

И.А. КРИВОРУЧКО, И.А. ТАРАБАН, И.В. СОРОКИНА, Н.Н. ГОНЧАРОВА

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПОЛОСТНЫХ ОБРАЗОВАНИЙ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Харьковский национальный медицинский университет МЗ Украины,
Украина

Цель. Изучить особенности морфологического строения стенки полостных образований при остром деструктивном панкреатите на разных стадиях их развития с использованием иммуногистохимических методик.

Материал и методы. На биопсийном материале (81 наблюдение) в зависимости от морфологического состояния соединительнотканного компонента изучены особенности микроструктуры стенки полостных образований и прилегающей паренхимы поджелудочной железы с использованием гистологических, гистохимических и иммуногистохимических методов.

Результаты. Определено, что у пациентов как с осложненными, так и с неосложненными ограниченными очагами панкреонекроза при морфологическом исследовании отмечалась схожая картина. Стенка образования и интерстиций железы были представлены рыхлой волокнистой соединительной тканью с преимущественным преобладанием клеточных элементов и небольшим объемом волокон, при этом отмечалась как очаговая (при неосложненном), так и диффузная (при осложненном течении) воспалительная инфильтрация стенки образования. Наличие плотной соединительной ткани, локализация воспалительной инфильтрации во внутренних слоях стенки, преобладание коллагена I типа в капсуле псевдокисты, а также клеток-продуцентов IL-2 и IL-6 свидетельствовали о снижении активности воспалительного процесса. Наличие рыхлой соединительной ткани, диффузная воспалительная инфильтрация во всех слоях стенки, преобладание коллагена III типа и снижение количества клеток-продуцентов IL-2 и IL-6 свидетельствовали о сохранении активности воспалительного процесса. Учитывая общность морфологических изменений у пациентов с осложненными псевдокистами и ограниченными очагами панкреонекроза, все формы полостных образований рассматривали как изначально неблагоприятное течение патологического процесса, требующее хирургической коррекции.

Заключение. Факторы роста и цитокины являются триггерами фиброгенеза поджелудочной железы. IL-2 и IL-6 способствуют синтезу внутриклеточного матрикса, богатого коллагеном I и III типа, тем самым способствуют фиброзу при панкреатите. Установлено, что при панкреатите не только повышен синтез содержимого межклеточного матрикса, но и ингибирована его деградация за счет снижения активности специфических металлоферментов.

Ключевые слова: острый панкреатит, острые жидкостные скопления, псевдокисты, патоморфология, фиброгенез, металлоферменты, деградация

Objectives. To study the features of the morphological structure of the wall of cavitory formations in acute destructive pancreatitis at different stages of development using immunohistochemical methods.

Methods. The features of the wall microstructure of cavitory formations and adjacent pancreatic parenchyma have been studied on the biopsied material (81 cases) depending on the morphology of the connective tissue component using histological, histochemical and immunohistochemical methods.

Results. It was established that in patients both as with complicated and not complicated delimited pancreatic necrosis foci at the morphological study a similar pattern has been observed. The wall of formation and glandular interstice were presented by a loose fibrous connective tissue with primary predominance of cellular elements and small volume of fibers, thus both focal (non-complicated course), and diffuse (complicated one) inflammatory infiltration of the formation wall was registered. The presence of dense connective tissue, the localization of the inflammatory infiltrate in the inner layers of the wall, prevalence of type I collagen in the capsule of pseudocysts as well as cells producing IL-2 and IL-6 testified to the reduction of the inflammatory process activity. Loose connective tissue, diffuse inflammatory infiltration in all layers of the wall, the predominance of type III collagen and reduction of the number of cells producing IL-2 and IL-6 manifested the inflammatory activity retention. Taking into account the commonality of morphological changes in patients with complicated pseudocysts and delimited foci of pancreatic necrosis, all forms of cavitory formations were considered as initially unfavorable course of the pathological process, requiring surgical correction.

Conclusion. Growth factors and cytokines are thought to be the triggers of the pancreatic fibrogenesis. IL-2 and IL-6 promote the intracellular matrix synthesis rich of collagen type I and III, thus promoting fibrosis in pancreatitis. It was established that in pancreatitis not only the content synthesis of the extracellular matrix is increased, but also its degradation is inhibited by reducing the specific activity of metalloenzymes.

Keywords: acute pancreatitis, acute liquid collections, pseudocysts, pathomorphology, fibrogenesis, metalloenzymes, degradation

Novosti Khirurgii. 2015 Mar-Apr; Vol 23 (2): 154-159

The Morphological Features of Cavitory Formations in Acute Pancreatitis

I.A. Kryvoruchko, I.A. Taraban, I.V. Sorokina, N.N. Goncharova

Введение

Острые жидкостные скопления осложняют деструктивный панкреатит в 25-80% случаев [1, 2]. В процессе их формирования и «естественного» течения у 20-70% пациентов [3] развиваются различные осложнения, которые диктуют необходимость экстренного оперативного вмешательства. Инфицирование коллекторов часто приводит к диссеминации патологического процесса и сопровождается летальностью до 80% [4, 5]. В то же время патогенез панкреатогенных ложных кист до конца не изучен. Известно, что данные скопления возникают в «слабых местах» брюшной полости и забрюшинного пространства, окружены прилегающими анатомическими структурами и на начальных этапах, содержат богатую панкреатическими ферментами жидкость [6, 7, 8, 9]. Множество исследований посвящено инструментальной диагностике полостных образований при остром панкреатите [10, 11, 12]. Поэтому **целью** нашего исследования было определение особенностей морфологического строения стенки полостных образований при остром деструктивном панкреатите на разных стадиях их развития с использованием иммуногистохимических методов.

Материал и методы

Изучены гистологические материалы 81 пациента с использованием иммуногистохимических методов.

Критерии включения в исследование — наличие у пациентов острых скоплений жидкости при остром деструктивном панкреатите: постнекротические панкреатические / парапанкреатические скопления жидкости (осложненные и неосложненные), ложные псевдоцисты поджелудочной железы (осложненные и неосложненные).

Критерии исключения из исследования — неинфицированные острые парапанкреатические жидкостные скопления, возникающие при остром интерстициальном отечном панкреатите.

Анализ позволил разделить биопсийный материал на две группы, в зависимости от морфологического состояния соединительнотканного компонента стенки полостных образований и прилегающей паренхимы поджелудочной железы. Первая группа объединила 27 наблюдений, которые клинически соответствовали неосложненному течению псевдокист, а вторая — 54 наблюдения, кото-

рые отвечали как неосложненному течению ограниченных очагов панкреонекроза, так и осложненному течению псевдокист и ограниченных очагов панкреонекроза. Биопсийный материал получали в ходе операции. Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах, толщиной 5-6 мкм непрямым методом Кунса по методике Brosnan (1979). Интерлейкин-продуценты дифференцировали с помощью моноклональных антител (МКА) к интерлейкину 2 (IL-2) IL-6 (Serotec Bio-Rad Laboratories, Inc UK). Коллагены типировали МКА к коллагенам I, IV типов, (Novocastra Laboratories Ltd., UK) Коллаген III типа определяли МКА к коллагену III типа (ИМТЕК, Ltd, Россия). В качестве люминесцентной метки использовали F (ab) — 2 — фрагменты кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши, меченных ФИТЦ. Препараты изучали в люминесцентном микроскопе ЛЮМАМ-ИЛ2 с использованием светофильтров: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3. Оптическую плотность иммунофлюоресценции коллагенов определяли по методу В.Д. Марковского и соавторов («Способ кількісного визначення вмісту антигену в біологічних тканинах», Патент на полезную модель №46489 от 25.12.2009).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного пакета StatSoft Statistica 6.0 и Microsoft® Office Excel. Определяли среднее арифметическое вариационного ряда (M) и среднее квадратичное отклонение (σ). Достоверность различий оценивалась с использованием t-критерия Стьюдента. Все сравнения проводились при выбранной доверительной вероятности 95%, следовательно, при вычисленном уровне значимости $p < 0,05$ различие между группами признавалось значимым.

Результаты

В связи с отсутствием четко сформированной капсулы полостного образования, границами которого являются смежные анатомические структуры, морфологическое исследование стенки постнекротических парапанкреатических жидкостных скоплений не проводилось.

У пациентов с неосложненным течением псевдокист (27 случаев) при морфологическом исследовании обнаружено, что интерстициальный компонент прилегающей паренхимы был представлен рыхлой волокнистой соединительной тканью, а стенка кисты состояла из более плотной несформированной соеди-

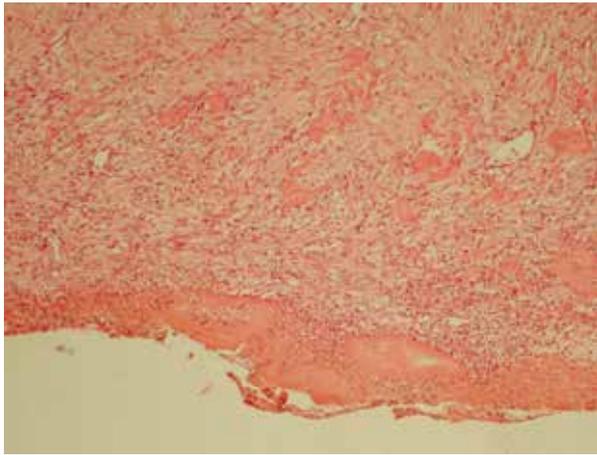


Рис. 1. Стенка псевдокисты. Плотная неоформленная соединительная ткань с явлениями некроза, диффузной лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией, невыраженным отеком. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$.

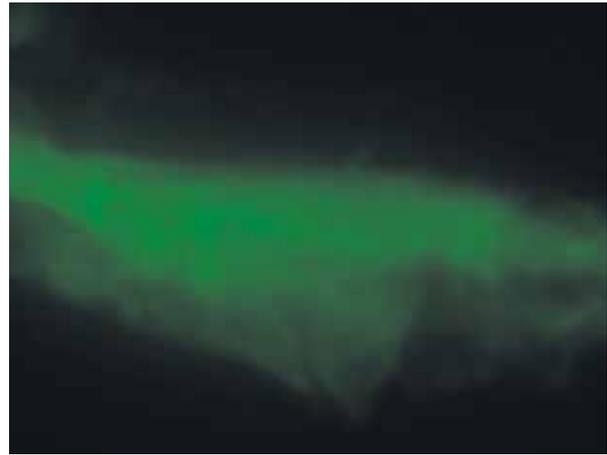


Рис. 2. Яркое свечение коллагена и I типа в стенке псевдокисты. Косвенный метод Кунса с моноклональными антителами к коллагену I типа. Ув. $\times 600$.

Таблица 1

Относительные объемы основных структурных компонентов стенки псевдокисты и ткани ПЖ ($M \pm \sigma$) (%)

Группы	Волокнистые структуры	Клеточные элементы	Кровоизлияния	Воспалительная инфильтрация	Некротические изменения
Стенка псевдокисты					
1 группа	58,78 \pm 2,0	22,88 \pm 1,6	5,1 \pm 1,2	10,14 \pm 1,5	3,167 \pm 0,9
2 группа	47,2 \pm 2,3*	21,85 \pm 1,5*	11,04 \pm 1,4*	15,12 \pm 1,2*	6,106 \pm 1,1*
Паренхима железы					
1 группа	54,18 \pm 1,1	28,06 \pm 1,2	8,033 \pm 0,7	7,167 \pm 0,9	3,089 \pm 0,9
2 группа	44,21 \pm 1,1*	22,06 \pm 1,4*	14,09 \pm 0,8*	13,99 \pm 1,0*	5,022 \pm 0,8*

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с 1-й группой.

нительной ткани со сравнительно меньшим количеством клеточных элементов (фибробластов и фиброцитов) и большим объемом волокнистых структур (рис. 1).

Относительные объемы основных структурных компонентов стенки псевдокисты и ткани ПЖ представлены в таблице 1.

При иммуногистохимическом исследовании в соединительной ткани псевдокисты и интерстиции поджелудочной железы определялись коллагены I и III типов (рис. 2). При этом в интерстиции железы преобладал коллаген III типа, а в стенке псевдокисты – I типа. Коллаген IV типа отмечался в составе эпителиальных базальных мембран ацинусов и выводных протоков, а также в составе сосудистых базальных мембран.

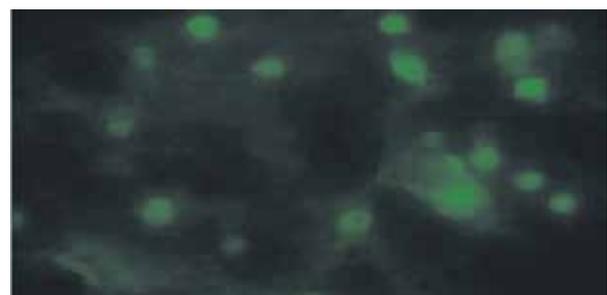
При иммуногистохимическом исследовании во всех микропрепаратах биопсийного материала, обработанных МКА к IL-2 и IL-6, оказывалось специфическое свечение. Цитокин-продуцирующие клетки отмечались как в просветах сосудов, так и в соединительной ткани в составе воспалительного инфильтрата, а их количество в интерстициальном компо-

ненте поджелудочной железы было больше, чем в капсуле псевдокисты (рис. 3).

У пациентов с осложненным течением (22 пациента с инфицированной псевдокистой) острого панкреатита стенка псевдокист и интерстиций железы были представлены рыхлой волокнистой соединительной тканью, в которой отмечалось значительное количество клеточных элементов и меньше волокнистых структур (рис. 4), о чем свидетельствуют данные морфометрии (таблица 2).

Проведенное иммуногистохимическое ис-

Рис. 3. Клетки-продуценты IL-6 в полости сосудов и интерстиции паренхимы поджелудочной железы. Прямой метод Кунса с МКА к IL-6. Ув. $\times 600$.



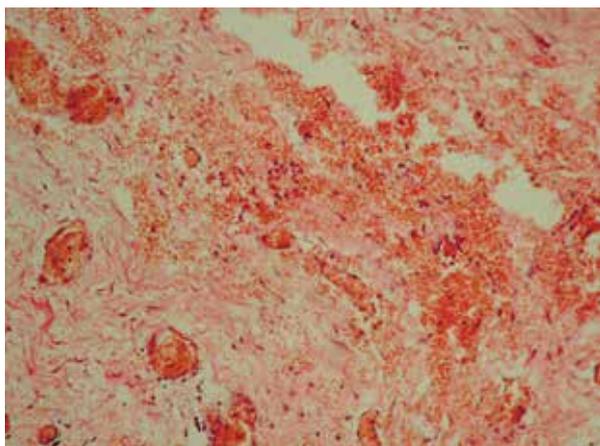


Рис. 4. Рыхлая волокнистая соединительная ткань в стенке псевдокисты. Выраженное полнокровие и диапедез эритроцитов на фоне отека. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 100$

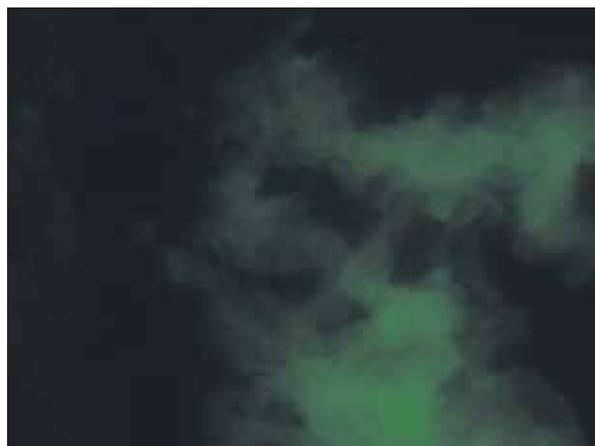


Рис. 5. Значительная интенсивность свечения коллагена III типа в стенке полостного образования. Непрямой метод Кунса с МКА к коллагену III типа. Ув. $\times 100$.

Таблица 2

Оптическая плотность иммунофлуоресценции коллагенов в интерстиции стенки псевдокисты и прилежащей паренхиме ПЖ ($M \pm \sigma$) (усл.ед.)

Интерстиций стенки псевдокисты			
Группы наблюдения	Коллаген I типа	Коллаген III типа	Коллаген IV типа
1 группа	$0,2309 \pm 0,001$	$0,1322 \pm 0,002$	$0,087 \pm 0,002$
2 группа	$0,1452 \pm 0,001^*$	$0,197 \pm 0,001^*$	$0,056 \pm 0,001^*$
Паренхима ПЖ			
Группы наблюдения	Коллаген I типа	Коллаген III типа	Коллаген IV типа
1 группа	$0,101 \pm 0,002$	$0,176 \pm 0,004$	$0,167 \pm 0,006$
2 группа	$0,096 \pm 0,002^*$	$0,186 \pm 0,004^*$	$0,111 \pm 0,006^*$

Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с 1-й группой.

следование позволило выявить в стенке полостных образований все три типа коллагена с преобладанием коллагена III типа и очаговым размещением зрелого интерстициального коллагена I типа в меньшем количестве (рис. 5). Коллаген IV типа не был обнаружен по внутреннему краю псевдокисты, а отмечался в базальных мембранах сосудов стенки кист, в составе эпителиальных мембран ацинусов, протоков и базальных мембран сосудов прилегающей к псевдокисте ткани поджелудочной железы.

Цитокин-продуцирующие клетки (IL-2 и IL-6) были обнаружены в небольшом количестве в области воспалительного инфильтрата, а также в просветах сосудов, причем в интерстициальном компоненте паренхимы поджелудочной железы количество этих клеток было больше, чем в капсуле псевдокисты (рис. 6).

Обсуждение

У пациентов как с осложненными (17), так и неосложненными (15) ограниченными очагами панкреонекроза при морфологическом исследовании отмечалась похожая карти-



Рис. 6. Немногочисленные клетки-продуценты IL-6 в полостях сосудов и интерстиции паренхимы поджелудочной железы. Прямой метод Кунса с МКА к IL-6, Ув. $\times 600$

на. Стенка образования и интерстициальный компонент железы были представлены рыхлой волокнистой соединительной тканью с преимущественным преобладанием клеточных элементов и небольшим объемом волокон. При этом отмечалась как очаговая (при неосложненном), так и диффузная (при осложненном

течении) воспалительная инфильтрация стенки образования. Воспалительные изменения были представлены нейтрофилами с небольшой долей лимфоцитов, макрофагов и плазмобластов. Определялся резко выраженный геморрагический синдром в виде полнокровия сосудов микроциркуляторного русла и многочисленных диапедезных кровоизлияний на фоне выраженного отека соединительной ткани. Альтернативные изменения присутствовали как в соединительнотканной стенке, так и в интерстиции железы и были представлены в виде дистрофических, некробиотических и некротических изменений. При иммуногистохимическом исследовании в стенке полостных образований определялись исследуемые типы коллагенов с преобладанием незрелого коллагена III типа. Зрелый коллаген I типа отмечался в виде очагового умеренного свечения у больных с неосложненными отграниченными очагами панкреонекроза и слабого свечения — у пациентов с осложненными очагами. При сравнительном анализе выявлено достоверное снижение оптической плотности иммунофлюоресценции коллагена I типа и повышение — III типа как в стенке полостных образований, так и в интестинальном компоненте паренхимы железы.

Коллаген IV типа не обнаруживался по внутреннему краю образований, а определялся только в базальных мембранах сосудов, эпителиальных мембран ацинусов и протоков. При иммуногистохимическом исследовании с моноклональными антителами к IL-2 и к IL-6 у всех пациентов обнаружено специфическое свечение. При этом, несмотря на то, что при световой микроскопии определялась выраженная воспалительная инфильтрация соединительнотканной стенки, в препарате было обнаружено свечение единичных клеток-продуцентов IL-2 и IL-6.

Заключение

Наличие плотной соединительной ткани, локализация воспалительной инфильтрации во внутренних слоях стенки, преобладание коллагена I типа в капсуле псевдокисты, а также клеток-продуцентов IL-2 и IL-6 свидетельствует о снижении активности воспалительного процесса. Наличие рыхлой соединительной ткани, диффузная воспалительная инфильтрация во всех слоях стенки, преобладание коллагена III типа и снижение количества клеток-продуцентов IL-2 и IL-6 свидетельствует о сохранении активности воспалительного процесса. Учитывая общность

морфологических изменений у пациентов осложненными псевдокистами и отграниченными очагами панкреонекроза, все формы полостных образований следует рассматривать как изначально неблагоприятное течение патологического процесса, требующее хирургической коррекции.

Конфликт интересов отсутствует

ЛИТЕРАТУРА

1. Винокуров М. М. Хирургические вмешательства при инфицированных формах панкреонекроза / М. М. Винокуров, В. В. Савельев, В. Г. Амосов // Хирургия. Журн. им. Н. И. Пирогова. — 2009. — № 11. — С. 23–26.
2. Staged multidisciplinary step-up management for necrotizing pancreatitis / D. W. da Costa [et al.] // Br J Surg. — 2014 Jan. — Vol. 101, N 1. — P. e65–79. doi: 10.1002/bjs.9346.
3. Huber W. Diagnosis and treatment of acute pancreatitis. Current Recommendations / W. Huber, R. M. Schmid // Internist (Berl). — 2011 Jul. — Vol. 52, N 7. — P. 823–30, 832. doi: 10.1007/s00108-010-2796-x.
4. American College of Gastroenterology guideline: management of acute pancreatitis / S. Tenner [et al.] // Am J Gastroenterol. — 2013 Sep. — Vol. 108, N 9. — P. 1400–15. doi: 10.1038/ajg.2013.218.
5. Кондратенко П. Г. Острый панкреатит / П. Г. Кондратенко, А. А. Васильев, М. В. Конькова. — Донецк, 2008. — 352 с.
6. Нечитайло М. Е. Кисты и кистозные опухоли поджелудочной железы / М. Е. Нечитайло, Ю. В. Снопко, И. И. Булик. — Киев : Полиграфкнига, 2012. — 544 с.
7. European society of gastrointestinal endoscopy (ESGE) guideline: prophylaxis of post-ERCP pancreatitis / J. M. Dumonceau [et al.] // Endoscopy. — 2010 Jun. — Vol. 42, N 6. — P. 503–15. doi: 10.1055/s-0029-1244208.
8. Hut'an M. J. How long to wait with operations for necrotizing pancreatitis? / M. J. Hut'an, Y. Rashid, S. Novbк // Article in Slovak Rozhl Chir. — 2010 Aug. — Vol. 89, N 8. — P. 513–17. [Article in Slovak]
9. Acute Pancreatitis Classification Working Group Classification of acute pancreatitis — 2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus / P. A. Banks [et al.] // Gut. — 2013 Jan. — Vol. 62, N 1. — P. 102–11. doi: 10.1136/gutjnl-2012-302779.
10. Ojo E. O. Pancreatic pseudocyst in Federal Medical Center, Gombe and review of literature / E. O. Ojo, U. D. Babayo // Niger J Med. — 2010 Apr-Jun. — Vol. 19, N 2. — P. 223–29.
11. Сучасні підходи до лікування ускладнених псевдокіст підшлункової залози / В. М. Копчак [и др.] // Наук. вісн. Ужгород. ун-ту. — 2014. — Вип. 1. — С. 106–10.
12. Конькова М. В. Ультразвуковая диагностика и диаплевтика острого панкреатита / М. В. Конькова, Н. Л. Смирнов, А. А. Юдин // Укр. журн. хирургии. — 2013. — № 3. — С. 132–35.

Адрес для корреспонденции

61022, Харьков, Украина, пр. Ленина, д. 4,
Харьковский национальный медицинский университет,

кафедра хирургии № 2,
тел. раб. +38 050 301-90-90,
e-mail: ikryvoruchko@mail.ru,
Криворучко Игорь Андреевич

Сведения об авторах

Криворучко И.А., д.м.н., профессор, заведующий
кафедрой хирургии № 2 Харьковского национального
медицинского университета МЗ Украины.
Тарабан И.А., д.м.н., профессор кафедры хирургии
№ 1 Харьковского национального медицинского
университета МЗ Украины.

Сорокина И.В., д.м.н., профессор кафедры пато-
логической анатомии Харьковского национального
медицинского университета МЗ Украины.
Гончарова Н.Н., к.м.н., докторант кафедры хирургии
№ 2 Харьковского национального медицинского
университета МЗ Украины.

Поступила 24.02.2015 г.

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

**Имеем честь пригласить Вас принять участие в работе XXIII СЪЕЗДА ХИРУРГОВ УКРАИНЫ,
который состоится 21-23 октября 2015 г. в г. Киеве**

Программа съезда

Пленарные заседания:

1. Организационные вопросы.
2. Огнестрельные повреждения.
3. Современные технологии хирургической коррекции патологии органов пищеварительной системы.

Секционные заседания:

1. Сердечно-сосудистая хирургия.
2. Детская хирургия.
3. Комбустиология и пластическая хирургия.
4. Хирургическая эндокринология.
5. Ранние послеоперационные осложнения.

Дополнительная информация на сайте: <http://www.surgery.org.ua>

Контакты: 03608 г. Киев, ул. Героев Севастополя, 30,
НИХТ имени А.А. Шалимова, научно-организационный отдел,
E-mail: ukrsurgery@gmail.com