetsova L.V. et al. Hormonal and cellular composition of human fetal tissues preparations // Byul. Eksperim. Biol. i Med. – 1998. – V.126, Suppl.1. – P. 156-157.
7. Sigal N.S. Destruction and reparation processes after cryoeffect on pathologically changed liver: Author's thesis for obtaining the candiditates degree (biology). – Kharkov, 1989. – 16 p.
8. Solopayeva I.M. Kosykh A.A., Zhdanova T.F. et al. Comparing of liver chronic pathologies in experiment and in clinics / Biological characteristic of laboratory animals and extrapolation of experimental data for human. – Moscow, 1980. – P. 276-277.
9. Cremones R.V., Pereira-Filho A.A., Magalhaes R. et al. Experimental cirrhosis induced by carbon tetrachloride inhalation: adaptation of the technique and evaluation of lipid peroxidation // Arg. Gastroenterol. – 2001. – Vol.38, №1. – P. 40-47.
10. Sennikov S.V., Krysov S.V., Injelevskaya T.V. Production of cytokines by immature erythroid cells derived from human embryonic liver // Eur. Cytokine Netw. – 2001. – Vol.12, №2. – P. 274-279.

Accepted in 15.10.2002

УДК 615.832.9:617:616-001/19:612.135:611.36+616.36-004

UDC 615.832.9:617:616-001/19:612.135:611.36+616.36-004

## Реакции микрогемодикуляции печени на низкотемпературное воздействие

И.В. СЛЕТА

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

## Responses of Liver Microhaemocirculation on Low-Temperature Effect

СЛЕТА I.V.

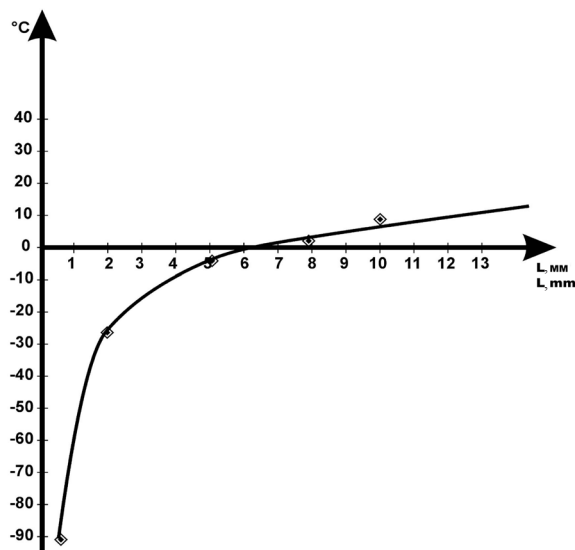
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine, Kharkov

Применение в гепатологии криохирургических методов потребовало серьезных экспериментальных исследований низкотемпературного повреждения печени [1,4,5]. Одной из первичных и основных “мишеней” для реализации низкотемпературного воздействия на ткань является микрогемодикуляторное русло [3]. Цель работы - определение закономерностей формирования ответных реакций микрогемодикуляции печени при локальном криовоздействии.

Исследования проведены на 75 крысах-самцах линии Вистар. Основным методом изучения микрогемодикуляции была витальная микроскопия с помощью контактного микроскопа Люмам К-1 [2]. Транспорт

Application of cryosurgical methods in hepatology requires profound experimental investigations of liver low-temperature damage [1, 4, 5]. Microhaemocirculatory flow is one of the initial and main “targets” for realisation of low-temperature effect on tissue [3]. Determination of the regularities of responses' formation in liver microhaemocirculation at a local cryoeffect was the aim of the work.

Investigations were performed in 75 Wistar male rats. The main method for studying the microhaemocirculation was vital microscopy with Lumam K-1 contact microscope [2]. Protein transport in liver was studied under intravenous injection of globulin, labeled with fluoresceine isothiocyanate (FITC). Cryoeffect on liver was performed by means of



**Рис. 1.** Распределение минимальных температур в зависимости от удаления от центра криовоздействия:  $\blacklozenge$  – экспериментальные значения

**Fig. 1.** Distribution of minimal temperatures depending on the distance from the center of cryoeffect:  $\blacklozenge$  - experimental values

белков в печени изучали при внутривенном введении глобулина, меченного изотиоцианатом флюоресцеина (ФИТЦ). Криовоздействие на печень осуществляли аппликатором с диаметром наконечника 1,5 мм и температурой на поверхности  $-93^{\circ}\text{C}$  в течение 2 мин.

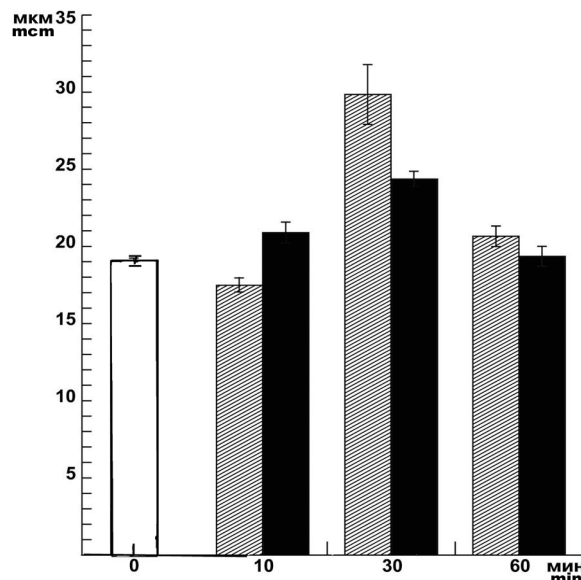
В результате анализа данных термометрии в печени после криовоздействия было выделено 3 зоны: I - зона оледенения (температура от  $-30^{\circ}\text{C}$  в центре до  $-6^{\circ}\text{C}$  на границе); II – зона охлаждения или пограничная зона (температура от  $-6$  до  $0^{\circ}\text{C}$ ); III – зона гипотермии с температурой выше  $0^{\circ}\text{C}$ ) (рис. 1).

Криовоздействие вызывало кратковременный спазм всех элементов микрогемодикуляторного русла, сменяющийся их продолжительной дилатацией (рис.2).

Сопоставление результатов термометрии и биомикроскопических исследований показало, что только в зоне I происходили необратимые нарушения микрососудов и формирование крионекроза. В связи с полным отсутствием кровотока меченый ФИТЦ-глобулин не обнаруживался.

В пограничной зоне охлаждение ткани ниже  $0^{\circ}\text{C}$  вызывало микрогемодикуляторные изменения, соответствующие острой фазе воспалительного процесса, что подтверждалось нарушением сосудисто-тканевой проницаемости. В первые минуты после криовоздействия меченый ФИТЦ-глобулин проникал в паренхиматозные клетки, в норме непроницаемые для белка. Через 1 ч. после криовоздействия наблюдалась максимальная интенсивность свечения пограничной зоны (рис. 3), через 3 ч. – четкое разграничение зоны ишемического некроза и участков печени, кровотока в которых сохранялся. Однако около 30% синусоидов в этой зоне по-прежнему затромбированы. Через 6 ч после криовоздействия на печень в большинстве микрососудов пограничной зоны кровотока восстанавливался (рис.4). Через 1 сут кровотока в печени за пределами зоны некроза мало отличался от исходного состояния (рис.5)

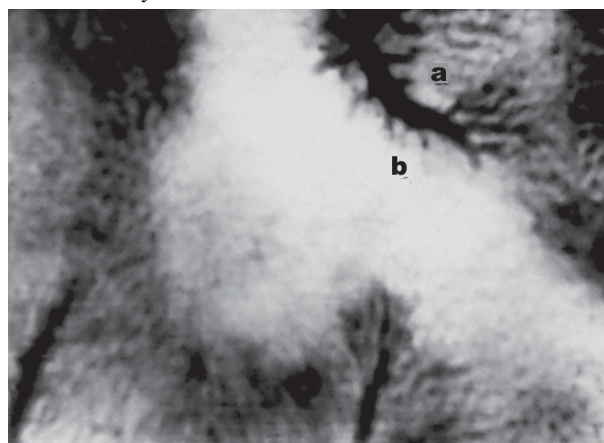
Локальное криовоздействие на печень не оказывало необратимого и продолжительного влияния на периферийные участки органа (рис.6).



**Рис. 2.** Изменение диаметров терминальных печеночных венул после локального криовоздействия:

- $\square$  - до криовоздействия;
- $\square$  - пограничная зона;
- $\blacksquare$  - зона, удаленная от центра криовоздействия на 10 мм.

**Fig. 2.** Changes of the diameters of liver terminal venules after a local cryodamage:  
 $\square$  - before the cryoeffect;  
 $\square$  - boundary zone;  
 $\blacksquare$  - zone, in the distance of 10 mm from the center of cryoeffect



**Рис. 3.** Распределение глобулина, меченного ФИТЦ, в печени через 1 ч после криовоздействия на печень (об.х10, ок.х7): а – зона оледенения; б – пограничная зона.

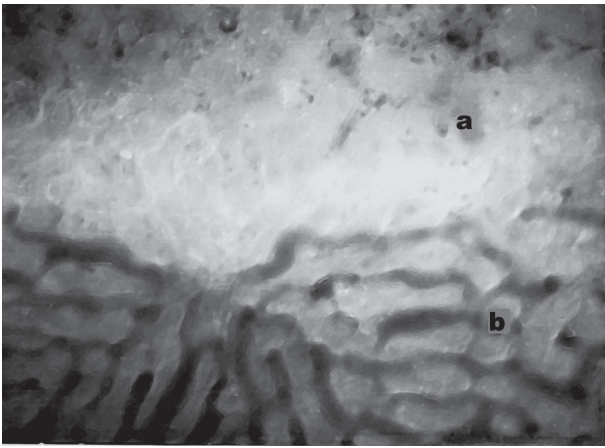
**Fig. 3.** Distribution of FITC labeled globulin in liver in 1 hr after the cryoeffect on liver (magnification: objective x10, ocular tube x7): a – freezing zone; b – boundary zone

applicator with 1,5mm tip and the temperature in the surface of  $-93^{\circ}\text{C}$ .

As a result of the analysis for thermometry data in liver after the cryoeffect 3 zones were notable: I – freezing zone (temperature from  $-30^{\circ}\text{C}$  in the centre up to  $-6^{\circ}\text{C}$  on the border); II – cooling (boundary) zone (temperature from  $-6^{\circ}\text{C}$  up to  $0^{\circ}\text{C}$ ); III – hypothermia zone with the temperature higher than  $0^{\circ}\text{C}$  (Fig. 1).

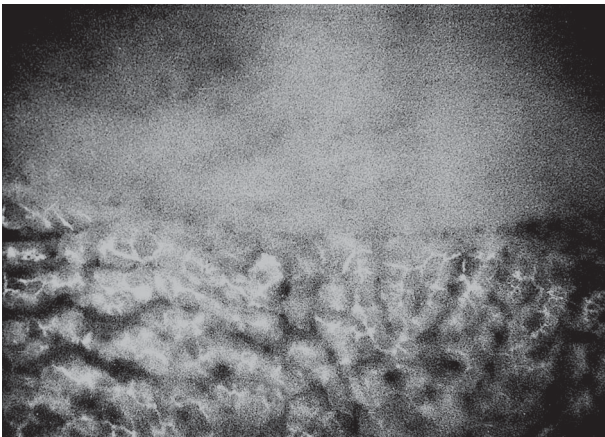
Cryoeffect caused a short-term spasm of all the elements of microhaemodicyulatory flow, followed by their prolonged dilatation (Fig. 2).

Comparison of the thermometry and biomicroscopic results demonstrated, that only in zone I the irreversible



**Рис. 4.** Граница зоны крионекроза через 6 ч после криоповреждения нормальной печени крысы (об.х25, ок.х7): а – зона оледенения; б – пограничная зона.

**Fig. 4.** Boundary of cryonecrosis zone in 6 hrs after a cryoeffect on rat liver (magnification: objective x25, ocular tube x7): a – freezing zone; b – boundary zone.



**Рис. 5.** Граница зоны крионекроза через 1 сут после криовоздействия на печень крысы (об.х20, ок.х7).

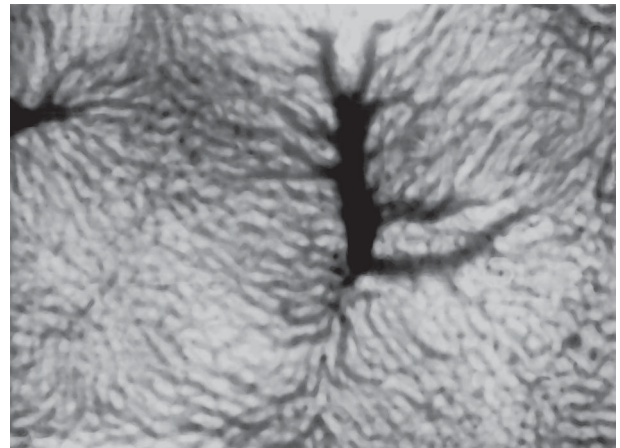
**Fig. 5.** Boundary of cryonecrosis zone in 1 day after a cryoeffect on rat liver (magnification: objective x20, ocular tube x7).

Таким образом, прижизненное наблюдение влияния дозированного локального криовоздействия на печень экспериментальных животных позволило ранжировать зависимость местных микрогемодициркуляторных реакций от времени и глубины охлаждения, ограничить значащие температурные зоны и установить главные направления патоморфоза в них.

### Литература

1. *Парамонова Л.М.* Криохирurgia печени в эксперименте. // Достижения криомедицины / Межд. симпозиум (С.-Петербург, 7-8 июня 2001). – СПб, 2001. – С. 147-150.
2. *Чернух А.М., Александров П.Н., Алексеев О.В.* Микроциркуляция. – М.: Медицина, 1984. – 489 с.
3. *Шафранов В.В., Цыганов Д.И., Виссарионов В.А. и др.* Криохирurgia – теория и практика // Мед. криология: Сб. науч. тр. Вып. 1. – Н. Новгород, 2001. – С. 183-192.
4. *Gilbert J.C., Rubinsky B., Wong S.T. et al.* Temperature determination in the frozen region during cryosurgery of rabbit liver using MR image analysis // Magn. Reson. Imaging. – 1997. – Vol. 15, N6. – P. 657-667.
5. *Rubinsky B., Lee C.Y., Bastacky J., Onik G.M.* The process of freezing and the mechanism of damage during hepatic cryosurgery // Cryobiology. – 1990. – 27. – P. 85-97.

Поступило 8.10.2002



**Рис. 6.** Микрогемодициркуляторное русло участка, удаленного от зоны крионекроза на 15 мм через 1 сут после криовоздействия на печень крысы (об.х10, ок.х7)

**Fig. 6.** Microhaemodicyclatory flow in the distance of 15 mm from a cryonecrosis zone in 1 day after a cryoeffect on rat liver (magnification: objective x25, ocular tube x7).

failures in microvessels and a cryonecrosis' formation were occurred. Due to complete absence of the blood flow no labeled FITC-globulin was found.

In the boundary zone a tissue cooling lower than 0°C caused microhaemodicyclatory changes, corresponding to an acute phase of inflammatory process, that was confirmed by the failure of vascular-tissue permeability. Within first minutes after the cryoeffect labeled FITC globulin penetrated into parenchymatous cells, in the norm impermeable for protein. In 1 hr after cryoeffect the maximum intensity in a boundary zone the lightening was observed, in 3 hrs there was noted a clear demarcation of ischemic necrosis zone and liver sites, blood flow of which has remained. However about 30% of sinusoids in this zone were still thrombed. In 6 hrs after the cryoeffect on liver in the majority of microvessels in a boundary zone the blood flow was recovered (Fig. 4). In 1 day the blood flow in liver slightly differed from the initial state (Fig. 5).

Local cryoeffect on liver did not cause irreversible and prolonged effect on peripheral sites of an organ.

Thus, a vital observation of the action of a dosed local cryoeffect on liver of experimental animals allowed to determine the dependence of local microhaemodicyclatory responses on the time and depth of cooling, as well as to limit significant temperature zones and establish main directions of pathomorphosis in them.

### References

1. *Paramonova L.M.* Liver cryosurgery in experiment // Achievements of cryomedicine/ International Symposium (St.Petersburg, June 7-8, 2001). – St.Petersburg, 2001. – P. 147-150.
2. *Chemukh A.M., Aleksandrov P.N., Alekseyev O.V.* Microcirculation. – M.: Medicine, 1984. – 489 p.
3. *Shafranov V.V., Tsyganov D.I., Vissarianov V.A. et al.* Cryosurgery – theory and practice // Med. Cryology: Coll. of Research Works. Issue 1. – N. Novgorod, 2001. – P. 183-192.
4. *Gilbert J.C., Rubinsky B., Wong S.T. et al.* Temperature determination in the frozen region during cryosurgery of rabbit liver using MR image analysis // Magn. Reson. Imaging. – 1997. – Vol. 15, N6. – P. 657-667.
5. *Rubinsky B., Lee C.Y., Bastacky J., Onik G.M.* The process of freezing and the mechanism of damage during hepatic cryosurgery // Cryobiology. – 1990. – 27. – P. 85-97.

Accepted in 8.10.2002