© І.А. Криворучко, І.В. Сорокина, С.М. Балака, Н.М. Гончарова, 2014

УДК 616.37-006.03-036-089

І.А. КРИВОРУЧКО, І.В. СОРОКИНА, С.М. БАЛАКА, Н.М. ГОНЧАРОВА
Харківський національний медичний університет, кафедра хірургії №2, Харків

МІЖДИСЦИПЛІНАРНИЙ ПІДХІД У ВИВЧЕННІ ПАТОГЕНЕЗУ ГОСТРИХ РІДИННИХ СКУПЧЕНЬ ПРИ ПАНКРЕАТИТІ

На біопсійному матеріалі (81 спостереження) залежно від морфологічного стану сполучнотканинного компонента вивчені особливості мікроструктури стінки порожнинних утворень та прилеглої паренхіми підшлункової залози з використанням гістологічних, гістохімічних та імуногістохімічних методів. З'ясовано, що наявність щільної сполучної тканини, локалізація запальної інфільтрації у внутрішніх шарах стінки, переважання колагену I типу в капсулі псевдокісти, а також клітин-продуцентів IL-2 і IL-6 свідчить про зниження активності запального процесу. Наявність пухкої сполучної тканини, дифузна запальна інфільтрація у всіх шарах стінки, переважання колагену III типу і зниження кількості клітин-продуцентів IL-2 і IL-6 свідчить про збереження активності запального процесу.

Ключові слова: підшлункова залоза, псевдокіста, колаген, інтерлейкін, рідинне утворення, гострий панкреатит

Вступ. Гостре рідинне скупчення є найчастішим ускладненням деструктивного панкреатиту. Інфікування колекторів призводить до нагноєння, дисемінації процесу і супроводжується летальністю до 80% [1, 2, 3, 4]. Водночас патогенез панкреатогенних несправжніх кіст остаточно не вивчений. Відомо, що дані скупчення виникають в «слабких місцях» черевної порожнини і заочеревинного простору, оточені прилеглими анатомічними структурами і на початкових етапах містять багату панкреатичними ензимами рідину [7, 8, 9]. Безліч досліджень присвячено інструментальній діагностиці порожнинних утворень при псевдокістах [5, 6].

Мета дослідження. Визначити особливості морфологічної будови стінки порожнинних утворень при гострому деструктивному панкреатиті на різних стадіях їх розвитку з використанням імуногістохімічних методик.

Матеріали та методи. Вивчено гістологічний матеріал 81 хворого з використанням імуногістохімічних методик. Аналіз дозволив розділити біопсійний матеріал на дві групи, залежно від морфологічного стану сполучнотканинного компонента стінки порожнинних утворень та прилеглої паренхіми підшлункової залози. Перша група об'єднала 27 спостережень, які клінічно відповідали неускладненому перебігу псевдокіст, а друга – 54 спостереження, які відповідали як неускладненому перебігу відмежованих вогнищ панкреонекрозу, так і ускладненому перебігу псевдокіст і відмежованих вогнищ панкреонекрозу.

Біопсійний матеріал, отриманий у ході операції, вивчали з використанням імуногістохімічних методик (Brosman, 1979). Інтерлейкін-продуценти диференціювали за допомогою моноклональних антитіл до Il-2 і Il-6 (Serotec). Колагени типували моноклональними антитілами до колагенів I, IV (Novocastra Laboratories Ltd.) і III типів (IMTEK, Ltd, Росія).

При визначенні характеру порожнинних утворень використовували класифікацію гострого панкреатиту, яку було прийнято у Атланті (1992), а її перегляд Робочою групою відбувся у 2012 р. [9].

Результати досліджень та їх обговорення. У зв'язку з відсутністю чітко сформованої капсули порожнинного утворення, межами якої є суміжні анатомічні структури, морфологічне дослідження стінки післянекротичних парапанкреатичних рідинних скупчень не проводилося.

У хворих з неускладненим перебігом псевдокіст (27) при морфологічному дослідженні виявлено, що стромальний компонент прилеглої паренхіми представлено пухкою волокнистою сполучною тканиною, а стінка кісти складалася з більш щільної несформованої сполучної тканини з порівняно меншою кількістю клітинних елементів (фібробластів і фіброцитів) і великим обсягом волокнистих структур (рис. 1). У всіх хворих у капсулі псевдокісти відзначалася дифузна лімфолейкоцитарна інфільтрація, що складалася з лімфоцитів, макрофагів, плазмобластів і одиничних нейтрофілів, яка була більш виражена ближче до порожнини кісти. У паренхіматозному стромальному компоненті запальна інфільтрація представлена переважно периваскулярним вогнищевим скупченням клітин. У стінці псевдокіст відзначалися дистрофічні зміни у вигляді мукоїдного і фібриноїдного набухання, траплялися дрібновогнищеві зони фібриноїдного некрозу і гіалінозу без лізису тканин.

При імуногістохімічному дослідженні в сполучної тканини псевдокісти і паренхіми підшлункової залози визначалися колагени I і III типів (рис. 2). У стромі залози переважав колаген III типу, а в стінці псевдокісти – I типу. Колаген IV типу відзначався в паренхімі підшлункової залози в складі епітеліальних базальних мембран ацинусів і вивідних проток, а також у складі судинних базальних мембран.

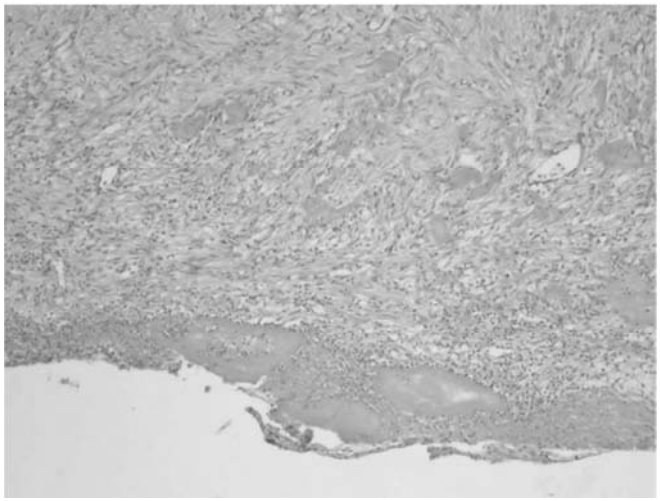

Рис. 1. Стінка псевдокісти підшлункової залози. Щільна неоформлена сполучна тканина з явищами некрозу, дифузної лімфо-лейкоцитарної інфільтрації, невираженим набряком. Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб.: х100

Рис. 2. Яскраве світіння колагену І типу в стінці псевдокісти підшлункової залози. Непрямий метод Кунса С МКА до колагену І типу, зб.: х600

При імуногістохімічному дослідженні у всіх мікропрепаратах біопсійного матеріалу, оброблених моноклональними антитілами до IL-2 і IL-6, виявлялося специфічне світіння. Цитокін-продукуючі клітини відзначалися як у просвітах судин, так і в сполучній тканині в складі запального інфільтрату, а їх кількість в стромально-судинному компоненті паренхіми підшлункової залози було більша, ніж в капсулі псевдокісти (рис. 3).

Рис. 3. Численність клітин-продуцентів IL-6 в порожнині судин та стромі паренхіми підшлункової залози. Прямий метод Кунса з МКА до IL-6, зб.: х 600

У пацієнтів на ускладнений перебіг (22 хворих на інфіковану псевдокісту) стінка псевдокіст і стромальний паренхіматозний компонент підшлункової залози представлені пухкою волокнистою сполучною тканиною, в якій відзначалася значна кількість клітинних елементів і менший відносний обсяг волокнистих структур (рис. 4). Характерним для цієї групи було надмірне розростання міжчасточкової сполучної тканини, а також як дифузна, так і вогнищева запальна інфільтрація капсули псевдокісти, серед клітинних елементів якої переважали нейтрофільні гранулоцити, а також невелика кількість лімфоцитів, макрофагів і плазмобластів з різко вираженим геморагічним синдромом. Виражені альтеративні процеси виявлені як у сполучної тканини стінки псевдокісти, так і в стромальному компоненті паренхіми у вигляді дистрофічних, некробіотичних і некротичних змін. Паренхіма підшлункової залози, що безпосередньо прилягає до псевдокісти, представлена у всіх спостереженнях та екзокринним апаратом з атрофією ацинусів різного ступеня вираженості зі значним міждольковим склерозом, зони альтерації у вигляді дистрофії і некробіозу.

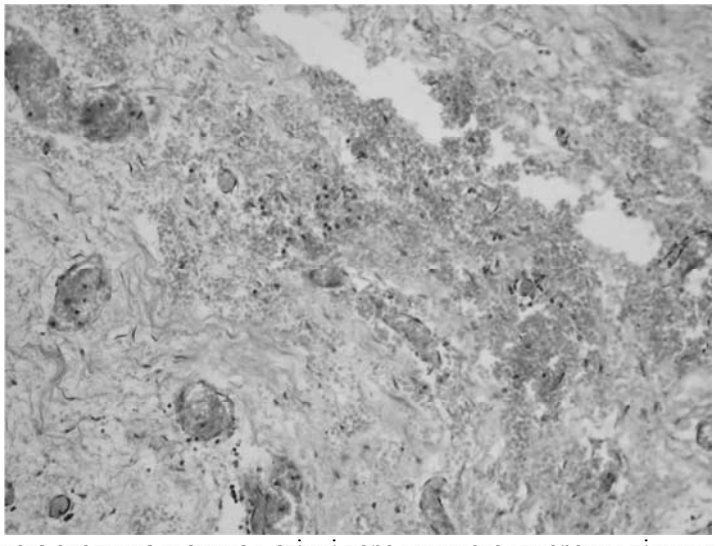

Рис. 4. Пухка волокниста сполучна тканина в стінці порожнинного утворення підшлункової залози. Значне повнокрів'я та діапедез еритроцитів на фоні набряку. Фарбування гематоксиліном та еозином, зб.: х 100

Проведене імуногістохімічне дослідження дозволило виявити в стінці порожнинних утворень всі три типи колагену з переважанням колагену III типу і вогнищевим розміщенням зрілого інтерстиціального колагену I типу в меншій кількості (рис. 5). Колаген IV типу, що не було виявлено по внутрішньому краю псевдокіст, відзначався в базальних мембранах судин стінки кіст, у складі епітеліальних мембран ацинусів, проток та базальних мембранах судин прилеглої до псевдокісти паренхіми підшлункової залози.

Рис. 5. Значної інтенсивності світіння колагену III типу в стінці порожнинного утворення підшлункової залози. Непрямий метод Кунса з МКА до колагену III типу, зб.: х 600

Цитокін-продукуючі клітини (IL-2 і IL-6) виявлено в невеликій кількості в ділянці запального інфільтрату, а також у просвітах судин, причому в стромально-судинному компоненті паренхіми підшлункової залози кількість цих клітин була більше, ніж в капсулі псевдокіст (рис. 6).

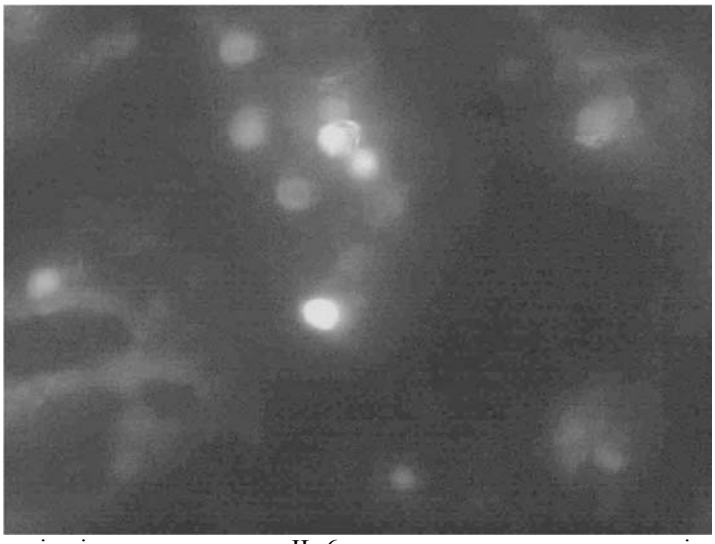

Рис. 6. Небагаточисельні клітини-продуценти IL-6 в порожнинах судин та стромі паренхіми підшлункової залози. Прямий метод Кунса з МКА до IL-6, зб.: х 600

У хворих як на ускладнені (17), так і неускладнені (15) відмежовані вогнищами панкреонекрозу при морфологічному дослідженні відзначалася схожа картина. Стінка утворення і строма залози були представлені пухкою волокнистою сполучною тканиною зі значним переважанням клітинних елементів і невеликим обсягом волокон. При цьому відзначалася як вогнищева (при неускладненому), так і дифузна (при ускладненому перебігу) запальна інфільтрація стінки освіти. Запальні зміни були представлені нейтрофілами з невеликою часткою лімфоцитів, макрофагів і плазмобластів. Визначався різко виражений геморагічний синдром у вигляді повнокров'я судин мікроциркуляторного русла і чисельних діапедезних крововиливів на тлі вираженого набряку сполучної тканини. Альтеративні зміни, присутні як в сполучнотканинній стінці, так і в стромальному компоненті паренхіми залози, були представлені у вигляді дистрофічних, некробіотичних і некротичних змін.

При імуногістохімічному дослідженні в стінці порожнинних утворень визначалися досліджувані типи колагенів з переважанням незрілого колагену III типу. Зрілий колаген I типу відзначався у вигляді осередкового помірного світіння у хворих з неускладненими відмежованими вогнищами панкреонекрозу і слабкого світіння – у хворих з ускладненими вогнищами. При порівняльному аналізі виявлено вірогідне зниження оптичної щільності імунофлуоресценції колагену I типу та підвищення – III типу як в стінці порожнинних утворень, так і в стромальному компоненті паренхіми залози. Як і в попередніх спостереженнях, колаген IV типу не виявлявся по внутрішньому краю утворень, а визначався тільки в базальних мембранах судин, епітеліальних мембран ацинусів і проток. При імуногістохімічному дослідженні з моноклональними антитілами до IL-2 і до IL-6 у всіх хворих виявлено специфічне світіння. При цьому, незважаючи на те, що при світловій мікроскопії визначалася виражена запальна інфільтрація сполучнотканинної стінки, в препараті було виявлено світіння одиничних клітин-продуцентів IL-2 і IL-6.

Висновки.

Наявність щільної сполучної тканини, локалізація запальної інфільтрації у внутрішніх шарах стінки, переважання колагену I типу в капсулі псевдокісти, а також клітин-продуцентів IL-2 і IL-6 свідчить про зниження активності запального процесу.

Наявність пухкої сполучної тканини, дифузна запальна інфільтрація у всіх шарах стінки, переважання колагену III типу і зниження кількості клітин-продуцентів IL-2 і IL-6 свідчить про збереження активності запального процесу.

Враховуючи спільність морфологічних змін у хворих на ускладнені псевдокісти підшлункової залози і відмежовані вогнищами панкреонекрозу, всі форми порожнинних утворень слід розглядати як спочатку несприятливий перебіг патологічного процесу, що вимагає хірургічної корекції.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Винокуров М.М. Хирургические вмешательства при инфицированных формах панкреонекроза / М.М. Винокуров, В.В. Савельев, В.Г. Амосов // Хирургия: Журнал им. Н.И. Пирогова. — 2009. — № 11. — С. 23—26.

2. Гостищев В.К. Диагностика и лечение осложненных постнекротических кист поджелудочной железы / В.К. Гостищев, А.Н. Афанасьев, А.В. Устименко // Хирургия. — 2006. — № 6. — С.4—7.
3. Концепция хирургического лечения острого деструктивного панкреатита в стадии гнойно-некротических осложнений / А.И. Лобаков, А.М. Саввов, В.Б. Румянцев [и др.] // Неотложная и специализированная хирургическая помощь : I конгр. моск. хирургов, 19—21 мая 2005 г. : тезисы докл. — М. — 2005. — С. 101—102.
4. Коротков Н.И. Миниинвазивные технологии в диагностике и лечении местных гнойных осложнений деструктивного панкреатита / Н.И. Коротков, А.В. Кукушкин, А.С. Метелев // Хирургия. — 2005. — № 3. — С. 40—44.
5. Конькова М.В. Ультразвуковая диагностика и диапевтика острого панкреатита / М.В. Конькова, Н.Л. Смирнов, А.А. Юдин // Украинский журнал хирургии. — 2013. — № 3. — С. 40—44.
6. Кондратенко П.Г. Острый панкреатит / П.Г. Кондратенко, А.А. Васильев, М.В. Конькова. — Донецк. — 2008. — С. 352.
7. Andrén-Sandberg Å. Pancreatic pseudocysts in the 21st century. Part II: natural history / Å. Andrén-Sandberg, C. Dervenis // J. Pancreas. — 2004. — Vol. 5, № 2. — P. 64—70.
8. Hut'an M.J. How long to wait with operations for necrotizing pancreatitis? / M.J. Hut'an, Y. Rashid, S. Novák // Article in Slovak Rozhl Chir. — 2010. — Vol. 89 (8). — P. 513—517.
9. Peter A. Banks. Acute Pancreatitis Classification Working Group Classification of acute pancreatitis-2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus / Peter A. Banks, Thomas L. Bollen, Christos Dervenis [et al.] // Gut. — 2013. — Vol. 62. — P.102—111.

I. KRIVORUCHKO, I. SOROKINA, S. BALAKA, N. GONCHAROVA

Kharkov National Medical University, Department of surgery №2, Kharkiv

AN INTERDISCIPLINARY APPROACH IN STUDYING OF THE PATHOGENESIS OF FLUID COLLECTIONS IN ACUTE PANCREATITIS

With gistological, gistochemical, immunohistochemical methods on bioptic material (81 observations) were studied microscopic features of acute cavernous formations and pancreatic parenchyma in pancreatitis. Presence of dense connective tissue, inflammatory infiltration within inner layer of formation wall, type I collagen prevalence and cell-producer interleukin 2 and 6 quantity increase were evidence of inflammatory process decrease. Presence of areolar tissue, inflammatory infiltration within all layers of formation wall, type III collagen prevalence and cell-producer interleukin 2 and 6 quantity decrease were evidence of inflammatory process increase.

Key words: pancreas, pseudocyst, collagen, interleukin, liquid formation, acute pancreatitis

Стаття надійшла до редакції: 22.05.2014