О.М.Сулаева
Е.Ф.Барінов
П.Г.Кондратенко
С.О.Жаріков
Є.Є.Раденко

Донецький національний медичний університет імені М.Горького

Ключові слова: пептичні виразки, гостра кровотеча, запалення, макрофаги.

Надійшла: 26.02.2014
Прийнята: 18.03.2014

УДК:616.3/.342-002.44-005.1-036.65-018

РОЛЬ ЗАПАЛЕННЯ У РОЗВИТКУ ГОСТРИХ КРОВОТЕЧ З ВИРАЗОК ГАСТРОДУОДЕНАЛЬНОЇ ЗОНИ

Дослідження проведено в рамках науково-дослідної роботи МОЗ України «Моделювання відповіді біологічних систем (клітин, органів, організму) на дію факторів ушкодження» (номер державної реєстрації 0109U008714).

Реферат. З метою оцінки виразності та характеру запалення у гастродуоденальній зоні за умов гострої виразкової кровотечі проведено морфологічне дослідження біоптатів гастродуоденальної зони 46 пацієнтів. Імуноцитохімічно визначали кількість та розподіл гранулоцитів, макрофагів, Т- і В-лімфоцитів. Визначено специфічні зміни імунологічної реактивності у пацієнтів з пептичними виразками. Розвиток кровотечі був асоційований з локальною активацією макрофагів, судинною реакцією, виразною альтерацією та інфільтрацією нейтрофілами.
Morphologia. – 2014. – Т. 8, № 1. – С. 85-89.
© О.М.Сулаева, Е.Ф.Барінов, П.Г.Кондратенко, С.О.Жаріков, Є.Є.Раденко, 2014
✉ **oksanahistology@gmail.com**

Sulaieva O.N., Barinov E.F., Kondratenko P.G., Zharikov S.O., Radenko E.E. The role of inflammation in the development of acute gastroduodenal ulcer bleeding.

ABSTRACT. Background. Gastroduodenal ulcer bleeding is one of the main causes of morbidity, mortality and high medical care expenses. It is unclear why regardless of the optimization of antisecretory therapy among the patients with peptic ulcer the frequency of bleeding remains as high. **Objective.** We suggest that acute bleeding development is related with hyperstimulation of acute inflammatory response due to macrophages dysfunction. **Methods**. To test this hypothesis we assessed characteristics of inflammatory process in different zones of the gastroduodenal area under acute bleeding in 46 patients. The number and distribution of neutrophils, eosinophils, plasma cells, mast cells, macrophages (CD68+), T- (CD3+) and B-lymphocytes (CD20+) were evaluated. **Results.** The comparison of morphological changes in ulcer margin and intact gastric mucosa has revealed that the development of ulcer bleeding is associated with acute inflammation. High recruitment of neutrophils in ulcer margin was associated with edema and alteration of covering epithelium. CD68-positive cells prevailed in subepithelial region. However, in the 2nd group number of macrophages ($p<0,001$) and neutrophils was dramatically higher ($p<0,01$), that was accompanied with glands damage. CD68-positive cells were found not only under epithelium, but also close to gastric glands isthmus where epithelial stem cells are located, within disrupted muscularis mucosae and near lymphocytes infiltrates. Macrophage number correlated with neutrophils recruitment ($r=0,696$; $p<0,01$), intensity of edema and alteration of ulcer margin ($r=0,741$; $p<0,001$). **Conclusion.** Ulcerogenesis is related with alternative changes in immune reactivity. Acute ulcer bleeding is associated with progressive acute inflammation correlating with increase of macrophages number in ulcer margin and their proinflammatory activation.
Key words: peptic ulcer, acute bleeding, inflammation, macrophages.

Citation:
Sulaieva ON, Barinov EF, Kondratenko PG, Zharikov SO, Radenko EE. [The role of inflammation in the development of acute gastroduodenal ulcer bleeding]. Morphologia. 2014;8(1):85-9. Ukrainian.

Вступ

Пептичні виразки шлунку та дванадцятипалої кишки (ДПК) залишаються однією із актуальних медико-соціальних проблем, з огляду на поширеність даної патології та частий розвиток ускладнень [1; 2]. Найбільш грізним наслідком ульцерогенезу в гастродуоденальній зоні (ГДЗ) є кровотечі, що можуть бути причиною розвитку геморагічного шоку та навіть летального результату [3; 4]. У більшості випадків розвиток виразкової кровотечі відбувається на тлі тривало існуючих морфофункціональних порушень, що визначають дизрегенерацію. Багаторічні дослідження в галузі гістофізіології та патофізіології

ГДЗ встановили роль зміни реактивності організму. Останнє визначає специфіку відповіді інтегруючих систем (нервової, ендокринної та імунної), за умов критичної ситуації – розвитку кровотечі, і має своє морфологічне віддзеркалення [3]. Однак, які фактори імунологічної реактивності організму є провідними у патоморфозі ГДЗ за умов виразкової кровотечі, і яку роль відіграють певні міжклітинні кооперації за умов ульцерогенезу, ускладненого розвитком кровотеч, – досі невідомо. Незважаючи на численні дослідження щодо факторів ризику та провідних патогенетичних механізмів ульцерогенезу [1; 5], за межею інтересів науковців залишається питання щодо характеру і ролі запалення у зоні ушкодження.

Метою даної роботи стала оцінка виразності та характеру запального процесу у різних ділянках ГДЗ за умов розвитку гострої виразкової кровотечі.

Матеріали та методи

У роботі проведено аналіз морфології біоптатів крайової зони 46 пацієнтів з кровотечами з виразок гастродуоденальної зони. Пацієнти були госпіталізовані до хірургічного відділення № 1 міської лікарні № 16 м. Донецька і були під курацією кафедри госпітальної хірургії та ендоскопії Донецького національного медичного університету ім. М.Горького. Критеріями включення у дослідження були: наявність клініко-інструментальних ознак гострої гастродуоденальної кровотечі; ендоскопічно підтверджена наявність виразок шлунка чи дванадцятипалої кишки; вік від 35 до 70 років; інформована згода пацієнта. З дослідження були виключені пацієнти за наявності наступних факторів: прийом нестероїдних протизапальних препаратів; наявність в анамнезі гострого інфаркту міокарда чи інсульту за останні півроку; прийом препаратів з антиагрегантною дією; вік менше за 35 чи старше за 70 років; наявність супутньої онкологічної патології; портальна гіпертензія, цироз; цукровий діабет; гострі запальні захворювання інших органів; гостра травма; хронічна ниркова недостатність; коагулопатії. Крім того, під час аналізу отриманих даних враховувалися впливи таких факторів, як стать, вік, наявність супутньої патології серцево-судинної та травної систем, тяжкість кровотечі, тривалість періоду між початком кровотечі та госпіталізацією, локалізацію й розмір виразок, статус гемостазу за даними ендоскопічного обстеження на момент госпіталізації та у динаміці спостереження.

Динаміку запально-репаративного процесу оцінювали за даними морфологічного аналізу біоптатів ГДЗ на момент госпіталізації пацієнтів з гострими кровотечами. Для коректного морфологічного аналізу та згідно з рекомендаціями [1] брали біоптати слизової оболонки наступних зон: крайової (маргінальної) зони виразки, інтактної слизової оболонки суміжного з виразкою регіону шлунку чи дванадцятипалої кишки, віддалених ГДЗ.

Біопсійний матеріал після дегідратації заливали у високо очищений парафін з полімерними додатками (Richard-Allan Scientific, США) при температурі 56°C. Загальноморфологічну оцінку зрізів товщиною 5-7 мкм проводили при забарвленні гематоксиліном та еозином, толуїдиновим синім, за методом ван Гізон. Для аналізу клітинного склад інфільтратів було проведено імуногістохімічне дослідження з використанням моноклональних антитіл до CD3 (специфічний для Т-лімфоцитів), CD20 (специфічний для В-лімфоцитів) та CD68 (антиген макрофагів). Для об'єктивізації проведеного морфологічного дослідження використовували комплексний морфометричний аналіз [6], який виконували із застосуванням спеціального програмного забезпечення Image Tool version 3.0. і графічного редактора AdobePhotoshop CS4 Extended v.11.0.1. Знімки було зроблено цифровою фотокамерою Canon EOS 400D (EF-S 18-55 Kit). Отримані результати обробляли в статистичному пакеті MedStat.

Результати та їх обговорення

Порівняльний аналіз морфологічних змін у крайовій та інтактній зонах шлунка та дванадцятипалої кишки дозволив визначити, що розвиток виразкової кровотечі відбувається на фоні деструктивних змін та гострого запального процесу. Запальний процес був зареєстрований у різних ділянках ГДЗ (у тілі, пілоричному відділу шлунку та у дванадцятипалій кишці), незалежно від локалізації виразки. Аналіз інтактної зони слизової оболонки різних відділів шлунка та дванадцятипалої кишки відзначив комплекс патоморфологічних змін, які включали: порушення кровоплину у виді нерівномірного кровонаповнення судин, дилатації венулярної ланки мікроциркуляторного руслу, локальних крововиливів, периваскулярного та дифузійного інтерстиційного набряку. У більшості випадків у інтактних ділянках гастродуоденальної зони, не залучених до ульцерогенезу, було відзначено виразні дистрофічні зміни шлункових залоз та власних залоз дванадцятипалої кишки, які були асоційовані з більш виразною запальною реакцією – з посиленням деструкції та рекрутуванням лейкоцитів у перигландулярний регіон слизової оболонки. При цьому покривний епітелій на поверхні шлу-

нка та дванадцятипалої кишки мав ознаки не тільки альтерації, а й активації компенсаторно-пристосувальних процесів, що проявлялося комбінацією процесів виразної проліферації на фоні дистрофічних змін та апоптозу клітин.

Крім того, у всіх досліджених інтактних ділянках гастродуоденальної зони пацієнтів з гострими виразковими кровотечами було відзначено виразну лейкоцитарну інфільтрацію слизової оболонки. Остання мала мішаний характер: окрім лімфоцитів і плазмоцитів, які є проявом хронічного запального процесу та відбивають виразність відповіді специфічної ланки імунітету, було відзначено рекрутування нейтрофілів та еозинофілів. При цьому цитоархітектоніка інфільтратів мала свої особливості у різних ділянках гастродуоденальної зони. Так, у слизовій оболонці шлунка була відзначена переважна інфільтрація лейкоцитами у валиках – під покривним епітелієм, у дванадцятипалій кишці максимально виразні ознаки гострої запальної реакції були визначені у ворсинках та проміжній зоні.

Найбільш типовими патоморфологічними змінами у біоптатах шлунку в хворих на виразку шлунка були варіанти хронічного атрофічного гастриту чи антрум-гастриту, що в більшості випадків супроводжувалося деструкцією та атрофією залоз. Ульцерогенез, ускладнений кровотечами, у тілі шлунку як правило був асоційований з деструкцією залоз, виразною дистрофію та обмеженням кількості парієтальних клітин на фоні дифузної інфільтрації власної пластинки слизової лейкоцитами. Паралельно з цим у всіх хворих зі шлунковими виразками визначалися морфологічні ознаки дуоденіту.

Залучення до запального процесу усієї ГДЗ було зареєстровано й у пацієнтів з виразками дванадцятипалої кишки: окрім дуоденіту у цих хворих морфологічне дослідження визначило наявність гастриту. Проте, на відміну від хворих в виразками шлунка, ульцерогенез у дванадцятипалій кишці був як правило асоційований з гіпертрофічними змінами у слизовій оболонці шлунка. Це було асоційоване із зростанням кількості парієтальних екзокриноцитів, їх гіпертрофією і вакуолізацією, посиленням секреторної активності слизових залоз пілоричного відділу шлунка і проліферації клітин покривного епітелію. У частини хворих на виразки дванадцятипалої кишки було визначено еозинофільний гастрит.

При цьому запальний процесу у інтактних зонах дванадцятипалої кишки був асоційований зі зростанням кількості келихоподібних клітин та гіперплазією дуоденальних залоз. Наявність ознак альтерації та запалення у інтактних ділянках, не залучених до ульцерогенезу, стимулювало до пошуку відповіді на запитання, які саме патоморфологічні зміни є провідними чи вирішальними у формуванні виразки та прогресуванні деструктивного процесу, що веде до ускладнення виразкової хвороби кровотечами. Для відповіді на це запитання було проведене співставлення будови крайової зони виразок та інтактної ділянки слизової того ж регіону гастродуоденальної зони. Цей підхід дозволив визначити регіонально-специфічні фактори, асоційовані з ульцерогенезом.

Роль гострого запалення у розвитку виразкової кровотечі

В біоптатах крайової зони виразок останньої категорії хворих переважали явища лейкоцитарної інфільтрації з переважанням нейтрофілів, що по суті відбиває розгортання запальної реакції у відповідь на ішемію та ушкодження. Останнє проявлялося десквамацією покривного епітелію, альтерацією клітин власної пластинки слизової та шлункових залоз, апоптозом клітин.

Характерне, що кількість нейтрофілів в маргінальній зоні виразок була статистично значуще вищою за показник в інтактній та віддалених зонах гастродуоденальной зони ($p<0,01$). Проте порівняння питомої щільності нейтрофілів у крайовій зоні виразок шлунка була вищою за таку у дванадцятипалій кишці. Останнє було повязане з більш виразним набряком у ворсинках та перикриптальному просторі дванадцятипалої кишки. Типовою ознакою гострого запалення у дванадцятипалій кишці було також рекрутування до власної пластинки слизової великої кількості еозинофілів. Їх кількість корелювала з чисельністю плазмоцитів у власній пластинці слизової оболонки ($r=0,672$; $p<0,01$). Не менш важливим фактором, залученим до розвитку й прогресування ульцерогенеза, можна вважати порушення цілісності м’язової пластинки слизової оболонки шлунка. Типовою ознакою крайової зони виразок були дезорганізація гладеньких міоцитів, набряк та інфільтрації м’язової пластинки на фоні виразної судинної реакції. Питомий об’єм судин в ділянці країв виразки складав 12±0,4% (95% ДІ 11,2-12,6%), і даний показник помірно корелював з віком хворих ($r=0,347$, $p<0,05$). При цьому судинна реакція у крайовій зоні виразки не залежала від тяжкості кровотечі, яку оцінювали за такими показниками, як кількість еритроцитів і концентрація гемоглобіну.

Статистичним підтвердженням цього положення був кореляційний зв'язок між ПО інфільтратів та терміном госпіталізації хворого від перших симптомів кровотечі ($r=0,563$; $p<0,01$). Аналогічна залежність була відзначена й щодо питомої щільності лейкоцитів у власній пластинці слизової оболонки крайової зони виразок. Широко варіювала й виразність набряку: ПО інтерстиційної рідини, що відбиває ступінь порушення проникливості судин та транссудації, коливався від 13,2 до 34,7% (Me=21±1,4%; 95% ДІ 17,7-23,2%). Максимальним цей показник був у пацієнтів, що були госпіталізовані за 6-12 годин після перших симптомів гастродуоденальної крово-

течі. Проте, даний показник був значно нижчим за 24-72 години після маніфестації кровотечі.

Роль хронічного запального процесу в ульцерогенезі

Окрім типових проявів хронічного запалення, що проявляється лімфогістіоцитарною інфільтрацією, у крайовій зоні виразок шлунка та дванадцятипалої кишки були виявлені інші показники. В шлунку до ознак хронічного процесу можна віднести атрофію слизової оболонки та кишкову метаплазію. У ДПК хронічне запалення супроводжувалося зростанням кількості келихоподібних клітин та гіперплазією дуоденальних залоз. При цьому було важливо відповісти на запитання: чи є ці фактори визначальними у розвитку виразок та їх ускладнень. Порівняння структури крайової зони виразок та інтактних ділянок ГДЗ виявило наявність цих ознак в обох випадках і незалежно від їх просторового зв'язку з виразкою. Отже атрофічні та гіперпластичні зміни є наслідком хронічного запалення, проте не є детермінантами ульцерогенезу.

Типовою ознакою слизової оболонки ГДЗ на фоні виразкового процесу була наявність значної лімфоцитарної інфільтрації. Характерне, що частіше інфільтрати розташовувалися у глибині власної пластинки, а подекуди, охоплювали й м'язову пластинку слизової оболонки шлунка та дванадцятипалої кишки. При цьому використання імуногістохімічного дослідження дозволило визначити специфіку реакції специфічної ланку імунітету за умов ульцерогенезу у шлунку та дванадцятипалій кишці. Якщо в тілі шлунку переважали варіанти інфільтрації CD3 лімфоцитами, то у ДПК та в частині випадків у пілоричному відділі шлунку превалювала інфільтрація CD20 позитивними клітинами. Проте, в інтактних та віддалених ділянках ГДЗ було визначено схожу лімфоцитарну інфільтрацію. Отже хронічний запальний процесу формує фон, проте не є фактором, що провокує розвиток та ускладнення виразок.

У пошуку відповідей на це питання було проведено аналіз клітинного складу інфільтратів, кількості та розподілу клітин, що вважаються диригентами запального процесу та імунної відповіді. Останнє дозволило визначити, що як у лімфоцитарних інфільтратах, так і в зонах розгортання гострої запальної відповіді у крайовій зоні виразок має місце підвищення кількості макрофагів. Окрім кількісних відмін від інтактних зон ГДЗ, типовим був розподіл макрофагів у крайовій зоні виразок. Значна кількість CD68 позитивних клітин визначалася не тільки під покривним епітелієм та зонами альтерації, а й навколо шийкової зони шлункових залоз та у перикриптальному регіоні ДПК. Крім того, значний пул макрофагів було визначено у ділянках лімфоцитарних інфільтратів. Цей факт, по суті, відбиває роль цих клітин не тільки у розвитку гострого запалення, а й в підтриманні імунологічних реакцій у ГДЗ.

При аналізі причинно-наслідкових зв'язків зазначених патоморфологічних змін в СО шлунка було визначено зв'язок виразності альтеративних змін з ПЩ нейтрофілів ($r=0,699$; $p<0,01$). Остання в свою чергу була суттєво пов'язана з підвищенням чисельності макрофагів ($r=0,696$; $p<0,01$). У дванадцятипалій кишці максимально пов'язаними з ступенем альтерації були показники ПЩ Мф ($r=0,565$; $p<0,01$) та еозинофілів ($r=0,598$; $p<0,01$), і в меншій мірі – нейтрофілів ($r=0,427$; $p<0,01$). Паралельне зростання у СО ДПК кількості макрофагів, плазмоцитів, нейтрофілів та еозинофілів може відбивати можливість спільних механізмів рекрутування цих клітин у крайову зону виразки та специфіку індивідуальної імунологічної реактивності організму, за якої відбувається прогресування ульцерогенезу та розвиток виразкових кровотеч. Наявність асоціації між макрофагами й нейтрофілами потребує більш детального аналізу регуляції функціональної активності цих клітин та механізмів їх кооперації в зоні виразкового дефекту [7]. Це тим більш важливо, якщо врахувати, що макрофаги можуть впливати не тільки на розвиток гострої фази запалення, яке багато в чому визначає ступінь альтерації ($r=0,741$; $p<0,001$) та виразність імунних реакцій, але й на розвиток морфогенетичних процесів, що забезпечують репаративні процеси у зоні виразки – ангіогенез, формування грануляцій, епітеліальну реституцію.

Підсумок

Отже морфологічне дослідження біоптатів слизової оболонки ГДЗ у пацієнтів з гострими кровотечами з виразок різної локалізації дозволяє констатувати, що розвиток кровотечі відбувається на фоні запального процесу у всіх ділянках гастродуоденальної зони. Аналіз клітинного складу інфільтратів свідчить про специфічні зміни імунологічної реактивності у пацієнті в з пептичними виразками. Розвиток запально-деструктивного процесу у зоні виразки пов'язаний з локальною активацією макрофагів, що асоційоване з судинною реакцією, виразною альтерацією та розвитком гострого запального процесу.

Перспективи подальших розробок

Вивчення клітинних та молекулярних механізмів порушення імунологічної реактивності за умов ульцерогенезу дозволить розробити нову стратегію лікування хворих з пептичними виразками.

Літературні джерела
References

1. Kondratenko PG, Smirnov NL, Radenko EE. Ostroe krovotechenie v prosvet organov pischevaritelnogo kanala [Acute bleeding into the alimentary canal]. Donetsk; 2006. 420 p. Russian.

2. Laine L, Jensen DM. Management of patients with ulcer bleeding. Am J Gastroenterol. 2012 Mar;107(3):345-60; quiz 361. doi: 10.1038/ajg.2011.480. Epub 2012 Feb 7. Cited in: PubMed; PMID: 22310222.

3. Korolev MP. [Gastroduodenal bleedings as a problem of emergency surgery]. Vestnik hirurgii im. I.I. Grekova. 2011;170(2):52-5. Russian.

4. Bratanic A, Puljiz Z, Ljubicicz N, Caric T, Jelicic I, Puljiz M, Perko Z. Predictive factors of rebleeding and mortality following endoscopic hemostasis in bleeding peptic ulcers. Hepatogastroenterology. 2013 Jan-Feb;60(121):112-7. Cited in: PubMed; PMID: 22709912.

5. Barinov EF, Sulaieva ON, Kondratenko PG, Radenko EE, Deliy VYu. [Gastric and duodenal mucosa protection and defense]. Current gastroenterology. 2011;61(5):36-43. Ukranian.

6. Avtandilov GG. Meditsinskaya morfometriya [Medical morphometry]. Moscow: Meditsina; 1991. 381 p. Russian.

7. Sulaieva ON. [Interaction between tissues in gastroduodenal area depend on organism reactivity among patients with ulcer bleeding]. Visnyk problem biologii i medytsyny. 2011;2:177-80. Russian.

Сулаева О.Н., Баринов Э.Ф., Кондратенко П.Г., Жариков С.О., Раденко Е.Е. Роль воспаления в развитии острых кровотечений из язв гастродуоденальной зоны.

Реферат. Цель – оценка выраженности и характера воспаления в гастродуоденальной зоне при острых язвенных кровотечениях. Проведено морфологическое исследование биоптатов гастродуоденальной зоны 46 пациентов. Иммуногистохимически оценивали количество гранулоцитов, макрофагов, Т- и В-лимфоцитов. Показаны специфические нарушения иммунологической реактивности у пациентов с пептическими язвами. Развитие кровотечения связано с локальной активацией макрофагов, выраженной сосудистой реакцией, альтерацией и инфильтрацией нейтрофилами.

Ключевые слова: пептические язвы, острое кровотечение, воспаление, макрофаги.