

УДК 617.55–007.43–089.168:616–003.93–008.9–092–094

МОРФОЛОГІЧНА ДІАГНОСТИКА ДИСПЛАЗІЇ СПОЛУЧНОЇ ТКАНИНИ У ХВОРИХ ПРИ ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНІЙ ГРИЖІ ЧЕРЕВНОЇ СТІНКИ

С. Г. Четверіков, А. М. Яценко, Ю. В. Єршомін, В. Ю. Вододюк

Центр реконструктивної та відновної медицини (Університетська клініка)

Одеського національного медичного університету;

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

MORPHOLOGICAL DIAGNOSIS OF CONNECTIVE TISSUE DYSPLASIA IN PATIENTS, SUFFERING POSTOPERATIVE ABDOMINAL HERNIA

S. G. Chetverikov, A. M. Yashchenko, Yu. V. Yeryomin, V. Yu. Vododyuk

РЕФЕРАТ

Проаналізовані результати лікування 122 хворих, у яких здійснена алопластика з приводу післяопераційної грижі черевної стінки (ПОГЧС). У 76 хворих діагностовано дисплазію сполучної тканини (ДСТ). Визначення вмісту колагену різного типу у сполучній тканині пацієнтів при ДСТ може підтвердити або спростувати цей діагноз. Діагностичну значущість має збільшення вмісту колагену III типу у порівнянні з таким I типу у 3 рази і більше. Метод лектиногістохімічного дослідження сполучної тканини використовували як уточнюючий метод діагностики ДСТ. Про наявність ДСТ свідчить мозаїчна або дифузна втрата колагеновими волокнами рецепторів лектинів SNA, LABA, ConA, які відображають вуглеводні детермінанти щільних та міцних колагенових волокон з колагену I типу. Поряд з цим, спостерігали збільшення експресії рецепторів лектину WGA, який є маркером волокнистих структур з колагену переважно III типу та рецепторів лектину PNA, які виявляють навколо судин.

Ключові слова: післяопераційна грижа черевної стінки; дисплазія сполучної тканини; імуногістохімічні та лектиногістохімічні методи дослідження.

SUMMARY

The results of treatment of 122 patients, to whom alloplasty for postoperative abdominal hernia (POAH) was performed, were analyzed. In 76 patients a connective tissue dysplasia (CTD) was diagnosed. Determination of a various types of collagen content in connective tissue of patients, suffering CTD, may confirm or exclude this diagnosis. Diagnostic significance has the enhancement of a collagen type III content in comparison with such of a type I by three times and more. The method of lectinohistochemical investigation of connective tissue was applied as a precision-enhancing method of a CTD diagnosis. Mosaic or diffuse loss of SNA, LABA, ConA receptors of lectins by collagen fascicles, which reflect carbohydrate determinants of dense and strong collagen fascicles, made of collagen type I, witness the CTD presence. Along with this, there was observed a lectin WGA receptors expression increase, which constitutes a marker of fascicular structures, made of collagen, predominantly type III and a lectin PNA receptors, which are revealed around vessels.

Key words: postoperative abdominal hernia; connective tissue dysplasia; immunohistochemical and lectinohistochemical methods of investigation.

Лікування ПОГЧС є складною та невирішеною проблемою. Про її актуальність свідчить створення окремого розділу медичної науки – герніології [1, 2]. Незважаючи на значні успіхи у лікуванні цієї патології, його результати не завжди задовольняють як пацієнтів, так і хірургів. Проведені численні наукові дослідження, впроваджені найсучасніші методи оперативних втручань, використані найкращі протези, проте, поліпшення результатів лікування хворих з приводу ПОГЧС в останні роки не спостерігають. Зважаючи на це, деякі дослідники повернулися до погляду на грижу не як на "дефект черевної стінки", а як на системне захворювання організму [2].

На думку фахівців, одним з основних етіологічних чинників утворення грижі є нездатність організму пацієнта створити функціонально спроможну сполучну тканину через порушення співвідношення колагену типу I і III, тобто, ПОГЧС – це прояв ДСТ [3, 4]. Проте, термін ДСТ дуже розпливчастий. Якщо з диференційованою ДСТ (синдроми Марфана, Данло – Елерса, незавершеного остеогенезу) все зрозуміло, то щодо захворювань або аномалій конституції, об'єднаних терміном недиференційована ДСТ, існує багато суперечностей [5].

По-перше, всі існуючі сьогодні методи діагностики ДСТ, основані на визначенні фенотипових проявів цієї патології, найбільш інформативні в дитячому та підлітковому віці, коли вони не замасковані набутими вадами розвитку та захворюваннями. Особливо великою є проблема діагностики ДСТ у хворих похилого віку, коли до вроджених порушень обміну колагену приєднуються набуті диспластичні процеси у сполучній тканині, насамперед, у хребті, суглобах, шкірі, м'язах, що може повністю замаскувати вроджені вади. Під час аналізу стану сполучної тканини з використанням загальноприйнятих методів у цих пацієнтів практично неможливо відрізнити вроджені, генетич-

но запрограмовані порушення колагену від набутих обмінних змін сполучної тканини, які, ймовірно, також беруть участь у патогенезі ПОГЧС. Можливо, у пацієнтів середнього та похилого віку слід розрізняти ДСТ вродженого, генетично запрограмованого генезу та набуто, спричинену дегенеративним ушкодженням сполучної тканини, що певною мірою залежить від віку пацієнта, його способу життя, рухової активності, наявності шкідливих умов праці, її тяжкості та багатьох інших чинників.

Спираючись на фенотипові та біохімічні ознаки ДСТ, у значній кількості хворих можна виявити або спростувати наявність синдрому ДСТ. Але у певній кількості хворих причину утворення ПОГЧС встановити за допомогою даних анамнезу та зазначених методів не вдалося.

Можливо, у таких хворих існує фенотипово та біохімічно замаскована ДСТ, що після виконання лапаротомії спричинило формування грижі. Уточнювальним методом діагностики ДСТ може бути морфологічне дослідження ділянки апоневрозу по краю гризових воріт, яку можна взяти під час виконання оперативного втручання з приводу ПОГЧС. Вивчення особливостей сполучної тканини в цій ділянці з використанням імуногістохімічних та інших методів, можливо, дозволить виявити такі замасковані форми ДСТ та, на підставі цього, призначити пацієнтам після операції терапію, спрямовану на корекцію порушень обміну колагену [6].

Мета роботи: визначити найбільш інформативні морфологічні ознаки ДСТ у хворих з ПОГЧС.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В клініці обстежені 122 хворих з приводу ПОГЧС. Чоловіків — 43 (35,2%), жінок — 79 (65,8%). Вік пацієнтів у середньому ($57,6 \pm 5,1$) року. Наймолодшій пацієнтці було 23 роки, найстаршому хворому — 81 рік. Найбільша кількість хворих — 67 (52,5%) віком від 41 до 70 років, тобто, працездатного віку. Ускладнений перебіг загоєння рани після операції, який міг спричинити утворення грижі, відзначений у 35 (28,8%) пацієнтів.

Для діагностики синдрому ДСТ у хворих визначали фенотипові прояви в різних органах і системах.

Типування колагену проводили за методом непрямої імуофлуоресценції за L. A. Sternberg (1982) з використанням моноклональних антитіл до колагену I і III типу. Для імуногістохімічного дослідження колагену I і III типу первинними були моноклональні антитіла до колагену I і III типу (ізотипи IgG1, Chemicon International). Препарати також обробляли з застосуванням стандартних наборів НПК "Лектинотест" (Львів) у розведенні лектину 1:50 за рекомендованою методикою [7]. Фарбували гістологічні препарати з використанням лектинів, мічених пероксидазою хрому, з подальшою візуалізацією активності пероксидази діамінобензидину тетрагідрохлоридом у присутності перекису водню. Концентрація лектинів 50 мкг/мл. Джерело одержання скорочена назва та специфічність лектинів наведені у таблиці.

У 76 хворих діагностовано ДСТ, 32 з них після операції проводили медикаментозну корекцію ДСТ (основна група), 44 — стандартну терапію (група порівняння). У 46 пацієнтів симптоми ДСТ не виявлені (контрольна група).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За даними гістологічних досліджень, у хворих з ПОГЧС і ДСТ колагенів та еластичні волокна стоншені, представлені дрібнопетлястою мережею. Виявляли фрагменти щільної сполучної та жирової тканини з колагеновими волокнами, м'язів, з фібробластами навколо судин і між пучками колагенових волокон. Між посмугтованими м'язовими волокнами виявляли ділянки фіброзної тканини з паралельно розташованими пучками сполучнотканинних волокон товщиною від 3 до 15 мкм, серед полів колагенових волокон — поодинокі фіброласти, судини мікроциркуляторного русла з нерівномірним кровонаповненням, периваскулярно — поодинокі лімфоцити, гістіоцити.

За даними імуногістохімічного дослідження для виявлення колагену I типу у хворих без ДСТ спостерігали фарбування хромогеном осередків від + до ++. Серед поодиноких колагенових волокон товщиною 10 — 12 мкм і по периферії більш товстих волокон в деяких осередках — помірно виражена реакція, в деяких — слабо позитивна. Фарбування більш товстих волокон відсутнє (рис. 1).

Джерело одержання, скорочена назва та специфічність лектинів

Назва лектину	Джерело отримання	Вуглеводна специфічність
SNA	Лектин кори бузини чорної (<i>Sambucus nigra</i> L)	Neu5Ac/2→6Gal
Con A	Конканавалін А (<i>Convalia ensiformis</i>)	αDMan
WGA	Лектин зав'язків пшениці (<i>Triticum vulgare</i> L)	NAcDGlc→NAcNeu
HPA	Лектин виноградного слимака (<i>Helix pomatia</i>)	αNAcDGal
PNA	Лектин з насіння арахісу (<i>Arachis hypogaea</i> L)	βDGal
LABA	Лектин кори золотого дощу (<i>Laburnum anagyroides</i> Medik)	αL-Fuc
SBA	Лектин насіння сої	αNAcDGal

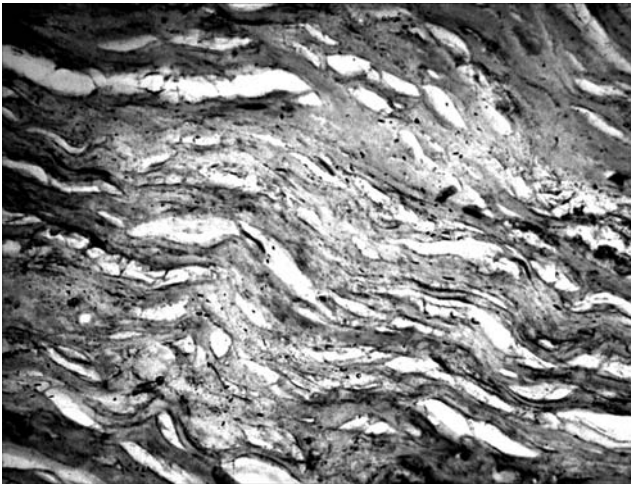


Рис. 1. Хвора К., 69 років, без ДСТ. Імуногістохімічне дослідження для виявлення колагену I типу. Зб. $\times 200$.

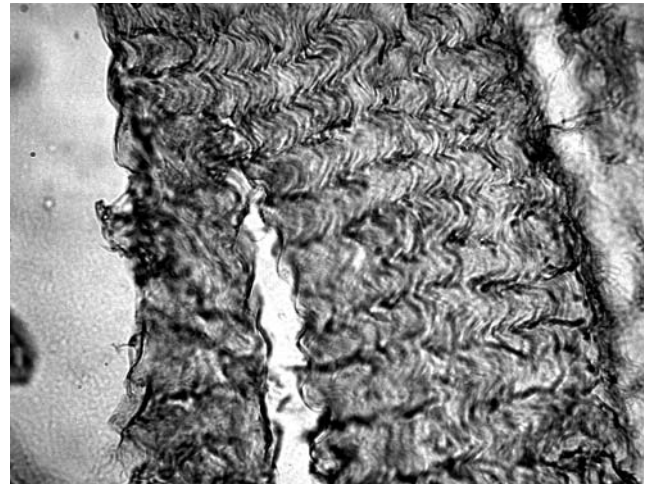


Рис. 3. Хвора К., 54 років, ДСТ помірної тяжкості. Лектиногістохімічне дослідження з лектином WGA. Зб. $\times 280$.

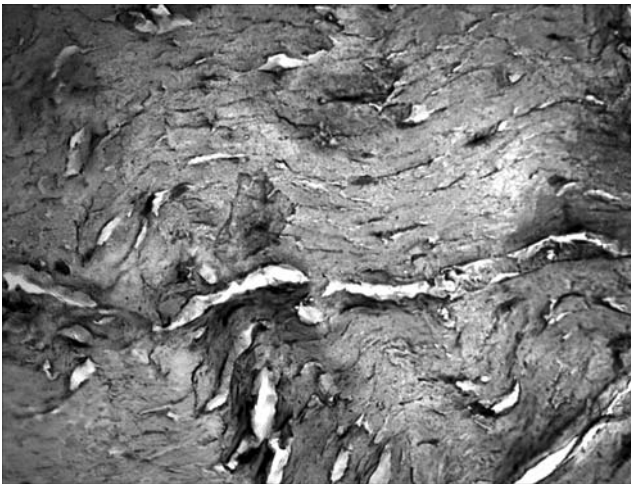


Рис. 2. Хвора К., 54 років, без ДСТ. Імуногістохімічне дослідження для виявлення колагену III типу. Зб. $\times 280$.

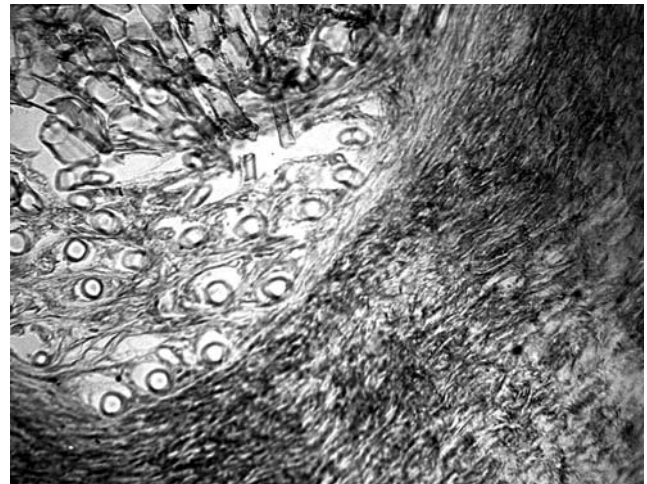


Рис. 4. Хвора Н., 57 років, ДСТ помірної тяжкості. Лектиногістохімічне дослідження з лектином SNA. Зб. $\times 200$.

При імуногістохімічному дослідженні для виявлення колагену III типу спостерігали яскраве фарбування хромогеном більшості волокон невеликої товщини (до 10 мкм) і периферійних ділянок більш товстих волокон, осередки помірного забарвлення волокон товщиною понад 10 мкм. На більшій площі інтенсивність забарвлення ++, фокусно +++ (рис. 2).

Типовим для ДСТ є наявність у біоптаті серед щільної сполучної тканини великої кількості колагенових волокон різної товщини — від 3 до 15 — 18 мкм. За даними імуногістохімічного дослідження виявлені осередки слабкої присутності колагену I типу серед волокон товщиною 10 — 12 мкм. Спостерігали значне забарвлення волокон діаметром до 10 мкм і периферійних ділянок більш товстих волокон. На решті площі відзначали помірно виражене забарвлення. На нашу думку, діагностичну значущість має збільшення кількості колагенових волокон III типу по відношенню до таких I типу у 3 рази і більше, що доз-

воляє встановити діагноз ДСТ за морфологічними ознаками.

У деяких пацієнтів з ДСТ легкою та середньої тяжкості за фенотиповими та біохімічними критеріями спостерігали помірні зміни співвідношення колагену I і III типу або його відсутність, що свідчило про те, що прояви ДСТ можна пояснити не лише порушенням продукції колагену I типу.

Альтернативою методу типування колагенів, який ми використали у дослідженні, є лектиногістохімічний метод. Під час огляду контрольних препаратів (у пацієнтів без фенотипових ознак ДСТ) спостерігали елементи сполучної тканини, у яких відзначали помірний або високий ступінь зв'язування з лектинами різної вуглеводної специфічності. Переважно високу афінність до лектинів мали пучки колагенових волокон. Так, найвищою у цих структурах була експресія рецепторів Neu5Ac/2→6Gal — специфічного лектину бузини чорної (+++), α L Fuc — специфічного

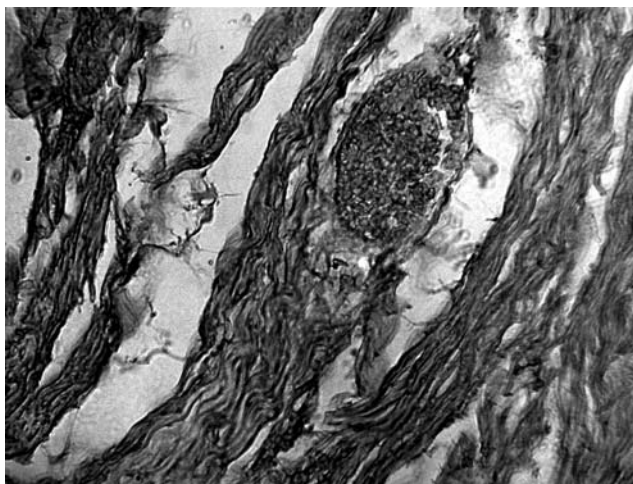


Рис. 5. Хвора Ш., 45 років, ДСТ середньої тяжкості. Лектиногістохімічне дослідження з лектином WGA. Зб. $\times 280$.

лектину золотого дощу (++++), та DMan — специфічного лектину ConA (++++), що свідчило про переважання сіало-, фукозо- та манозогліканів у формуванні пучків колагенових волокон. Деякі лектини, зокрема, зав'язків пшениці (WGA) проявляли помірну афінність лише до окремих волокнистих структур, а також до внутрішньої еластичної мембрани судин мікроциркуляторного русла, помірну експресію рецепторів лектину арахісу (PNA) відзначали у зовнішній оболонці судин.

У препаратах, виготовлених з біоптатів, взятих у хворих з фенотиповими ознаками ДСТ, виявлено сполучну тканину, в якій містилися пучки колагенових волокон, в яких переважали рецептори лектину WGA (++++), в окремих пучках колагенових волокон відзначена слабо виражена експресія рецепторів лектину LABA (++) і лектину SNA (++)), рецептори DMan — специфічного лектину ConA переважали у товстих пучках колагенових волокон навколо судин. β DGal — специфічний лектин арахісу проявляв мозаїчність зв'язування, у деяких колагенових волокнах спостерігали високу експресію цього лектину, в інших — низьку. З α NacDGal—специфічним лектином виноградного слимака гомогенно зв'язувалися структурні компоненти представлені сполучної тканини. Отже, модифікація рецепторів лектинів проявлялася частковою втратою сіало- (рецептори SNA) і фукозогліканів (рецептори LABA) в пучках колагенових волокон, відсутністю у них рецепторів, α NacDGal — специфічного лектину (HPA). Таке перепрограмування вуглеводних детермінант, очевидно, відображує пригнічення функціональної активності сполучної тканини (рис. 3).

У зрізах з препаратів іншої пацієнтки спостерігали поодинокі волокнисті структури (ретикулярні волокна) з високою експресією рецепторів лектину SNA

(++++), більшість волокнистих структур були інтактні до цього лектину. Частково рецептори цього лектину виявляли у зовнішній оболонці судин.

Експресія рецепторів лектинів WGA, PNA, HPA помірно виражена у волокнистих структурах апоневрозу. Спостерігали зниження експресії у цих структурах рецепторів фукозоспецифічного лектину LABA. Поряд з цим виявляли ділянки з залишками шовного матеріалу, оточені колагеновими волокнами, з помірно вираженою експресією рецепторів лектину HPA та SNA (рис. 4).

У зрізах, виготовлених з препаратів апоневрозу пацієнтки з ДСТ тяжкого ступеня, виявляли порожнини в оточенні волокнистих структур з помірною (++) або інтенсивною (++++) експресією рецепторів лектинів ConA, WGA, SNA, LABA. Досить високу експресію використаних нами лектинів мали мембрани адипоцитів. Поряд з цим виявляли окремі ділянки ущільненої сполучної тканини з втратою колагеновими волокнами рецепторів LFuc — специфічного лектину LABA.

Навколо порожнин виявляли ареактивні зони з лектином PNA і HPA, а також SNA—позитивні клітини, можливо, макрофаги. Втрата деякими колагеновими волокнами вуглеводних детермінант у вигляді DGal і NAc DGal, LFuc, ймовірно, зумовлює зміни їх функціональної активності (рис. 5).

Модифікація рецепторів лектинів у складі волокнистих структур апоневрозу у кожному спостереженні залежить від багатьох чинників, у тому числі наявності супутніх захворювань. Глюкозаміноглікани, протеоглікани і глікопротеїни, до складу яких входять вуглеводні детермінанти у вигляді DMan, LFuc, DGal, NAcDGal, NAcDGlc, Neu5Ac/2 \rightarrow 6Gal, відіграють важливу роль у фібрилогенезі колагенових волокон. За їх участі прискорюється або гальмується агрегація молекул колагену, визначаються довжина, діаметр та орієнтація фібрил.

Вуглеводні детермінанти і молекули колагену синтезуються фібробластами на основі генетичної програми і системи взаємозв'язків, вони можуть синхронізувати синтез зазначених компонентів і змінювати їх у динаміці росту, старіння і при патологічних процесах.

При загоєнні рани внаслідок швидкого утворення сполучної тканини координований у просторі і часі синтез компонентів, що утворюють колагенові волокна, може не відбуватися, що зумовлює утворення неспецифічних рубцево-фіброзних структур з модифікованим складом вуглеводних детермінант.

Таким чином, визначення колагенів різного типу сполучній тканині при ДСТ може підтвердити або спростувати цей діагноз. Діагностичну значущість має збільшення кількості колагенових волокон III типу по відношенню до таких I типу у 3 рази і більше.

Лектиногістохімічне дослідження сполучної тканини можна використовувати як уточнюючий метод діагностики ДСТ. Про наявність ДСТ свідчить мозаїчна або дифузна втрата колагеновими волокнами рецепторів лектинів SNA, LABA, ConA, які відображають вуглеводні детермінанти щільних та міцних колагенових волокон з колагену I типу. Поряд з цим, спостерігають збільшення експресії рецепторів лектину WGA, який є маркером волокнистих структур з колагену переважно III типу та рецепторів лектину PNA, які виявляють навколо судин. Ще одним маркером ДСТ за даними лектиногістохімічного дослідження є відсутність або мозаїчність експресії рецепторів лектину HPA, специфічним до вуглеводних детермінант α NacDGal.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гостевский А. А. Послеоперационные вентральные грыжи / А. А. Гостевский. – М.: Моск. информ. агентство, 2008. – 129 с.
2. Милица Н. Н. Грыжа и грыжевая болезнь: новый взгляд на патогенез заболеваний / Н. Н. Милица, Ю. Д. Торопов, К. Н. Милица // Клін. хірургія. – 2009. – № 1. – С. 35 – 37.
3. Кадурина Т.И. Дисплазия соединительной ткани: руководство для врачей / Т. И. Кадурина, В. Н. Горбунова. – М.: ЭЛБИ, 2009. – 714 с.
4. Нечаева Г. И. Дисплазия соединительной ткани: терминология, диагностика, тактика ведения пациентов / Г. И. Нечаева, И. А. Викторова. – Омск: БЛАНКОМ, 2007. – 188 с.
5. Клеменов А. В. Недифференцированные дисплазии соединительной ткани / А. В. Клеменов. – М.: Медицина, 2005. – 136 с.
6. Чибісов А. Л. Морфологічний аналіз виникнення післяопераційних вентральних гриж / А. Л. Чибісов // Укр. морфол. альманах. – 2008. – Т. 6, № 3. – С. 81 – 83.
7. Луцик А. Д. Лектины в гистохимии / А. Д. Луцик, Е. С. Детюк, М. Д. Луцик. – Львів: Вища шк., 1989. – 139 с.

Інститут гастроентерології НАМН України
та Українська гастроентерологічна Асоціація

19–21 вересня 2012 року

проводять
у м. Дніпропетровську

V ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЧНИЙ ТИЖДЕНЬ

НАУКОВІ НАПРЯМКИ
ГАСТРОЕНТЕРОЛОГІЧНОГО ТИЖНЯ:

- Хвороби стравоходу
- Захворювання шлунка та дванадцятипалої кишки
- Клінічна панкреатологія
- Захворювання печінки та жовчовивідних шляхів
- Хронічні запальні захворювання кишечника
- Педіатрична гастроентерологія
- Хірургічне лікування хвороб органів травлення
- Організація спеціалізованої служби
- Стандартизація, автоматизація та ціноутворення в медицині

Контактні телефони

к. м. н. с. н. с. Гравіровська Н. Г.
тел. 098-828-45-47, e-mail: gastrodnepr@ukrpost.ua та gastro.grav@gmail.com
вик. директор УГА канд. мед. наук Діденко В. І.
тел. 067-560-12-28, e-mail: vladdidenko@gmail.com

Посвідчення про реєстрацію у УкрІНТЕІ № 429 від 8 липня 2011 р.