

УДК 616.37-002.4-022.6/.7-07-091.8

Велигоцкий Н.Н., Клименко М.В., Яковцова И.И.

К ВОПРОСУ КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ СТЕРИЛЬНОГО И ИНФИЦИРОВАННОГО ПАНКРЕОНЕКРОЗА

Харьковская медицинская академия последипломного образования

Изучены особенности содержания TGF-β1, ПКТ, ИЯС в сыворотке крови у больных ОП тяжелой степени. Определены их диагностические уровни и корреляции с показателями шкалы APACHE II, Ranson, КТ-индекса Balthazar при инфицированном и стерильном панкреонекрозе. Выявлены морфологические особенности локализации и распространения ОП при стерильной и инфицированной формах. Иммуногистохимическим методом в аутопсийном материале поджелудочной железы отмечено нарастание экспрессии TGF-β1 в ткани по мере прогрессирования тяжести деструктивного панкреатита от стерильных форм к инфицированным. Разработан алгоритм дифференциальной диагностики стерильной и инфицированной форм панкреонекроза.

Ключевые слова: панкреонекроз, стерильный, инфицированный, диагностика

Статья является фрагментом научно-исследовательской работы Харьковской медицинской академии последипломного образования "Комплексная профилактика гнойно-септических осложнений у больных с неотложными заболеваниями органов брюшной полости" (№ государственной регистрации 0111 У 003580).

Введение

Одной из самых трудных диагностических задач для выбора лечебной тактики у пациентов с острым тяжелым панкреатитом (ОП) является ранняя диагностика инфицированной формы панкреонекроза [3, 4, 5, 15]. На фоне выраженной системной воспалительной реакции (СВР) различие стерильной и инфицированной фаз панкреонекроза (ПН) на этапе трансформации одной в другую затруднено [5, 10]. Дифференциальная диагностика между стерильной и инфицированной формами тяжелого ОП очень важна, так как при стерильном ПН без явлений нарастающей полиорганной недостаточности нет необходимости в неотложном хирургическом лечении. В то же время, доказанный инфицированный ПН, также как и непосредственные инфекционные осложнения панкреатической инфекции, являются показанием к хирургическому лечению [1, 3, 4, 8, 12, 15]. Несмотря на то, что наиболее значимым патогенетическим фактором ОП является воспаление и регуляторные цитокины при этом играют ключевую роль, дисбаланс между про- и противовоспалительными и цитокинами не всегда учитывается в хирургической практике [7, 14]. Не до конца ясна взаимосвязь между локальными и системными концентрациями интерлейкинов, уровнем воспалительных изменений в ПЖ и нарушением ее функции в динамике патологического процесса [2, 7, 16]. Практически не изучена диагностическая и прогностическая роль при ОП трансформирующего фактора роста β1(TGF-β1) – одного из самых универсальных маркеров, влияющего на кооперацию клеток воспаления в ПЖ и процессы инициации пролиферации фибробластов [12, 16]. Не исследована взаимосвязь между уровнем TGF-β1 и концентрациями маркеров острой фазы воспаления – прокальцитонина (ПКТ) и индекса ядерного сдвига (ИЯС) у больных с инфицированной и стерильной формами тяжелого ОП [9, 10, 11, 12]. Разработка рекомендаций по использованию в хирургии

шкал Ranson, APACHE II, КТ-индекса Balthazar, показателей TGF-β1, уровня ПКТ для диагностики формирования инфицированного ПН и выбора эффективной тактики оперативного вмешательства определяют необходимость в дальнейших исследованиях [1, 4, 5, 10, 12, 14].

Цель работы

Определить клинико-диагностическое значение противовоспалительного цитокина TGF-β1, прокальцитонина, индекса ядерного сдвига при стерильных и инфицированных формах тяжелого ОП на основании изучения особенностей содержания показателей в сыворотке крови и выявить корреляционную зависимость с показателями шкал Ranson, APACHE II, КТ – индекса Balthazar, морфологическими особенностями степени воспаления, деструкции, характера фиброза и пролиферации фибробластов в поджелудочной железе у оперированных и умерших пациентов методом иммуногистохимии для создания алгоритма ранней дифференциальной диагностики.

Материалы и методы

Проанализированы результаты собственных наблюдений за 62 больными ОП тяжелой степени (34 пациента с инфицированной формой панкреонекроза и 28 со стерильной), находившихся на стационарном лечении в хирургических отделениях Харьковской ГКБСНМП им. проф. А.И. Мещанинова. Больные в клинических группах были репрезентативны по полу, возрасту и сопутствующей патологии. В сформированных группах для диагностики и определения тактики лечения использовали трипсиноген-анионный тест, показатели шкал Ranson, APACHE II, КТ-индекса Balthazar, ИЯС, уровни ПКТ, IL-6, IL-8 в динамике патологического процесса. При включении в исследование использовали положения методических рекомендаций «Усовершенствованные алгоритмы диагностики и лечения острого панкреатита» (2012г) [8]. Диагноз больным формулировался на основе принципов МКБ -10,

клинической классификации ОП (Атланта, 2007; и SS Vege et al., 2009) [8, 14].

Значения ИЯС оценивали следующим образом: $> 0,05$ и $< 0,08$ – норма; $\geq 0,08$ и $< 0,3$ – легкая степень сдвига лейкоцитарной формулы; $\geq 0,3$ и $< 1,0$ – средняя степень сдвига; $\geq 1,0$ – тяжелая степень сдвига лейкоцитарной формулы.

Содержание TGF- β 1 в сыворотке крови определялось иммуноферментным методом с использованием стандартных наборов «TGF- β 1 ELISA» (EIA-1864, «DRG» Германия) на фотометре в первые 24-48 часов и 7-10 сутки госпитализации. Контрольные значения TGF- β 1 определяли у 10 здоровых врачей. Учитывая, что в начале развития ПН выражена СВР, которая не позволяет традиционными методами диагностики достоверно разделить асептическую фазу от начала фазы гнойных осложнений, в качестве маркера СВР мы использовали ПКТ, определяемый иммунолюминиметрическим методом (набор "Прокальци-тонин-ЛюмиТест®", Германия). Для статистической обработки, полученные данные о концентрации ПКТ закодировали следующим образом: $> 0,05$ и $< 0,5$ нг/мл = 1 балл; $> 0,5$ и $< 2,0$ нг/мл = 2 балла, $> 2,0$ и $< 10,0$ = 3 балла, $> 10,0$ = 4 балла

Для определения патогенетического значения TGF- β 1, особенностей динамики патоморфологической трансформации зон некроза в ПЖ и забрюшинном пространстве, изучения характера воспалительного процесса, фиброгенеза при разных формах деструктивного панкреатита было проведено морфологическое изучение 45 случаев в лаборатории кафедры патологической анатомии ХМАПО (зав. кафедры д.мед.наук, проф. И.И. Яковцова). Основная группа была представлена материалом 30 наблюдений деструктивного панкреатита, 7 из которых были получены в результате оперативного вмешательства путем биопсии, 23 – секционный материал, взятый у умерших пациентов с тяжелыми осложнениями ПН. Для контроля и сравнительного анализа было исследовано 10 образцов ткани неизменной ПЖ и 5 случаев ХП (аутопсийный материал лиц в возрасте от 50 до 60 лет с сердечно-сосудистой патологией, не страдавших заболеваниями ПЖ). Для морфологического исследования образцы ткани иссекали из некротизированной ткани ПЖ, парапанкреатической клетчатки, фиксировали в 10% растворе формалина на 24 часа. После фиксации кусочки ткани заливали в парафин, срезы окрашивали гематоксилином и эозином. При гистологическом исследовании иссеченных участков изучалась структура и особенности деструкции ткани ПЖ, характер и плотность воспалительного клеточного инфильтрата. Выделение клинкоморфологических форм деструктивного панкреатита проводилось в соответствии с классификацией В.С. Савельева с соавт. [7].

Для выявления особенностей иммунных кле-

точных реакций в зонах воспалительного процесса использовались первичные моноклональные антитела (МКАТ) фирмы DAKO (Дания), Ready-to-Use. Иммуногистохимическим (ИГХ) методом выявляли экспрессию Т- и В-клеточных кластеров дифференцировки (CD3, CD20), маркера плазматических клеток (CD38), маркера макрофагов (CD68). Экспрессию трансформирующего фактора роста определяли с использованием кроличьих поликлональных антител (ПКАТ) к TGF- β 1(V) Antibody (Santa Cruz Biotechnology, UK). Тенденцию к коллагенообразованию в исследуемых образцах изучали с помощью ПКАТ к Collagen I antibody и COL3A1 antibody [C2C3], C-term (коллагены I, III типов) фирмы GeneTex (Германия), мышинных МКАТ к Collagen IV (CIV22) (коллаген IV типа). Особенности васкуляризации в ткани ПЖ изучалась по экспрессии маркера эндотелиальных клеток (CD31 JC 70A) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF (VG1) Ready-to-Use (МКАТ фирма DAKO (Дания).

Материал для исследования методами ИГХ фиксировали 10% нейтральным формалином в течение 24 ч, заливали в парафин, готовили срезы толщиной 4 мкм, которые наносили на высокоадгезивные стекла Super Frost и высушивали при температуре 37°C в течение 18 часов. Демаскирующая термическая обработка была выполнена по методу кипячения срезов в цитратном буфере (pH 6,0). Для визуализации первичных антител применялась система детекции UltraVision Quanto Detection Systems HRP Polymer (Thermo scientific). В качестве хромогена использовался DAB (диаминобензидин). Для оценки степени выраженности ИГХ метки использовали полуколичественную шкалу: + – слабая, ++ – умеренная, +++ – выраженная реакция. Комплекс морфоисследований проводился на микроскопе Primo Star (Carl Zeiss) с использованием программы AxioCam (ERc 5s).

Методами описательной статистики определялись числовые характеристики показателей (математическое ожидание, среднеквадратическое отклонение, ошибка среднего). В качестве критерия достоверности значений показателей между группами, наряду с параметрическим критерием t-Стьюдента, применялся непараметрический критерий Ф-Фишера. Для проведения системного анализа интеркорреляций между различными показателями использовался метод корреляционных структур, а также метод максимального корреляционного пути, линейной корреляции Пирсона [6]. Для определения прогностической значимости различных показателей использовались алгоритмы неоднородной последовательной процедуры Вальда-Генкина, определялись прогностические коэффициенты (ПК) и прогностическая информативность (I) градации показателей [6].

Результаты и их обсуждение

Клинико-инструментально-лабораторная характеристика наблюдений в первые 24-48 часов госпитализации представлена в таблице 1. Сравнительный анализ тяжести состояния по

шкале APACHE II, Ranson, КТ-индекс Balthazar, уровней ИЯС, ПКТ и TGF-β1 у 62 больных с тяжелым ОП показал различия показателей при стерильной и инфицированной формах.

Таблица 1.
Клинико-инструментально-лабораторная характеристика при стерильных и инфицированных формах тяжелого ОП в первые двое суток госпитализации

Показатели	ОП тяжелой степени (n=62)	Стерильная форма (n=28)	Инфицированная форма (n=34)
APACHE II	11,4 ± 3,6	9,6 ± 0,43	11,8 ± 0,38 p<0,001
Ranson	3,7 ± 1,2	3,6 ± 0,21	3,7 ± 0,16 p>0,05
КТ – индекс Balthazar	6,6 ± 3,4	5,5 ± 0,32	7,6 ± 0,23 p<0,001
ПКТ, баллы	1,8 ± 0,4	1,25 ± 0,07	2,9 ± 0,07 p<0,001
ИЯС	0,26 ± 0,3	0,19 ± 0,03	0,3 ± 0,05 p>0,05
TGF-β1, нг/мл	155,1 ± 24,6	130,2 ± 14,3	186,2 ± 18,1 p<0,001

Из таблицы видно, что значения шкалы APACHE II указывают на наличие тяжелого ОП при стерильных и инфицированных формах. При сравнении значений шкал Ranson и APACHE II в целом по группе с тяжелым ОП – коэффициент линейной корреляции Пирсона составил $r=0,58$; ($p=0,005$). При инфицированном ПН отмечается более высокие средние значения шкалы APACHE II (11,8±0,38) по сравнению со стерильной (9,6±0,43) формой ($p<0,001$). Установлено, что применение шкалы Ranson позволяет в течение первых двух суток госпитализации объективно оценить состояние больных, однако не позволяет установить распространенность поражения ПЖ и диагностировать наличие гнойных осложнений ($p>0,05$). Шкала APACHE II позволяет ежедневно точно ($p<0,001$) оценивать состояние больных в динамике лечения и прогнозировать развитие распространенных форм панкреатита и гнойных осложнений, что подтверждается другими исследователями [10, 12, 14, 15].

КТ – индекс тяжести Balthazar, позволяющий оценить тяжесть и объем поражения ПЖ и забрюшинной клетчатки, подтверждал у всех некроз ПЖ: больных со стерильными формами (5,5±0,32 балла)- некроз около 30 – 50% ПЖ, а инфицированными формами (7,6±0,23 балла), что указывало на наличие некроза более 50% ПЖ. При этом среднее значение ПКТ при стерильном ПН (1,25 ± 0,07 балла) соответствовало его концентрации от 0,05 до 2,0 нг/мл. В группе больных с инфицированными формами ОП значение ПК 2,9 ± 0,07 балла соответствовало концентрации ПКТ от 2,0 до 10,0 нг/мл.

Значимая прямая положительная корреляция ($r=1,0$; $p=0,001$) выявлена при сравнении значений ПКТ и шкалы APACHE II при стерильных и инфицированных формах ОП в течение первых суток госпитализации. У больных со стерильной формой тяжелого ОП средние значения ИЯС отражали только легкую степень сдвига лейко-

цитарной формулы (от 0,08 до 0,3), при инфицированной- среднюю степень сдвига (от 0,3 до 1,0). При статистической обработке не установлена корреляция между значениями концентрации ПКТ и ИЯС, а так же между значениями шкалы APACHE II и значениями ИЯС при стерильных и инфицированных формах тяжелого ОП.

Содержание TGF-β1 в сыворотке крови у пациентов с тяжелым ОП в первые 24-48 часов госпитализации с инфицированным ПН характеризовалось более высоким уровнем TGF-β1 на 30 % (186,2±18,1 нг/мл) по сравнению с пациентами со стерильной формой -130,2±14,3 нг/мл ($p<0,001$). К 7-10 суткам в случае инфицированной формы, как выживших (187,0±27,8 нг/мл), так и умерших пациентов (173,1±22,28 нг/мл), различий в величинах TGF-β1 не выявлено ($p>0,05$). Определение коэффициента линейной корреляции Пирсона выявило наличие прямой достоверной корреляции между всеми рассматриваемыми показателями: APACHE II и TGF-β1 ($r=0,40$; $p<0,05$); КТ индексом Baltazar и TGF-β1 ($r=0,46$; $p<0,05$); APACHE II и КТ- индексом Baltazar ($r=0,74$; $p<0,001$).

Установленные выше корреляционные связи между показателями, характеризующими тяжесть ОП и наличие инфицированности, являются основанием для разработки алгоритма дифференциальной диагностики между стерильной и инфицированной формами тяжелого ОП. Для этой цели использовали неоднородную последовательную процедуру Вальда – Генкина [6]. Она близка к врачебному мышлению в своей логической основе, допускает пропуски в обследовании больного как в группе обучения, так и при эксплуатации таблиц. Процедура обеспечивает минимизацию числа шагов процедуры распознавания и, следовательно, существенное уменьшение числа признаков, необходимых для диагноза с заданным уровнем надежности. Благодаря сходству с врачебным мышлением и расположению признаков в таб-

лице в порядке убывающей информативности, процедура повышает качество обычной врачебной диагностики. Для разработки алгоритма был использован комплекс показателей: TGF- β 1, APACHE II, ПКТ, критерий Бальтазар и ИЯС. Значения показателей разбивались на градации

и затем, согласно процедуре, вычислялись диагностические коэффициенты (ДК) и информативность (I). В табл. 2 представлен алгоритм дифференциальной диагностики между стерильной и инфицированной формами тяжелого ОП в первые сутки в госпитализации.

Таблица 2.

Алгоритм дифференциальной диагностики стерильной и инфицированной форм тяжелого ОП

Показатель	Градация показателя	ДК	I
Baltazar, баллы	≤ 2	-10	6,31
	3-4	-2	
	5-6	0	
	7-8	+8,1	
	≥ 9	+11,2	
ПКТ, нг/мл	≤ 3	-10	3,27
	0,31-0,50	-4,1	
	0,51-1,5	0	
	1,51-2,0	+2,0	
	$\geq 2,1$	+9,1	
TGF- β 1, нг/мл	≤ 150	-6,0	3,09
	150,1-160,0	0	
	≥ 161	+6,2	
APACHE II, баллы	$\leq 4,0$	-3,9	1,37
	7,0	-2,2	
	8,0	0	
	10,9	+2,6	
	≥ 10	+4,5	
ИЯС, у. ед.	≤ 10	-3,6	0,70
	0,11-0,20	-0,1	
	0,21-0,25	0	
	$\geq 0,26$	+4,0	

Примечание. Знак (+) свидетельствует в пользу инфицированного ОП, а знак (-) – в пользу стерильного ОП.

Из табл. 2 следует, что очень высокая ($I \geq 6,0$) диагностическая информативность установлена в отношении Baltazar ($I = 6,31$). Высокая диагностическая значимость ($6,0 > I \geq 1,0$) была характерна для ПКТ ($I = 3,27$), TGF- β 1 ($I = 3,08$) и показателя APACHE II ($I = 1,37$), а умеренная для ИЯС ($I = 0,70$). Согласно значениям ДК в пользу инфицированного ОП свидетельствуют значения: по шкале Baltazar ≥ 7 баллов; ПКТ $\geq 1,51$ нг/мл; TGF- β 1 ≥ 161 нг/мл; APACHE II ≥ 9 баллов и ИЯС $\geq 0,26$ у.ед. Для стерильного ОП характерны значения: по шкале Baltazar ≤ 2 балла; ПКТ $\leq 0,50$ нг/мл; TGF- β 1 $\leq 150,0$ нг/мл; APACHE II ≤ 7 баллов и ИЯС $\leq 0,20$ у.ед.

Работу с алгоритмом осуществляют путем алгебраического суммирования ДК до момента достижения диагностического порога, который для 95% уровня надежности составляет $\Sigma ДК \geq 13,0$. Если возле ДК знак (+) диагностируют инфицированный ОП, если (-) стерильный ОП. В случае если после суммирования ДК всех показателей алгоритма диагностический порог не достигнут - диагноз неопределенный.

В качестве примера работы с алгоритмом приводим пример клинического наблюдения за больным Т...52 лет. Обследование больного согласно алгоритма дало следующие результаты: Baltazar -7 баллов (+8), ПКТ-1,73 нг/мл (+2,0), TGF- β 1 $\geq 197,4$ нг/мл (+6,2), APACHE II ≥ 8 баллов (0), ИЯС $\geq 0,23$ у.ед (0). Алгебраическое

суммирование ДК (они приведены в скобках) первых трех показателей алгоритма позволил достичь диагностического порога - $\Sigma ДК = +16,3$. Знак (+) возле суммы ДК свидетельствует в пользу инфицированного ОП. Дальнейшее наблюдение за больным подтвердило данный диагноз. Апробация алгоритма на группе обучения установила, что правильные диагнозы составили 90,3%, неопределенные - 8,1%, а ошибочные - 1,6%. Результаты апробации подтверждают высокую ($\geq 95\%$) надежность разработанного алгоритма, так как ошибочные диагнозы не превысили 5% уровня.

Морфологические особенности степени воспаления и деструкции а ПЖ методом ИГХ изучены на 30 наблюдениях острого тяжелого деструктивного панкреатита, в 13 случаях был диагностирован стерильный ПН, в 17- его инфицированные формы. Особенности локализации и распространенности ОП при стерильных и инфицированных формах представлены в таблице 3. Как при стерильных- 8 из 13 наблюдений (61,5%), так и при инфицированных формах ОП -8 из 17 (47,1%), наиболее часто поражение находилось преимущественно в области тела и хвоста, что соответствует особенностям кровоснабжения ПЖ (в области тела сосуды развиты в меньшей степени, чем в головке, и еще слабее в области хвоста).

Таблиця 3.

Особенности локализации и распространенности ОП при стерильных и инфицированных формах

Исследуемый признак	По распространенности поражения	По локализации воспалительного процесса	По характеру некротического поражения
Форма ОП			
Стерильные формы (n=13)	46,2% - мелкоочаговый 38,5% - крупноочаговый 15,3% - тотальный	23,1% - хвост 61,5% - тело+хвост 15,3% - все отделы 0% - головка	53,8% - жировой 30,9% - геморрагический 15,3% - смешанный
Инфицированные формы (n=17)	23,5% - мелкоочаговый 35,3% - крупноочаговый 41,2% - тотальный	11,7% - хвост 47,1% - тело+хвост 41,2% - все отделы 0% - головка	17,6% - жировой 17,6% - геморрагический 64,7% - смешанный

Изолированные участки воспаления в области хвостовой части органа чаще наблюдались при стерильных формах ОП – 23,1% против 11,7%, тогда как воспаление всех отделов ПЖ встречалось при инфицированных формах в 2,5 раза чаще, чем в случаях с неинфицированным процессом (41,2% против 15,3%). Поражение отдельно головки ПЖ на нашем материале выявлено не было.

Если наблюдения стерильного ПН демонстрировали мелкоочаговый характер распространения воспалительного процесса почти в половине случаев (46,2% или 6 из 13), то при инфицированных формах доминировало тотальное поражение ПЖ (41,2%, 7 из 17 наблюдений). Крупноочаговое распространение ОП и при стерильных, и при инфицированных его формах было практически одинаковым (38,5%, 5 из 13 наблюдений и 35,3%, 6 из 17, соответственно).

Макроскопическая визуализация характера некротических изменений ПЖ уже в ходе оперативного вмешательства позволяет выбрать необходимую методику купирования воспалительного процесса. В исследуемом материале в группе стерильных форм ПН более половины случаев были представлены жировыми некрозами- 7 из 13 (53,8%), тогда как 2/3 поражений при инфицированных ОП носили смешанный характер – 11 из 17 наблюдений (64,7%). Геморрагический компонент ПН обнаруживался у трети пациентов со стерильными поражениями – 4 из 13 (30,9%), при этом в параллельной группе исследования изолировано он выявлялся почти в два раза реже - 3 из 17 случаев (17,6%). Смешанный ПН в группе стерильных форм наблюдался с той же частотой, что и изолированный жировой некроз в противоположной выборке (15,3% и 17,6%).

Основными морфологическими признаками стерильного жирового ПН являлись: коагуляционный некроз ацинарной и жировой ткани железы, раннее и массивное асептическое воспаление с расплавлением некротизированных тканей и отсутствие внутрисосудистых гемореологических расстройств. Стерильный геморрагический ПН отличался преимущественно колликвационным некрозом паренхимы ПЖ, значительными повреждениями сосудистых стенок, таких как некроз эндотелиоцитов, перичитов, гладкомышечных клеток, внутрисосудистыми реологиче-

скими расстройствами в виде гиперагрегантного состояния форменных элементов крови, тромбоза; именно присоединявшиеся сосудистые расстройства обеспечивали прогрессирование некроза и его геморрагический характер.

Распределение TGF-β1 при стерильных ПН в строме местами было комковатым, в виде крупных гранул, в других участках реакция была пылевидной. Стойкая умеренная позитивная реакция выявлялась и в единичных фибробластах стромы, и в клетках эндотелия сосудов (рис.1).

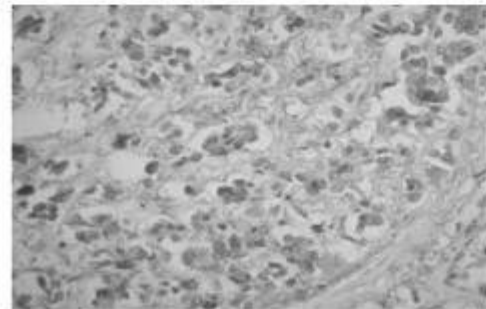


Рис. 1. Умеренная неравномерная экспрессия TGF-β1 в строме и ацинарных эпителиоцитах при стерильном ПН. Реакция с PKAT TGF-β1 (V) Antibody, x400.

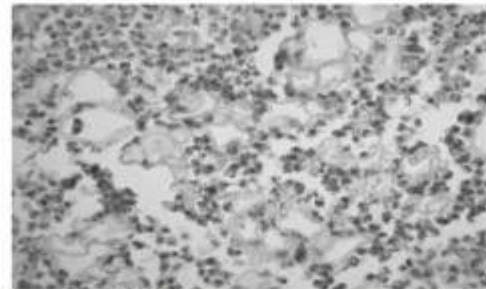


Рис. 2. Экспрессия TGF-β1 в активированных лимфоцитах, нейтрофилах и макрофагах при инфицированном ПН. Реакция с PKAT TGF-β1 (V) Antibody, x400.

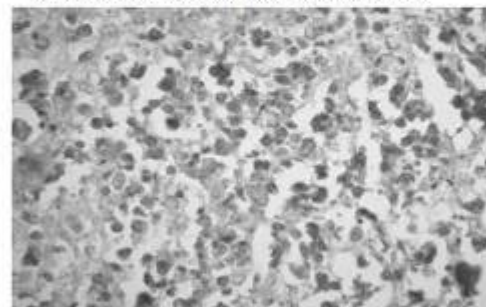


Рис. 3. Выраженная экспрессия TGF-β1 в ацинарных клетках ПЖ при инфицированном ПН. Реакция с PKAT TGF-β1 (V) Antibody, x400.

Среди патоморфологических форм панкреатогенной инфекции выделяют: 1) инфицированный панкреонекроз; 2) инфицированный панкреонекроз в сочетании с панкреатогенным абсцессом; 3) панкреатогенный абсцесс [7]. Для инфицированных форм деструктивного панкреатита характерным было образование массивного воспалительного инфильтрата в зоне ПЖ с вовлечением забрюшинной клетчатки и соседних органов, причем гнойное воспаление железы носило как диффузный характер, так и имело тенденцию к формированию полостей, заполненных тканевым детритом, секретом ПЖ, гноем, окруженных плотной фиброзной капсулой. Микроскопически обнаруживались секвестры ПЖ среди некротизированных тканей, имбибированные большим количеством нейтрофильных лейкоцитов.

ИГХ-реакция с антителами к TGF- β 1 была выраженной, интенсивной (+++), диффузной. Если при стерильных ПН мы расценивали ее, как умеренную и наблюдали в волокнах стромы ПЖ и цитоплазме ацинарных клеток, то в данной группе экспрессия TGF- β 1 отмечалась в сохранившихся фрагментах паренхимы железы, в строме органа, эндотелии сосудов, а также в клетках воспалительного инфильтрата – нейтрофилах, макрофагах. Фокусы позитивного окрашивания выявлялись даже в некротизированных тканях (рис. 2 и рис.3).

Экспрессия TGF- β 1 нарастала по мере прогрессирования тяжести деструктивного панкреатита от стерильных форм к инфицированным. В неизменной ткани ПЖ она выявлялась лишь в строме. При стерильном ПН была умеренной не только в интерстиции, а и в цитоплазме ацинарных клеток, в единичных лимфоцитах зон ПЖ, граничащих с некрозом. В образцах ткани ПЖ с инфекционными осложнениями экспрессия данного маркера была максимальной, выявлялась практически во всех ацинарных клетках, клетках эндотелия, макрофагах и полях некроза.

Количественное увеличение TGF- β 1 в ткани железы при смене форм-фаз деструктивного ОП способствовало накоплению коллагенов I и III типов на периферии зон некрозов и усилению реакции с коллагеном IV типа не только в базальных мембранах сосудов и выводных протоков, но и в волокнах сохранившейся стромы органа. Синхронно с TGF- β 1 появлялась и нарастала экспрессия VEGF. Необходимо отметить, что нарастание экспрессии TGF- β 1 в ткани ПЖ свидетельствовало о снижении активности иммунной системы пациентов, что подтверждалось отсутствием иммунореактивных Т-лимфоцитов в воспалительном инфильтрате и предрасполагало к развитию гнойно-деструктивных форм ПН.

Выводы

1. Подтверждена прямая достоверная корреляция величин TGF- β 1 и ПКТ, показателей шкалы APACHE II, КТ – индекса Balthazar при стерильных и инфицированных формах панкреонекрозов: APACHE II и TGF- β 1 ($r = 0,40$; $p < 0,05$); КТ индексом Balthazar и TGF- β 1 ($r = 0,46$; $p < 0,05$); APACHE II и КТ индексом Balthazar ($r = 0,74$; $p < 0,001$). Средние значения шкалы APACHE II, концентрации TGF- β 1 и КТ – индекса Balthazar в группе больных с инфицированным панкреонекрозом достоверно выше, чем в группе с его стерильными формами в первые 48 часов госпитализации в среднем на 2,2 балла; 56,0 нг/мл и 2,3 балла, соответственно.

2. Значения шкалы APACHE II, концентрации ПКТ и КТ – индекса Balthazar имеют между собой значимую прямую положительную корреляцию при стерильном и инфицированном панкреонекрозе в первые сутки госпитализации. При стерильной форме ОП тяжелой степени с некрозом ПЖ 30 – 50% концентрация ПКТ определялась от 0,05 до 2,0 нг/мл, ИЯС в пределах легкой степени сдвига лейкоцитарной формулы ($\geq 0,08$ и $< 0,3$). У пациентов с инфицированной формой ОП тяжелой степени и наличием некроза более 50% ПЖ среднее значение ПКТ соответствовало $> 2,0$ – 10,0 нг/мл, ИЯС – в пределах средней степени сдвига лейкоцитарной формулы ($\geq 0,3$ и $< 1,0$).

3. Разработан алгоритм дифференциальной диагностики между стерильной и инфицированной формами тяжелого ОП в первые 24-48 часов госпитализации с использованием диагностического коэффициента (ДК) и информативной (I) значимости показателей: TGF- β 1, APACHE II, ПКТ, критерий Бальтазар и ИЯС. Высокая ($I \geq 6,0$) диагностическая информативность установлена в отношении КТ-индекса Balthazar ($I = 6,31$), для ПКТ ($I = 3,27$), TGF- β 1 ($I = 3,08$) и показателя APACHE II ($I = 1,37$), умеренная для ИЯС ($I = 0,70$). Согласно значениям ДК в пользу инфицированного ОП свидетельствуют значения: по шкале Balthazar ≥ 7 баллов; ПКТ $\geq 1,51$ нг/мл; TGF- β 1 ≥ 161 нг/мл; APACHE II ≥ 9 баллов и ИЯС $\geq 0,26$ у.ед. Для стерильного ОП характерны значения: по шкале Balthazar ≤ 2 балла; ПКТ $\leq 0,50$ нг/мл; TGF- β 1 $\leq 150,0$ нг/мл; APACHE II ≤ 7 баллов и ИЯС $\leq 0,20$ у.ед.. Аprobация алгоритма установила, что правильные диагнозы составили 90,3%, неопределенные – 8,1%, а ошибочные – 1,6%. Результаты аprobации подтверждают высокую ($\geq 95\%$) надежность разработанного алгоритма, так как ошибочные диагнозы не превысили 5% уровня.

4. Полученные результаты по сопоставлению клинико-диагностического значения TGF- β 1 и ПКТ в определении характера и объема панкре-

онекроза и морфологических особенностей в ПЖ при стерильных и инфицированных формах тяжелого ОП методом иммуногистохимии у оперированных и умерших пациентов подтвердили диагностическую роль показателей в степени воспаления, деструкции, характера фиброза и пролиферации фибробластов. При патоморфологическом исследовании ПЖ методом иммуногистохимии экспрессия TGF- β 1 нарастала по мере прогрессирования тяжести деструктивного панкреатита от стерильного (жирового и геморрагического) ПН к инфицированным формам. В образцах ткани ПЖ с инфекционными осложнениями экспрессия данного маркера была максимальной, выявлялась практически во всех ацинарных клетках, клетках эндотелия, макрофагах и полях некроза. Количественное увеличение TGF- β 1 в ткани ПЖ при смене форм/фаз деструктивного ОП способствовало накоплению коллагенов I и III типов на периферии зон некрозов и усилению реакции с коллагеном IV типа не только в базальных мембранах сосудов и выводных протоков, но и в волокнах сохранившейся стромы органа. Нарастание экспрессии TGF- β 1 в ткани ПЖ свидетельствовало о снижении активности иммунной системы пациентов, что подтверждалось отсутствием иммунореактивных Т-лимфоцитов в воспалительном инфильтрате и предрасполагало к развитию гнойно-деструктивных форм ПН.

Доказано, что оценка состояния больных по шкале APACHE II ≥ 9 баллам, повышение КТ – индекса Balthazar ≥ 7 баллам (более 50% некроза ПЖ), уровень TGF- β 1 $\geq 161,0$ нг/мл, ПКТ в сыворотке крови $\geq 1,51$ нг/мл и ИЯС $\geq 0,26$ у.ед. свидетельствуют о наличии инфицированного панкреонекроза.

Результаты настоящей работы и современные данные по клинко-эпидемиологическому анализу ОП свидетельствуют о перспективности дальнейшего развития экспериментальных и клинических работ по усовершенствованию ранней диагностики и хирургической тактики [4, 10, 12, 14, 115].

Литература

1. Велигоцкий Н.Н. Дифференцированный подход к выбору оперативных вмешательств при тяжелых формах острого панкреатита / Н.Н. Велигоцкий, С.Э. Арутюнов, А.В. Козаченко [и др.] // Харківська хірургічна школа. – 2013. – № 2 (59). – С. 56-58.
2. Клименко М.В. К вопросу ранней диагностики острого панкреатита // Проблеми безперервної медичної освіти та науки. – 2013. – № 1 (9). – С. 90-95.
3. Ничитайло М.Е. Эволюция хирургической тактики лечения больных по поводу панкреонекроза / М.Е. Ничитайло, Э.Э. Аблаев // Клінічна хірургія. – 2012. – № 3. – С. 43-46.
4. Оригинальные инструменты и методики чрескожного лечения больных панкреонекрозом и распространенным паранекрозом / В.Г. Ившин, М.В. Ившин, И.В. Малафеев [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. – 2014. – том 19, № 1. – С. 30-39.
5. Фирсова В.Г. Острый панкреатит: морфологические аспекты течения заболевания / В.Г. Фирсова, В.В. Паршиков, С.С. Кузнецов [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. – 2014. – Т. 19, № 1. – С. 87-95.
6. Петри А. Наглядная медицинская статистика / Перевод с англ. В.П. Леонов 2-е издание. – М.: «Геотар-Медиа», 2009. – 168 с.

7. Савельев В.С. Панкреонекрозы / В.С. Савельев, М.И. Филимонов, С.Э. Бурневич. – М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2008. – 264 с.
8. Удосконалені алгоритми діагностики та лікування гострого панкреатиту (методичні рекомендації) / П.Д. Фомин, Я.С. Березницький, В.П. Андрущенко [и др.]. – Київ, 2012. – 80 с.
9. Procalcitonin levels predict acute kidney injury and prognosis in acute pancreatitis: a prospective study / H.L. Huang, X. Nie, B. Cai [et al.] // PLoS One. – 2013 Dec. – Vol. 8 (12). – P. 123-126.
10. Procalcitonin and BISAP score versus C-reactive protein and APACHE II score in early assessment of severity and outcome of acute pancreatitis / M. Bezmarević, Z. Kostić, M. Jovanović [et al.] // Vojnosanit Pregl. – 2012 May. – Vol. 69 (5). – P. 425-31.
11. Procalcitonin is a good tool to guide duration of antibiotic therapy in patients with severe acute pancreatitis. A randomized prospective single-center controlled trial / R. Qu, Y. Ji, Y. Ling [et al.] // Saudi Med J. – 2012 Apr. – Vol. 33 (4). – P. 382-7.
12. Mangiante G. Severe necrotic and septic pancreatitis. Indications to endoscopic, surgical, and nutritional therapy / G. Mangiante, L. Rodella, A. Cerofolini [et al.] // G Chir. – 2013 Sep Oct. – Vol. 34 (9-10). – P. 284-287.
13. Su S.B. Expression of transforming growth factor-beta in spontaneous chronic pancreatitis in the WBN / S.B. Su, Y. Motoo, M.J. Xie Kob // rat. Dig Dis Sci. – 2000. – V. 4. – P. 151-159.
14. Talukdar R. Early management of severe acute pancreatitis / R. Talukdar, S.S. Vege // Curr Gastroenterol Rep. – 2011. – Vol. 13. – P. 123.
15. The role of routine fine-needle aspiration in the diagnosis of infected necrotizing pancreatitis / M.C. van Baal, T.L. Bollen, O.J. Bakker [et al.] // Surgery. – 2014 Mar. – Vol. 155 (3). – P. 442-448.
16. Yoo B.M. Amelioration of pancreatic fibrosis in mice with defective TGF-beta signaling / B.M. Yoo, M. Yeo, T.Y. Oh [et al.] // Pancreas. – 2005. – V. 30. – P. 27-29.

References

1. Veligockij N.N. Differencirovannyj podhod k vyboru operativnyh vmeshatel'stv pri tyazhelyh formah ostrogo pankreatita / N.N. Veligockij, S.E. Arutyunov, A.V. Kozachenko [i dr.] // Harkiv's'ka hirurhichna shkola. – 2013. – № 2 (59). – S. 56-58.
2. Klimenko M.V. K voprosu rannej diagnostiki ostrogo pankreatita // Problemi bezpererвної medichnoi osviti ta nauki. – 2013. – № 1 (9). – S. 90-95.
3. Nychitajlo M.E. 'Evoljucija hirurhicheskoi taktiki lecheniya bof'nyh po povodu pankreonekroza / M.E. Nychitajlo, 'E. 'E. Ablav // Klinichna hirurhija. – 2012. – № 3. – S. 43-46.
4. Original'nye instrumenty i metodiki chreskozhnogo lecheniya bof'nyh pankreonekrozom i rasprostranennym parapancreatitom / V.G. Ivshin, M.V. Ivshin, I.V. Malafeev [i dr.] // Annaly hirurhicheskoi gepatologii. – 2014. – tom 19, № 1. – S. 30-39.
5. Firsova V.G. Ostrij pankreatit: morfologicheskie aspekty techeniya zabolevaniya / V.G. Firsova, V.V. Parshikov, S.S. Kuznecov [i dr.] // Annaly hirurhicheskoi gepatologii. – 2014. – T. 19, № 1. – S. 87-95.
6. Petri A. Naglyadnaya medicinskaya statistika / Perevod s angl. V.P. Leonov 2-e izdanie. – M.: «Geotar-Media», 2009. – 168 s.
7. Savel'ev V.S. Pankreonekrozy / V.S. Savel'ev, M.I. Filimonov, S.Z. Burnevich. – M.: ООО «Medicinskoe informacionnoe agentstvo», 2008. – 264 s.
8. Udoskonoleni algoritmi diagnostiki ta likuvannya gostrogo pankreatitu (metodichni rekomendacii) / P.D. Fomin, Ya.S. Bereznickij, V.P. Andryuschenko [i dr.]. – Kiv, 2012. – 80 s.
9. Procalcitonin levels predict acute kidney injury and prognosis in acute pancreatitis: a prospective study / H.L. Huang, X. Nie, B. Cai [et al.] // PLoS One. – 2013 Dec. – Vol. 8 (12). – P. 123-126.
10. Procalcitonin and BISAP score versus C-reactive protein and APACHE II score in early assessment of severity and outcome of acute pancreatitis / M. Bezmarević, Z. Kostić, M. Jovanović [et al.] // Vojnosanit Pregl. – 2012 May. – Vol. 69 (5). – P. 425-31.
11. Procalcitonin is a good tool to guide duration of antibiotic therapy in patients with severe acute pancreatitis. A randomized prospective single-center controlled trial / R. Qu, Y. Ji, Y. Ling [et al.] // Saudi Med J. – 2012 Apr. – Vol. 33 (4). – P. 382-7.
12. Mangiante G. Severe necrotic and septic pancreatitis. Indications to endoscopic, surgical, and nutritional therapy / G. Mangiante, L. Rodella, A. Cerofolini [et al.] // G Chir. – 2013 Sep Oct. – Vol. 34 (9-10). – P. 284-287.
13. Su S.B. Expression of transforming growth factor-beta in spontaneous chronic pancreatitis in the WBN / S.B. Su, Y. Motoo, M.J. Xie Kob // rat. Dig Dis Sci. – 2000. – V. 4. – P. 151-159.
14. Talukdar R. Early management of severe acute pancreatitis / R. Talukdar, S.S. Vege // Curr Gastroenterol Rep. – 2011. – Vol. 13. – P. 123.
15. The role of routine fine-needle aspiration in the diagnosis of infected necrotizing pancreatitis / M.C. van Baal, T.L. Bollen, O.J. Bakker [et al.] // Surgery. – 2014 Mar. – Vol. 155 (3). – P. 442-448.
16. Yoo B.M. Amelioration of pancreatic fibrosis in mice with defective TGF-beta signaling / B.M. Yoo, M. Yeo, T.Y. Oh [et al.] // Pancreas. – 2005. – V. 30. – P. 27-29.

Реферат

ДО ПИТАННЯ КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНОЇ ДІАГНОСТИКИ СТЕРИЛЬНОГО ТА ІНФІКОВАНОГО ПАНКРЕОНЕКРОЗУ.

Велигоцький Н.Н., Клименко М.В., Яковцова І.І.

Ключові слова: панкреонекроз, стерильний, інфікований, діагностика

Проаналізовані дані по вивченню особливостей змісту трансформуючого фактора росту $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) в сироватці крові у хворих з інфікованою і стерильною формами тяжкого гострого панкреатиту в перші 10 діб госпіталізації. Виявлена та статистично підтверджена взаємозалежність показників шкали APACHE II, КТ – індексу Balthazar і концентрації TGF- $\beta 1$ при стерильних та інфікованих формах панкреонекрозу. Уявлення про рівень і динаміку протизапальної цитокинової ланки в поєднанні з даними шкал APACHE II і КТ – індексу Balthazar дозволяє на ранніх термінах госпіталізації визначити характер і обсяг панкреонекрозу. Імуногістохімічним методом в аутопсійному матеріалі підшлункової залози відзначено наростання експресії TGF- $\beta 1$ в тканині в міру прогресування тяжкості деструктивного панкреатиту від стерильних форм до інфікованих.

Summary

CLINICAL AND MORPHOLOGICAL DIAGNOSIS OF STERILE AND INFECTED PANCREATIC NECROSIS

Velyhotsky N.N., Klymenko M.V., Yakovtsova I.I.

Key words: pancreatic necrosis, sterile, infected, diagnosis

This paper presents the analysis of data on studying characteristics of the content of transforming growth factor $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) in blood serum of patients with infected and sterile forms of severe acute pancreatitis in the first 10 days of hospitalization. We revealed and statistically confirmed the interdependence of figures by APACHE II scale, Balthazar index (CT) and TGF- $\beta 1$ concentration in sterile and infected pancreatic necrosis forms. The idea of the level and dynamics of anti-inflammatory cytokine level in conjunction with data of APACHE II scales and CT - Balthazar index enables to define the character and extent of pancreatic necrosis in the early stages after the admission to the hospital. Immunohistochemical method in autopsy of pancreas indicates marked increase in the expression of TGF- $\beta 1$ in the tissue as the severity of destructive pancreatitis ranging from sterile to infected forms progresses.

УДК 577.12+616.16-092.9-056.5

Гордієнко Л.П., Непорада К.С.

МЕТАБОЛІЧНІ ЗМІНИ У ТКАНИНАХ СЛИННИХ ЗАЛОЗ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВИСОКОКАЛОРИЙНОЇ ДІЄТИ

ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

В наш час ожиріння є найбільшим глобальним хронічним захворюванням. За даними літератури, ожиріння та асоційовані з ним патологічні стани призводять до зниження функціонування слинних залоз і як наслідок зменшення салівації, підвищення в'язкості слини, розвитку ксеростомії. Порушення функціонування слинних залоз є причиною розвитку патологічних процесів в органах порожнини рота, а також призводить до порушення процесів травлення в інших відділах травного тракту. Метою дослідження було вивчення активності α -амілази, орнітиндекарбоксилази, протеїназно-інгібіторного потенціалу, змін активності NO-ергічної системи у тканинах слинних залоз щурів за умов висококалорійної дієти (ВКД). Дослідження проводили на білих щурах, які протягом 20 тижнів перебували на ВКД. Через 3, 10, 12, 15, 20 тижнів від групи дослідних тварин рандомізовано відбирали щурів для отримання біологічного матеріалу, який використовували у подальших дослідженнях. Перебування на ВКД у щурів призводить до розвитку абдомінального ожиріння. За умов довготривалого перебування на ВКД у слинних залозах щурів отримано достовірне зниження активності орнітиндекарбоксилази, α -амілази, достовірне підвищення загальної протеолітичної активності, вірогідне зниження загальної антитриптичної активності, достовірне підвищення активності NO-синтази та вмісту нітритів. Таким чином, тривале перебування на ВКД викликає патологічні зміни у тканинах слинних залоз, а саме: зниження білоксинтезуючої функції, дисбаланс протеїназно-інгібіторного потенціалу за декомпенсаторним типом, активацію NO-ергічної системи.

Ключові слова: слинні залози, висококалорійна дієта, протеїназно-інгібіторний потенціал, орнітиндекарбоксилаза, α -амілаза, оксид азоту.

Робота є фрагментом НДР «Механізми розвитку патологічних змін в органах порожнини рота за різних умов та їх корекція» реєстраційний номер 0113U005913.

Вступ

Високі темпи техніко-економічного розвитку забезпечили покращення якості життя людей в багатьох країнах світу. Але прогрес цивілізації поєднується із зміною способу життя: малорухо-

мість, збільшення в раціоні харчування кількості рафінованих вуглеводів і жирів тваринного походження, стреси. Все це призвело до зростання у населення надлишку ваги і ожиріння. В даний час ожиріння є найбільшим глобальним хроніч-