

УДК 616.33-002.44-091-005.1-0+615.24



Э. Ф. Барінов, П. Г. Кондратенко, О. Н. Сулаева, С. О. Жариков
Донецкий национальный медицинский университет имени Максима Горького

МОРФОГЕНЕЗ КРАЕВОЙ ЗОНЫ ЯЗВ ЖЕЛУДКА НА ФОНЕ АНТИСЕКРЕТОРНОЙ ТЕРАПИИ ПОСЛЕ ОСТРОГО КРОВОТЕЧЕНИЯ

Цель работы — изучить морфологически биоптаты краевой зоны язв желудка после острого кровотечения в динамике терапии.

Материалы и методы. Проанализирована динамика морфогенеза краевой зоны язв желудка у 40 пациентов с острыми кровотечениями на фоне терапии ингибиторами протонной помпы (ИПП). При оценке биоптатов учитывали выраженность альтерации слизистой оболочки желудка, инфильтрации лейкоцитами, ангиогенеза (CD131), реакцию миофибробластов (α -SMA), пролиферацию клеток (Ki-67).

Результаты и обсуждение. Показано, что назначение ИПП в комплексе лечения пациентов с острыми язвенными кровотечениями не только влияет на секреторную активность желез, но и оказывает противовоспалительный эффект, ограничивает выраженность вторичной альтерации краевой зоны язв. Отмечена стимуляция ангиогенеза и пролиферации клеток покровного эпителия, однако при этом выявлено снижение степени дифференцирования покровного эпителия и сохранение лимфоцитарной инфильтрации.

Выводы. Назначение ИПП модулирует течение воспалительно-репаративного процесса и статус слизисто-бикарбонатного барьера.

■

Ключевые слова: язвенные кровотечения, ингибиторы протонной помпы, воспаление, репарация.

Среди известных факторов риска развития острых гастродуоденальных кровотечений ключевую роль отводят гиперпродукции соляной кислоты [4, 7]. Последняя не только относится к пептическим факторам, но и оказывает повреждающее действие на слизистую оболочку (СО), которая в условиях хронического воспаления функционирует в условиях скомпрометированного слизисто-бикарбонатного барьера [2]. Важным аспектом является связь между рН и эффективностью работы системы гемостаза. Соляная кислота, как и пепсин, могут влиять на работу внутреннего и внешнего путей системы коагуляции плазмы крови, полимеризацию фибрина и агрегацию тромбоцитов [13]. Последнее считают одним из патогенетических механизмов развития острых кровотечений из язв гастродуоденальной зоны (ГДЗ), что обосновывает включение в схему терапии язвенных кровотечений препаратов, снижаю-

щих кислотопродукцию в желудке [6, 13]. Проведенные исследования подтвердили наличие зависимости между заживлением СО ГДЗ и снижением кислотопродукции под влиянием фармакологических препаратов [1, 7].

Разработку и внедрение в терапевтическую практику ингибиторов протонной помпы (ИПП) считают революционным шагом в терапии кислотозависимых заболеваний ГДЗ [5]. Сравнение эффектов антагонистов рецепторов к гистамину и ИПП у пациентов с острыми гастродуоденальными кровотечениями выявило явное преимущество последних: частота повторных кровотечений в течение 72 ч после начала терапии была существенно ниже у пациентов, получающих ИПП, по сравнению с группой больных, получающих антагонисты H_2 -гистаминовых рецепторов [8]. Однако в более поздний период (до 30 сут) выбор антисекреторного препарата не влиял на частоту повтор-

Барінов Едуард Федорович, д. мед. н., проф., зав. кафедри
83003, м. Донецьк, просп. Ілліча, 16. Тел. (622) 95-54-01. E-mail: barinoff@dsmu.edu.ua

© Е. Ф. Барінов, П. Г. Кондратенко, О. М. Сулаева, С. О. Жариков, 2014

ных кровотечений [12]. Более того, использование ИПП не снижало частоту оперативных вмешательств и летальность у пациентов с высоким риском повторного кровотечения по сравнению с больными, принимающими антагонисты H_2 -рецепторов к гистамину [13]. Несмотря на оптимизацию антисекреторной терапии, в клинической практике сохраняется высокая частота (25—30 %) повторных кровотечений [4]. Последнее, вероятно, связано с нарушением процесса заживления язвенных дефектов, что может быть обусловлено не только исключением регуляторных механизмов [1, 2], но и нарушением межклеточных коопераций во время репаративного процесса на фоне антисекреторной терапии.

Цель работы — изучить морфологически биоптаты краевой зоны язв желудка после острого кровотечения в динамике терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведен анализ результатов морфологического исследования биоптатов краевой зоны 40 пациентов с кровотечениями из язв желудка. Все пациенты получали в качестве антисекреторной терапии ИПП [3]. При отборе пациентов в исследование руководствовались следующими критериями: наличие клинико-инструментальных признаков острого язвенного кровотечения; подтверждение при эндоскопическом исследовании наличия язв желудка или двенадцатиперстной кишки; возраст от 35 до 70 лет; согласие больного на проведение исследования. Критерии исключения: прием нестероидных противовоспалительных препаратов; наличие в анамнезе острого инфаркта миокарда или инсульта за последние полгода; прием препаратов с антиагрегантным действием; возраст менее 35 или старше 70 лет; наличие онкологической патологии, портальной гипертензии, цирроза печени, сахарного диабета, острых воспалительных заболеваний других органов, острой травмы, хронической почечной недостаточности, коагулопатий.

При анализе полученных данных учитывали влияние таких факторов, как пол, возраст, наличие сопутствующей патологии сердечно-сосудистой и пищеварительной систем, тяжесть кровотечения, продолжительность периода между началом кровотечения и госпитализацией, локализация и размер язв, статус гемостаза по данным эндоскопического обследования на момент госпитализации и в динамике наблюдения.

Динамику воспалительно-репаративного процесса оценивали по данным морфологического анализа биоптатов краевой зоны язв, являющейся основным источником репарации и эпителизации язвенного дефекта, и интактного участка СО желудка на момент госпитализации и через 3 суток после начала терапии. Биопсийный материал после дегидратации заливали в высокоочищенный парафин с полимерными добавками (Richard-

Allan Scientific, США) при температуре 56 °С. Общеморфологическое исследование срезов толщиной 5—6 мкм проводили при окраске гематоксилином и эозином, толуидиновым синим. Оценивали инфильтрацию тканей краевой зоны язв, активность ангиогенеза и формирования грануляционной ткани, эпителизацию, статус гастроинтестинального барьера.

Для анализа межклеточных отношений оценивали удельный объем (УО) структурных элементов и поврежденных структур СО. Для определения характера межклеточных коопераций проводили визуализацию миофибробластов и эндотелиоцитов с использованием моноклональных антител к α -актину (Clone α sm-1; DAKO) и CD131 (Clone 1A10; DAKO) соответственно. Оценку пролиферации осуществляли на основе анализа удельной плотности клеток, иммунопозитивных к Ki-67 (Clone DO-7). Визуализацию первичных антител проводили с помощью полимерной системы детекции DAKO EnVision+. В качестве субстрата для пероксидазы хрена использовали DAB+ (DAKO). Препараты докрашивали гематоксилином Майера.

Полученные данные обрабатывали с помощью пакета MedStat.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ морфологических изменений в перифокальной и интактной зонах желудка показал, что развитие язвенного кровотечения происходило на фоне деструктивных изменений и воспалительного процесса. Наиболее типичными патоморфологическими изменениями в биоптатах желудка у больных с язвой желудка были варианты хронического атрофического гастрита или антрум-гастрита. Ульцерогенез в теле желудка, осложненный кровотечением, как правило, был ассоциирован с деструкцией собственных желез, дистрофией и ограничением количества париетальных клеток на фоне диффузной инфильтрации собственной пластинки СО лейкоцитами. Данные изменения не зависели от пола и возраста пациентов, наличия сопутствующей патологии и тяжести кровопотери. Удельный объем сосудов в области краев язвы составлял $(12,0 \pm 0,4) \%$ (95 % доверительный интервал (ДИ) — 11,2—12,6 %). Нарушение микроциркуляции характеризовалось спазмом артериол при дилатации веноулярного звена. Последнее обуславливало выраженность отека СО, отражающего степень ишемии, нарушения проницаемости стенки сосудов и трансудации. УО интерстициальной жидкости варьировал от 13,2 до 34,7 % (Ме — $(21,0 \pm 1,4) \%$, 95 % ДИ 17,7—23,2 %). Максимальным этот показатель был у пациентов, госпитализированных через 6—12 ч после появления первых симптомов острого кровотечения, минимальным — у пациентов, госпитализированных через 24—72 ч после

манифестации кровотечения ($p < 0,01$). В краевой зоне язв были выражены явления лейкоцитарной инфильтрации с преобладанием нейтрофилов, что, по сути, отражает развитие острой воспалительной реакции в ответ на ишемию и повреждение тканей. При этом выраженность инфильтрации СО широко варьировала и зависела от срока госпитализации больного ($r = 0,563$; $p < 0,01$). Таким образом, развитие и прогрессирование язвенного процесса определяется комплексом факторов, включающих ремоделирование СО, развитие воспалительного процесса, изменение секреторной активности желез, нарушение структуры гистоматических барьеров желудка.

Анализ структурных изменений СО желудка через 3 сут лечения больных с язвенными кровотечениями с использованием антисекреторных препаратов продемонстрировал изменения не только желез, но и развития воспалительно-репаративного процесса. Отмечено снижение микроциркуляторных нарушений, что проявлялось существенным уменьшением выраженности отека ($p < 0,01$). При этом в собственных железах желудка определялись отек и вакуолизация париетальных клеток, тогда как в пилорических железах отмечены признаки повышения секреторной активности. Эти данные могут свидетельствовать об ограничении кислотопродукции при параллельной стимуляции секреции слизи, обеспечивающей защиту СО от действия пептических факторов [14]. Отчасти сохранение отека СО краевой зоны язв было связано с сохранением вазодилатации на фоне дегрануляции тучных клеток.

Ограничение ишемии сопровождалось снижением воспалительной инфильтрации СО, особенно у пациентов, госпитализированных через 24–72 ч после первых симптомов кровотечения. У них УО инфильтратов и удельная плотность лейкоцитов в собственной пластинке СО значительно уменьшились по сравнению с показателями на момент госпитализации ($p < 0,01$). Данный эффект может быть непосредственно связан с влиянием ИПП на лейкоциты [11]. Противовоспалительный эффект лечения ИПП, возможно, обусловлен влиянием препарата на лизосомы. Впервые данный эффект был описан для клеток печени. Позднее появились данные о влиянии ИПП на лизосомальный аппарат лейкоцитов. При этом эффект ИПП сводится к блоку активности вакуолярной H^+ -АТФазы в мембране лизосом, что ограничивает лизосомальный уровень рН и ведет к угнетению активности миелопероксидазы [2]. Последняя вместе с НАДФН-оксидазой считаются ключевыми ферментами респираторного «взрыва», а значит, и вторичной альтерации при реализации воспалительной реакции. Действительно, УО поврежденных структур в краевой зоне язв на фоне лечения ИПП значительно снижался по сравнению с показателем на момент госпитализации. Это

позволяет обсуждать противовоспалительный и антиоксидантный эффекты ИПП в краевой зоне язв при острых кровотечениях. Данная точка зрения была подтверждена в исследованиях [9], показавших снижение экспрессии на нейтрофилах CD11b и CD18 и ограничение адгезии нейтрофилов к эндотелию при назначении стандартных доз ИПП. Более того, данные препараты ограничивали экспрессию ICAM-1 и VCAM-1 на поверхности эндотелиоцитов при стимуляции их интерлейкином-1 (ИЛ-1). Аналогичные результаты, подтверждающие противовоспалительные эффекты ИПП, были получены в работе [11], продемонстрировавшей ингибирующий эффект ИПП на активацию NF- κ B, индуцированную ИЛ-8 трансэндотелиальную миграцию нейтрофилов, повышение в последних цитозольного уровня Ca^{2+} .

Ограничение воспалительной реакции у большинства пациентов через 3 сут лечения сопровождалось активацией репаративных процессов, которая проявлялась увеличением количества миофибробластов, стимуляцией ангиогенеза и пролиферацией клеток покровного эпителия. Экспрессия маркера пролиферации Ki-67 была максимальной в покровном эпителии ГДЗ, причем делющиеся клетки выявлены не только в зоне ямочек желудка и дна дуоденальных крипт, но и по всей поверхности СО. В клетках сохранялось высокое ядерно-цитоплазматическое отношение и были слабо выражены признаки дифференцирования, что может отражаться на параметрах слизистобикарбонатного барьера. В клетках покровного эпителия желудка отмечено накопление слизи в апикальной части цитоплазмы, что может свидетельствовать об усилении продукции слизи. В некоторых эпителиоцитах обнаружены явления вакуолизации и апоптоза, отражающие ускорение кинетики клеток покровного эпителия. Стимуляция эпителизации язвенного дефекта краевой зоны язв желудка и двенадцатиперстной кишки сопровождалась активными явлениями ангиогенеза, о чем свидетельствовало увеличение количества капилляров в собственной пластинке СО. Количество CD131-позитивных клеток существенно превышало количество миофибробластов. Обращало на себя внимание также изменение формы новообразованных сосудов, формирующих петлевидные структуры с булавовидными расширениями, и архитектоники миофибробластов, диссоциированных от покровного эпителия.

С нашей точки зрения, наиболее важным является стимулирующий эффект ИПП на пролиферацию и ангиогенез в зоне репарации. Данный эффект, вероятно, опосредован увеличением содержания гастрина на фоне повышения рН при приеме ИПП [10]. Это связывают с тем, что ИПП, подавляя продукцию соляной кислоты, включают активацию афферентов и ваго-вагального рефлекса, следствием чего является освобождение аце-

тилхолина и стимуляция продукции гистамина и гастрин в ECL- и G-клетках соответственно [2]. При приеме омепразола в стандартной дозировке уровень сывороточного гастрин возрастает в 2—3 раза [14]. С одной стороны, гипергастринемия на фоне блокады секреторной активности париетальных клеток оказывает стимулирующее влияние на пролиферацию клеток и ускоряет эпителизацию язвенных дефектов. С другой — именно данный механизм определяет высокую вероятность развития отсроченных негативных эффектов приема ИПП. Связывание гастрин или холецистокинина с рецепторами сопровождается активацией сигнального каскада с передачей митогенного сигнала в ядро, что ведет к усилению пролиферации клеток при участии нерецепторных тирозинкиназ p125fak, Src, p130cas и паксиллина [2]. Такое усиление пролиферации клеток покровного эпителия можно было бы оценить как компенсаторный механизм, развивающийся на фоне альтерации и воспалительного процесса, однако ограничение негативного контроля пролиферации (за счет угнетения продукции соматостатина) может приводить к нарушению механизмов дифференциро-

вания клеток покровного эпителия. Нарушение клеточного обновления клеток покровного эпителия с образованием незрелых в функциональном и морфологическом отношении эпителиоцитов является причиной снижения эффективности слизисто-бикарбонатного барьера. Следствием этого может быть не только снижение защиты от действия эндогенных и экзогенных факторов, а значит, повышение риска повторного повреждения, но и высокая вероятность неоплазии [10, 14].

ВЫВОДЫ

Таким образом, назначение антисекреторных препаратов в комплексе лечения пациентов с острыми язвенными кровотечениями не только влияет на секреторную активность желез желудка, но и модулирует течение воспалительно-репаративного процесса и состояние гастроинтестинального барьера. Назначение ингибиторов протонной помпы сопровождается ограничением воспаления и усилением репарации за счет мощной стимуляции ангиогенеза и пролиферации клеток покровного эпителия.

Литература

1. Барінов Э. Ф., Сулаева О. Н. Роль серотонина в физиологии и патологии желудочно-кишечного тракта // Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 2012. — № 2. — С. 4—13.
2. Барінов Е. Ф., Кондратенко П. Г., Сулаева О. М., Раденко Є. Є. Роль ацетилхоліну у патогенезі виразок гастродуоденальної зони — причина підвищеної кислотопродукції чи основа реалізації компенсаторно-приспосувальних механізмів? // Укр. журн. хірургії. — 2011. — № 5. — С. 23—33.
3. Кондратенко П. Г., Раденко Е. Е., Жариков С. О. Комплексная медикаментозная терапия при остром язвенном гастродуоденальном кровотечении // Укр. журн. хирургии. — 2013. — Т. 21, № 2. — С. 128—134.
4. Кондратенко П. Г., Смирнов Н. Л., Раденко Е. Е. Острое кровотечение в просвет органов пищеварительного канала. — Донецк, 2006. — 420 с.
5. Ступин В. А., Силуянов С. В., Смирнова Г. О., Собиров М. А. Современные подходы к лечению кровотечений из острых язв желудка и двенадцатиперстной кишки // Хирургия. Журн. им. Н. И. Пирогова. — 2010. — № 8. — С. 48—53.
6. Varinov E. F., Sulaieva O. N., Lyakch Y. E. et al. Platelet aggregation measurement for assessment of hemostasis failure mechanisms in patients with gastroduodenal ulcer bleeding // Clin. Exp. Gastroenterol. — 2013. — Vol. 6. — P. 139—148.
7. Cats A., Schenk B. E., Bloemena E., Roosendaal R. Parietal cell protrusions and fundic gland cysts during omeprazole maintenance treatment // Hum. Pathol. — 2000. — Vol. 31. — P. 684—690.
8. Gisbert J. P., González L., Calvet X. et al. Proton pump inhibitors versus H2-antagonists: a meta-analysis of their efficacy in treating bleeding peptic ulcer // Aliment. Pharmacol. Ther. — 2001. — Vol. 15 (7). — P. 917—926.
9. Handa O., Yoshida N., Fujita N., Tanaka Y. Molecular mechanisms involved in anti-inflammatory effects of proton pump inhibitors // Inflamm. Res. — 2006. — Vol. 55 (11). — P. 476—480.
10. Jalving M., Koornstra J. J., Wesseling J. et al. Increased risk of fundic gland polyps during long-term proton pump inhibitor therapy // Aliment. Pharmacol. Ther. — 2006. — Vol. 24. — P. 1341—1348.
11. Kedika R. R., Souza R. F., Spechler S. J. Potential anti-inflammatory effects of proton pump inhibitors: a review and discussion of the clinical implications // Dig. Dis. Sci. — 2009. — Vol. 54 (11). — P. 2312—2317.
12. Lanás A., Polo-Tomas M., García-Rodríguez L. A., García S. Effect of proton pump inhibitors on the outcomes of peptic ulcer bleeding: comparison of event rates in routine clinical practice and a clinical trial // Scand. J. Gastroenterol. — 2013. — Vol. 48 (3). — P. 285—294.
13. Laursen S. B., Jorgensen H. S., Schaffalitzky de Muckadell O. B. Management of bleeding gastroduodenal ulcers // Dan Med J. — 2012. — Vol. 59 (7). — P. C4473—4476.
14. Poulsen A. H., Christensen S., McLaughlin J. K. et al. Proton pump inhibitors and risk of gastric cancer: a population-based cohort study // Br. J. Cancer. — 2009. — Vol. 100. — P. 1503—1507.
15. Yoshida N., Yoshikawa T., Tanaka Y. et al. A new mechanism for anti-inflammatory actions of proton pump inhibitors — inhibitory effects on neutrophil-endothelial cell interactions // Aliment. Pharmacol. Ther. — 2000. — Vol. 14. — P. 74—81.

Е. Ф. Барінов, П. Г. Кондратенко, О. М. Сулаєва, С. О. Жаріков

Донецький національний медичний університет імені Максима Горького

МОРФОГЕНЕЗ КРАЙОВОЇ ЗОНИ ВИРАЗОК ШЛУНКА НА ТЛІ АНТИСЕКРЕТОРНОЇ ТЕРАПІЇ ПІСЛЯ ГОСТРОЇ КРОВОТЕЧІ

Мета роботи — вивчити морфологічно біоптати крайової зони виразок шлунка після гострої кровотечі в динаміці терапії.

Матеріали і методи. Проаналізовано динаміку морфогенезу крайової зони виразок шлунка у 40 пацієнтів з гострими кровотечами на тлі терапії інгібіторами протонної помпи (ІПП). При оцінці біоптатів урахували вираженість альтерації слизової оболонки шлунка, інфільтрації лейкоцитами, ангиогенезу (CD131), реакцію міофібробластів (α -SMA), проліферацію клітин (Ki-67).

Результати та обговорення. Показано, що призначення ІПП у комплексі лікування пацієнтів з гострими виразковими кровотечами не лише впливає на секреторну активність залоз, а й виявляє протизапальний ефект, обмежує вираження вторинної альтерації крайової зони виразок. Відзначено стимуляцію ангиогенезу та проліферації клітин покривного епітелію, однак при цьому виявлено зниження ступеня диференціювання покривного епітелію та збереження лімфоцитарної інфільтрації.

Висновки. Призначення ІПП модулює перебіг запально-репаративного процесу та статус слизово-бікарбонатного бар'єра.

Ключові слова: виразкові кровотечі, інгібітори протонної помпи, запалення, репарація.

E. F. Barinov, P. G. Kondratenko, O. N. Sulaieva, S. O. Zharikov

Donetsk National Medical University of Maxim Gorky

ULCER MARGIN MORPHOGENESIS AFTER ANTISECRETORY THERAPY FOR ACUTE BLEEDING

The aim — to study morphology of gastric ulcer marginal zone biopsies after acute bleeding in treatment process dynamic.

Materials and methods. Morphogenetic dynamic of gastric ulcers marginal zone in 40 patients with acute bleeding treated by proton pump inhibitors was analyzed. The degree of gastric mucosa alteration, density of leukocytes infiltration, angiogenesis (CD131), myofibroblasts reaction (α -SMA) and cells proliferation (Ki-67) were assessed during morphometric analysis.

Results and discussion. It was shown that proton pump inhibitors administration in complex treatment of patients with acute ulcer bleeding, not only affect the gastric glands secretory activity, but has also significant anti-inflammatory effect, border ulcer marginal zone secondary alteration. The angiogenesis and of epithelial cells proliferation stimulation were noted, however these effects were accompanied with gastric epithelial cells differentiation decrease and gastric mucosa lymphoid infiltration maintaining.

Conclusions. Proton pump inhibitors administration modulates inflammatory-regenerative processes and the mucousbicarbonate barrier state.

Key words: acute ulcer bleeding, proton pump inhibitors, inflammation, healing.