

О.Н.Сулаева

Донецкий национальный медицинский университет

Ключевые слова: двенадцатиперстная кишка, краевая зона язвы, ремоделирование сосудистого русла, морфометрический анализ.

Надійшла: 18.11.2008

Прийнята: 20.12.2008

УДК 616.342-002

ПЕРЕСТРОЙКА СОСУДИСТОГО РУСЛА МАРГИНАЛЬНОЙ ЗОНЫ ЯЗВЫ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ ПОСЛЕ КРОВОТЕЧЕНИЯ

Резюме. С целью объективной оценки ремоделирования сосудистого русла слизистой оболочки двенадцатиперстной кишки после кровотечения проведен морфометрический анализ биоптатов краевой зоны язвы 32 пациентов. Проведенное исследование показало, что развитие репарации происходит на фоне предсуществующего хронического воспаления и острого нарушения микроциркуляции. Выполнение лечебного инъекционного гемостаза в ранние сроки сопровождается усилением микроциркуляторных нарушений, отека и ишемического повреждения тканей слизистой оболочки. Острая нейтрофильная инфильтрация в течение 1 суток сменялась развитием грануляционной ткани и стимуляцией ангиогенеза через 3 суток. Интенсификация и пролонгирование ангиогенеза на фоне сохранения лимфоцитарной инфильтрации через 7 суток были ассоциированы с дисморфогенезом ворсинок, изменением клеточного состава покровного эпителия.

Морфология. – 2009. – Т. III, № 1. – С. 61-65.

© О.Н.Сулаева, 2009

Sulayeva O.N. Microcirculatory remodeling in marginal zone of duodenal ulcer after bleeding.

Summary. To estimate objectively vessels network remodeling in duodenal mucosa after ulcer bleeding the morphometric analysis of marginal ulcer zone biopsies was performed in 32 patients. It was shown that reparation is accompanied with chronic inflammation and acute alteration of microcirculation. Injection hemostasis led to enhancement of microcirculation, development of edema and ischemic alteration of mucosal tissues. Acute neutrophilic infiltration during 1 day was changed on 3 day with granular tissue development and angiogenesis stimulation. Intensification and prolongation of angiogenesis paralleled with lymphocytes infiltration after 7 days resulted to villi dysmorphogenesis and changes in cellular content of intestinal epithelium.

Key words: duodenum, marginal ulcer zone, vessels network remodeling, morphometric analysis.

Введение

Язвенная болезнь луковицы двенадцатиперстной кишки является одной из наиболее распространенных патологий в гастроэнтерологии. Ее частота в 5-6 раз превышает показатель заболеваемости язвенной болезнью пилорического отдела и тела желудка (Филиппов Ю.А., Гайдар Ю.А., 2002). У 15-30% пациентов с данной патологией отмечено развитие язвенного кровотечения, отражающего, по сути, глубокое нарушение репаративных процессов в стенке органа (Маев И.В. и соавт., 2007). Развитие дисрегенераторного синдрома усугубляется постоянным действием ulcerогенных факторов на фоне хронического воспалительного процесса *in situ* (Аруин Л.И. и соавт., 1998). Как известно, нормальное течение репаративного процесса характеризуется фазностью, что морфологически проявляется сменой клеточных популяций. Именно клетки определяют эффективность реализации различных морфогенетических процессов, контролируемых различными цитокинами и факторами роста (Маев И.В. и соавт., 2007). К таковым относятся фактор роста тромбоцитарного проис-

хождения (PDGF), факторы роста фибробластов (FGF), эпидермальный фактор роста (EGF), фактор роста сосудистого эндотелия (VEGF), контролирующие образование грануляционной ткани и процесс ангиогенеза (Basson M.D., 2002). Последний в маргинальной зоне особо интересен и важен, поскольку отражает эффективность восстановления не только региональной системы микроциркуляции, но и репаративный потенциал перифокальной зоны язвенного дефекта. Данное утверждение базируется на том, что маргинальная зона считается источником грануляций и фронтом эпителизации дна язвенного дефекта. Кроме того, процесс ангиогенеза всегда сопряжен с пролиферацией в периваскулярной зоне юных фибробластов, реиннервацией зоны повреждения, что обеспечивает создание оптимальных условий для восстановления структурно-функциональной целостности покровного эпителия и его барьерных свойств (Филиппов Ю.А., Гайдар Ю.А., 2002). Ангиогенез является зеркалом адекватности взаимодействия системных (нейромедиаторы и гормоны) и паракринных (БАВ, факторы роста, цитокины) регулято-

ров (Basson M.D., 2002). В связи с этим актуальным представляется изучение морфологических проявлений процесса неоваскуляризации краевой зоны, однако до сегодняшнего дня в литературе нет исчерпывающей информации относительно динамики ангиогенеза в маргинальной зоне язвы, отсутствуют объективные критерии оценки данного процесса.

Целью данной работы стала объективная оценка ремоделирования сосудистого русла слизистой оболочки (СО) в динамике заживления язвенного дефекта луковицы двенадцатиперстной кишки.

Материалы и методы

Обследовано 32 пациента в возрасте $54 \pm 8,6$ лет с кровотечениями из хронических язв луковицы двенадцатиперстной кишки. Длительность заболевания в среднем составила $7,1 \pm 3,4$ года. Всем больным была проведена диагностическая эзофагогастроуденофиброскопия по общепринятой методике с использованием аппарата GIF Q 40 «Olympus». Во время выполнения эндоскопии с помощью стандартных биопсийных щипцов типа ФВ-23К брали биоптаты слизистой оболочки из краевой зоны язвенного дефекта. Биопсийный материал получали на момент госпитализации, через 6, 12 часов, 1, 3 и 7 суток после гемостаза, фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина, обезвоживали в спирте, заливали в парафин. Срезы толщиной 4–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Кроме того, проводили иммуноцитохимическое исследование с использованием моноклональных антител к CD31⁺, считающегося маркером эндотелиоцитов и ангиогенных клеток и соответствующего рецепторам к витронектину (Филиппов Ю.А., Гайдар Ю.А., 2002).

Помимо описательной морфологии использовался количественный метод оценки с помощью морфометрического анализа (Автандилов Г.Г., 1991). Анализ слизистой оболочки проводили с учетом органических особенностей рельефа – на уровне ворсинок и крипт отдельно. При оценке ворсинок оценивали их высоту, толщину эпителия, учитывали глубину крипт, а в собственной пластинке слизистой – удельные объемы (УО) сосудов, клеток и межклеточного вещества. При наличии лейкоцитарной инфильтрации подсчитывали УО лейкоцитов и клеточный состав инфильтратов. Кроме того, учитывали степень повреждения тканевых элементов слизистой оболочки, оценивая УО поврежденного (признаки дистрофии, некроза и апоптоза) эпителия, структур соединительной ткани, гладких миоцитов мышечной пластинки слизистой оболочки. При анализе состояния сосудов оценивали удельную плотность эндотелиоцитов (УП_{Эц}) – количество CD31⁺ клеток в поле зрения при увеличении $\times 630$, а также отношения $УП_{Эц}/УО_{сос}$ – для оценки сохранности эндотелия

в условиях нарушения микроциркуляции и вазодилатации или ангиогенеза. Кроме того, оценивали УО основного аморфного вещества (ОАВ) и отношение $УО_{сос}/УО_{ОАВ}$, позволяющее судить об изменении перфузии или нарушении дренажа с развитием межклеточного отека. Контрольную группу составили 5 пациентов без заболеваний гастродуоденальной зоны. Полученные результаты обрабатывали статистически с использованием пакета прикладных компьютерных программ (Лях Ю.Е. и соавт., 2006).

Результаты и их обсуждение

Оценка состояния 12-перстной кишки на момент поступления в стационар (через 2–6 ч после начала кровотечения) позволила выявить предшествующие изменения рельефа и структуры слизистой оболочки и оценить степень нарушения микроциркуляции. В маргинальной зоне язвенного дефекта отмечено снижение высоты ворсинок, сопровождающееся альтерацией покровного эпителия с формированием участков десквамации эпителиального пласта и обнажение собственной пластинки СО. В сохраненном покровном эпителии ворсинок, зарегистрировано увеличение количества бокаловидных клеток по сравнению с контролем. В столбчатых энтероцитах определялись явления перинуклеарного отека, вакуолизации базальной зоны со смещением ядер в центр и апикальную зону клеток, деструкции щеточной каемки. Сходная картина обнаруживалась в эпителии крипт. В отдельных криптах обнаружен отрыв эпителиального пласта от базальной мембраны. Эти изменения во многом были связаны с нарушением микроциркуляции в собственной пластинке. Так, в области ворсинок и крипт УО сосудов был соответственно на 48% ($p < 0,01$) и 14,08% ($p < 0,05$) выше контрольных значений, хотя $УП_{Эц}$ оказалась на 25% и 14,29% ниже ($p < 0,05$), чем у пациентов контрольной группы. Изменение данных показателей было, с одной стороны, связано с расширением просвета сосудов (явлениями вазодилатации), а с другой – с деструкцией и десквамацией эндотелиальных клеток. За счет этого в части визуализируемых сосудов эндотелиальная выстилка была прерывистой, причем CD31⁺ клетки имели набухшие ядра, отечную цитоплазму, иммуноцитохимическая реакция варьировала по своей интенсивности. В этом отношении достаточно демонстративным оказалось соотношение $УП_{Эц}/УО_{сос}$, которое в области ворсинок снизилось на 49,32% ($p < 0,01$), а в зоне крипт – на 24,87% ($p < 0,05$). Патологический характер вазодилатации подтверждался развитием отека соединительной ткани: УО интерстициальной жидкости повысился на 17,24% и 15,81% соответственно в области ворсинок и крипт ($p < 0,05$). При этом соотношение $УО_{сос}/УО_{ОАВ}$ увеличилось на 10,62% в зоне ворсинок ($p < 0,05$) и на 5,31% в области крипт ($p > 0,05$) по сравнению с контролем, отра-

жая различную выраженность нарушений гемодинамики и сосудистой проницаемости в маргинальной зоне язвы при кровотечении.

Острая реакция на гемостаз (через 6 ч) сопровождалась усилением микроциркуляторных нарушений и отека слизистой оболочки. УО сосудов вырос на 9,91% ($p < 0,05$) по сравнению с данными до гемостаза и на 62,67% ($p < 0,01$) превысил показатель в контроле. На этом фоне отмечено усиление деструкции эндотелиальной выстилки. Так, в области ворсинок $УП_{Эц}$ снизилась на 8,33% ($p < 0,05$) по сравнению с предыдущим сроком исследования и была на 31,25% меньше контроля ($p < 0,01$). Потеря эндотелиоцитов и усиление вазодилатации вели к снижению отношения $УП_{Эц}/УО_{сос}$ на 16,18% по сравнению с предыдущим сроком исследования ($p < 0,05$) и на 57,64% по отношению к контролю ($p < 0,01$). Характерно, что в области крипт изменения носили иной характер. Здесь $УО_{сос}$ вырос на 7,41% по сравнению с данными на момент госпитализации и на 22,54% превысил показатель в контрольной группе. При этом $УП_{Эц}$ и коэффициент $УП_{Эц}/УО_{сос}$ снизились более значительно, чем в области ворсинок – на 16,67% и 22,41% ($p < 0,05$) соответственно, а отличия данных показателей от контроля составили соответственно 28,57% и 41,71% ($p < 0,01$). Отмечено усиление отека: УО интерстициальной жидкости возрос на 9,23% по отношению к данным на момент поступления ($p < 0,05$) и 26,5% по отношению к контролю ($p < 0,01$). Результатом описанных нарушений стало расширение пространств между криптами, усиление отека энтероцитов на их дне с деструкцией части клеток и их десквамацией в просвет крипт.

В течение 12 часов после лечебного гемостаза микроциркуляторные нарушения сохранялись и только через 1 сутки картина резко менялась. УО сосудов снижался на 16,67% ($p < 0,05$) по сравнению с предыдущим сроком исследования, но по-прежнему превышал контроль на 33,33% ($p < 0,01$). Это предопределяло ограничение отека: $УО_{ОАВ}$ снижался на 27,3% по сравнению с предыдущим сроком исследования ($p < 0,01$). При этом отмечено увеличение плотности клеток: их УО возрос на 55,06% по отношению к предыдущему сроку исследования ($p < 0,01$) и на 13,43% превысил показатель в контроле ($p < 0,05$). Это было связано с развитием воспалительной инфильтрации лейкоцитами, среди которых помимо лимфоцитов, обнаруживали макрофаги, нейтрофилы, отдельные эозинофилы, плазмоциты, дегранулирующие тучные клетки. Развитие воспаления сопровождалось активацией ангиогенеза. Об этом свидетельствовало повышение $УП_{Эц}$ на 40% по сравнению с предыдущим сроком исследования ($p < 0,01$), хотя данный показатель был на 12,5% ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,05$). Отношение

$УП_{Эц}/УО_{сос}$ выросло более значительно: на 68% по сравнению с предыдущим сроком исследования ($p < 0,01$), но было на 34,38% ниже ($p < 0,01$), чем в группе сравнения, отражая сохранение вазодилатации. При этом морфологически сосуды были гетерогенны по диаметру, плотности расположения $CD31^+$ клеток и интенсивности иммуноцитохимической реакции клеток. Данные изменения в крипах носили аналогичный по интенсивности характер. Здесь выявлялось много сосудов с узким просветом в виде тонкостенных трубочек, выраженной реакцией на $CD31^+$ и направленных вертикально от мышечной пластинки, вдоль крипт к поверхности СО. Данные изменения сосудов сопровождалось усилением митозов в эпителии крипт и ворсинок, что вело к увеличению высоты эпителиального пласта, с появлением феномена псевдомногорядности за счет гетерогенности формы, размера и положения ядер.

Через 3 суток в собственной пластинке СО двенадцатиперстной кишки на фоне поддержания стабильного индекса клеточности отмечалось уменьшение количества нейтрофилов при увеличении количества макрофагов, фибробластов, картины пролиферации эндотелия. Это, по сути, отражало развитие грануляционной ткани в краевой зоне язвенного дефекта ткани. УО сосудов в ворсинках снижался на 20% ($p < 0,05$), а $УП_{Эц}$ повышалась на 26% ($p < 0,01$) по отношению к предыдущему сроку исследования. Данные показатели оказались на 6,67% и 7,5% выше контроля ($p < 0,05$). Отношение $УП_{Эц}/УО_{сос}$ достигало контрольных значений, отражая увеличение количества сосудов на фоне снижения их диаметра (выраженности вазодилатации). При этом $УО_{ОАВ}$ был на 10,47% ниже ($p < 0,05$), чем у пациентов контрольной группы. В данный срок исследования УО сосудов не менялся статистически значимо и мало отличался от контроля. Удельная плотность $CD31^+$ клеток возросла на 28,57% ($p < 0,01$), а отношение $УП_{Эц}/УО_{сос}$ на 30,41% превысило показатель в контроле ($p < 0,01$). Интересно, что во всех случаях обнаруживались ассоциации между новообразующимися сосудами и эпителием крипт и ворсинок, сопровождающееся уменьшением диффузионного расстояния. Оценка диаметра сосудов показала превалирование площади капилляров над венулярным отделом. Отмечено увеличение плотности сосудов в поле зрения при уменьшении их диаметра, а также картины пролиферации эндотелиоцитов. В эпителиальной пластинке СО отмечено увеличение плотности клеток, базофилия цитоплазмы и увеличение высоты эпителиального пласта. Выявлено увеличение количества клеток Панета, которые обнаруживались не только в области дна, но и на боковых поверхностях крипт. Реорганизация собственной пластинки и крипт сопровождалась ростом ворсинок. Эпите-

лий таких ворсин характеризовался большей толщиной, высокой плотностью ядер на единицу длины базальной мембраны, картинками митозов при сохранении явлений апоптоза клеток.

Через 7 суток после остановки язвенного кровотечения в маргинальной зоне язвенного дефекта на фоне тенденции к восстановлению рельефа отмечен ряд признаков дисрегенерации. В собственной пластинке зарегистрирован ряд отличий от контроля. Так, УО сосудов был на 6,53% выше ($p < 0,05$), а УО_{ОАВ} на 9,31% ниже контроля ($p < 0,05$). Это было связано с высокой удельной плотностью клеток в собственной пластинке. Помимо сохранения лимфоцитарной инфильтрации и высокого процента макрофагов обращало на себя внимание увеличение количества эндотелиоцитов. УП последних оказалась на 14,29% выше контроля ($p < 0,05$). Пролонгированный и усиленный ангиогенез был ассоциирован с нарушением морфогенеза ворсин. Часть их была разветвленной (древовидной) с боковыми короткими ответвлениями. В покровном эпителии ворсин сохранялась большая высота эпителия, фигуры митоза на боковой поверхности ворсин. При этом высота ворсинок не достигала контрольных значений, а в ряде случаев размер ворсинок был меньше глубины крипт. Однако восстановление покровных структур в СО двенадцатиперстной кишки происходило на фоне сохранения дистрофических изменений клеток.

Анализ причинно-следственных отношений заставляет обратить внимание на клеточные источники факторов роста и хемокинов, стимулирующих пролиферации и миграцию эндотелиоцитов: PDGF, VEGF, FGFb (Аруин Л.И., Капуллер Л.Л. и соавт., 1998; Basson M.D., 2006). Кроме того, стимуляторами ангиогенеза считается оксид азота, простагландины и провоспалительные цитокины ИЛ-1, ИЛ-6 (Маев И.В., Горбань В.В. и соавт., 2007). Ключевыми источниками этих регуляторов являются тромбоциты и лейкоциты (в первую очередь, моноциты-макрофаги). Однако динамика состояния этих форменных элементов крови до и после кровотечения мало изучены. В данной работе показано, что у больных с язвенной болезнью двенадцати-

перстной кишки обнаруживается взаимосвязь между количеством CD31⁺ клеток и сохранением лимфогистиоцитарной инфильтрации СО двенадцатиперстной кишки. При этом скопления лейкоцитов были разнообразными – локальными на границе с мышечной пластинкой и диффузными в ворсинках. Не менее важным фактом, требующим дальнейшего изучения и интерпретации, является повышение пролиферативной активности эндотелиоцитов и столбчатых энтероцитов покровного эпителия на фоне дефицита межклеточного матрикса. Это свидетельствует о нарушении ремоделирования межклеточного матрикса в СО двенадцатиперстной кишки за счет изменения баланса между активностью ферментов синтеза и деградации внеклеточного матрикса. Но фактические данные в отношении данного вопроса пока малочисленны.

Заключение

Проведенное в данной работе морфологическое исследование маргинальной зоны показало, что развитие репарации после кровотечения из язвенного дефекта луковицы двенадцатиперстной кишки происходит на фоне предсуществующего хронического воспаления и острого нарушения микроциркуляции. Выполнение лечебного инъекционного гемостаза в ранние сроки сопровождается усилением микроциркуляторных нарушений, отека и ишемического повреждения тканей СО. Острая нейтрофильная инфильтрация в течение 1 суток сменялась развитием грануляционной ткани и стимуляцией ангиогенеза через 3 суток. Интенсификация и пролонгирование ангиогенеза на фоне сохранения лимфоцитарной инфильтрации через 7 суток были ассоциированы с дисморфогенезом ворсинок, изменением клеточного состава покровного эпителия.

Перспективы дальнейших разработок

Дальнейшие исследования будут касаться изучения и интерпретации пролиферативной активности эндотелиоцитов и столбчатых энтероцитов покровного эпителия на фоне дефицита межклеточного матрикса, что может свидетельствовать о нарушении ремоделирования межклеточного матрикса в СО двенадцатиперстной кишки.

Литературные источники

Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия / Г. Г. Автандилов. – М. : Медицина, 1991. – 381 с.

Аруин Л. И. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника / Л. И. Аруин, Л. Л. Капуллер, В. А. Исаков. – М. : Медицина, 1998. – 496 с.

Маев И. В. Морфологические и возрастные особенности гастродуоденального кровотока у больных язвенной болезнью и пути его коррек-

ции / И. В. Маев, В. В. Горбань, Л. М. Салова // Рос. журн. гепат. и гастроэнтерол. – 2007. – № 4. – С. 7-12.

Основы компьютерной биостатистики / [Лях Ю. Е., Гурьянов Г. В., Хоменко В. Н., Панченко О. А.]. – Донецк, 2006. – 211 с.

Филиппов Ю. А. Перспективы развития иммуногистохимических исследований в гастроэнтерологии / Ю. А. Филиппов, Ю. А. Гайдар // Журнал АМН України. – 2002. – Т. 8, № 1. – С.

Суласва О.М. Перебудова судинного русла маргінальної зони виразки дванадцятипалої кишки після кровотечі.

Резюме. З метою об'єктивної оцінки ремоделювання судинного русла слизової оболонки дванадцятипалої кишки після кровотечі проведено морфометричний аналіз біоптатів крайової зони виразки 32 пацієнтів. Дослідження показало, що розвиток репарації після кровотечі відбувається на фоні передіснуючого запалення і гострого порушення мікроциркуляції. Проведення лікувального ін'єкційного гемостазу в ранні терміни супроводжувалося посиленням мікроциркуляторних порушень, набряку, та ішемічного ушкодження тканин слизової оболонки. Гостра нейтрофільна інфільтрація протягом 1 доби змінювалася розвитком грануляційної тканини і стимуляцією ангиогенезу через 3 доби. Інтенсифікація і пролонгування ангиогенезу на фоні тривалої лімфоцитарної інфільтрації через 7 діб були асоційовані з дисморфогенезом ворсинок, зміною клітинного складу покривного епітелію.

Ключові слова: дванадцятипала кишка, крайова зона виразки, ремоделювання судинного русла, морфометричний аналіз.