

В. Б. Барканов, А. Н. Горячев, С. А. Калашникова*

Волгоградское бюро судебно-медицинской экспертизы,
Волгоградский государственный медицинский университет*

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СПАЕК БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ ПРИ ОСТРОЙ И ХРОНИЧЕСКОЙ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

УДК 617.55-089

Проведен морфологический и морфометрический анализ спаек, полученных от лиц со спаечной болезнью и обнаруженных при аутопсии. Выявлены статистически достоверные различия между спайками от указанных групп лиц. Различия заключаются в различном клеточном и волоконном составе, а также выраженности воспалительных изменений. На основании этого предложена классификация спаек по выраженности в них воспалительного процесса.

Ключевые слова: спаечный процесс, эндогенная интоксикация.

V. B. Barkanov, A. N. Goriachev, S. A. Kalashnikova

COMPARATIVE MORPHOLOGICAL ANALYSIS OF ABDOMINAL ADHESIONS IN ACUTE AND CHRONIC ENDOGENOUS INTOXICATION

We performed morphological and morphometrical analysis of abdominal adhesions obtained from individuals with adhesive disease and discovered at autopsy. Statistically reliable differences in adhesions from these two groups of individuals were revealed. The differences consist in various cellular and fibrous structures, as well as the extent of inflammatory changes. On the basis of this study we propose a classification of adhesions according to the extent of the inflammatory process.

Key words: adhesive process, endogenous intoxication.

Клиническое и экспериментальное изучение спаечной болезни брюшной полости, возникающей на фоне хронических патологических процессов, приводит к пересмотру ее участия в танатогенезе. Данный механизм реализуется через нарушение функционирования органов брюшной полости, в первую очередь кишечника, что сопровождается увеличением концентрации бактериального эндотоксина в системном кровотоке и развитием хронической эндотоксинемии [4].

Однако наличие спаек ошибочно рассматривать как единственную механическую причину нарушения функционирования органов брюшной полости. Спайка представляет собой прогрессирующий очаг асептического воспаления в брюшной полости с вовлечением многих органов брюшной полости, в частности сальника, с выделением клетками-участниками спайкообразования большого количества биологически активных веществ и всасыванием последних в системный кровоток [5].

В этой связи особенно важным представляется выделение из всего клеточного ансамбля спайкообразования клеток, наиболее активно проявляющих себя в развитии или торможении образования спаек. В качестве клеток, способных восстановить целостность брюшной полости и предотвратить формирование спаек, особо важная роль отводится мезотелиоцитам [3]. Изуче-

ние межклеточных взаимодействий в формировании спаек обуславливает актуальность данного исследования.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить морфологические особенности спаек при различных условиях формирования и выделить их основные морфологические характеристики по клеточному и внеклеточному составу.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена на операционном материале и материале аутопсий от 28 пациентов (13 женщин и 15 мужчин), в возрасте от 34 до 70 лет. Из них 18 случаев были представлены аутопсией, 10 образцов спаек были получены в ходе оперативных вмешательств. Аутопсийный материал получен от скоропостижно скончавшихся лиц, из них 2 случая — пациенты, умершие от крупозной пневмонии с отеком легких, 8 случаев — от ишемической болезни сердца в форме острого инфаркта миокарда с фибрилляцией желудочков, 5 случаев — кардиомиопатия неустановленной этиологии, 2 случая — острый пиелонефрит и 1 случай — острый гломерулонефрит. Таким образом, все проанализированные случаи связаны с развитием полиорганной недостаточности, характерной для хронического эндотоксикоза.

В результате проведенного гистологического исследования органов-мишеней эндотоксикоза (легких, печени, почек) получены следующие результаты: в 87 % случаев в печени обнаружены морфологические признаки хронического персистирующего гепатита, в 71 % — зарегистрирован гломерулосклероз, реализуемый в виде белковой дистрофии нефротелия и явлений накопления зернистых цилиндров в просвете канальцев. В 45 % — обнаружены морфологические признаки пневмосклероза, эмфиземы и ателектаза легочной ткани. Таким образом, во всех случаях имелись признаки хронической эндогенной интоксикации, что не противоречит имеющимся в литературе сведениям о корреляции между хронической эндогенной интоксикацией и спаечной болезнью [2].

Образцы спаек, выделенные в ходе оперативных вмешательств, в 4 случаях были получены при холецистэктомии, в 3 случаях — при ампутации матки, в 2 случаях — при грыжесечении и 1 случай представляет собой аппендэктомию. Везде на момент поступления в стационар у данных больных регистрировались показатели, удовлетворяющие критериям SIRS, что позволяет характеризовать эту группу респондентов со спаечной болезнью как имеющую острый эндотоксикоз [6].

Для проведения морфологического исследования спайки фиксировали в нейтральном 10%-м формалине, материал заливали в парафин по стандартной методике, срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, по Зербино, трихром по Массону.

Полученные микропрепараты были описаны, с типичных из них были изготовлены микрофотограммы. Фотосъемка препаратов проведена на микроскопе «Микмед-6» (Россия) с фотокамерой «DCM 130».

Классический морфометрический анализ был проведен в соответствии со сложившимися принципами количественных морфологических исследований [1].

Для количественной оценки морфологических изменений использовали программный пакет Image Tool for Windows, ver.3.00 (UTHSCSA, USA. 2002). Морфометрии подвергали срезы для определения объемных долей клеток и внеклеточных волокон.

Для продольной морфометрии компьютерные изображения спаек в окрасках трихром по Массону были подвергнуты бинаризации и негативизации с помощью программного пакета Adobe Photoshop 7.0 (USA). После этих преобразований максимальная яркость наблюдалась у участков спаек, содержащих наибольшее количество коллагена, окрашенного в синий цвет анилиновым синим. Далее проводили анализ полученных компьютерных изображений с помощью оригинальной программы «Polosa», в которых оценивали градиенты яркости в системе RGB между точками при-

крепления спаек. Программа после указания границ объекта и его ширины самостоятельно разбивала объект на выбранное число секторов и зон. Для спаек эмпирически нами было подобрано 20 поперечных и 10 продольных зон — всего 200 участков (рис. 1).

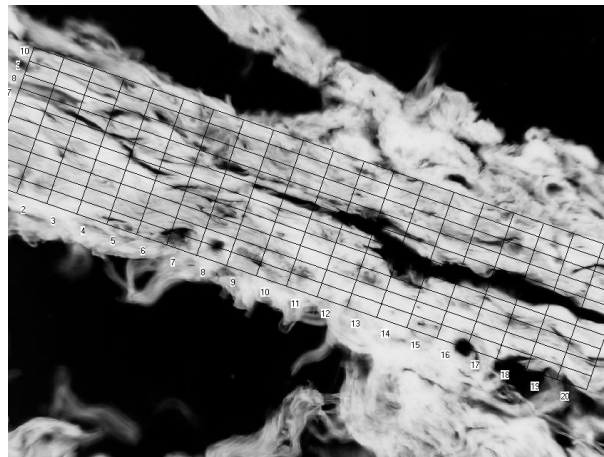


Рис. 1 Продольная морфометрия спайки, выполненная с помощью программы «Polosa». Ув. 10x15. Бинаризация, негативизация

Результаты преобразований экспортировали в матрицу Microsoft Excel. В качестве первичного материала получали матрицу продольного и поперечного распределения тинкториальной плотности, в качестве окончательного, после полиномиальной аппроксимации полученных кривых — коэффициенты, характеризующие графическую функцию распределения (рис. 2):

K_1 — тангенс угла подъема кривой в восходящей части графика,

K_2 — тангенс угла снижения кривой в восходящей части графика,

I_m — максимальная интенсивность окраски на протяжении исследуемого участка спайки, усл. ед.,

R — расстояние от начала прикрепления спайки до точки с I_m , %.



Рис. 2. Коэффициенты, характеризующие графическую функцию распределения яркости в системе RGB между местами прикрепления спаек

Математическая обработка проводилась непосредственно из общей матрицы данных EXCEL

7.0 (Microsoft, USA) с привлечением возможностей программ STATGRAPH 5.1 (Microsoft, USA) и включала определение показателей средней, ее среднеквадратичного отклонения и ошибки репрезентативности.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении спаечного материала, полученного в ходе оперативных вмешательств, было обнаружено, что спайки по своей консистенции рыхлые и разволокненные. В большинстве спаек обнаруживаются гранулы и нити свежес выпавшего фибрина. При окраске по Зербино цвет фибрина варьирует от светло-красного до красно-фиолетового, что характерно для «зрелого» фибрина давностью от 6 до 24 ч. В составе спаек обнаружено небольшое количество новообразованных сосудов с умеренным кровенаполнением. При окраске по Массону обнаружено небольшое количество коллагена, эластических и ретикулярных волокон, при этом наибольшее количество коллагеновых волокон преобладает в области прикрепления спайки в месте индукции спайкообразования. В то же время в местах вторичного прикрепления спайки обнаружено преобладание эластических и ретикулярных волокон (рис. 3).

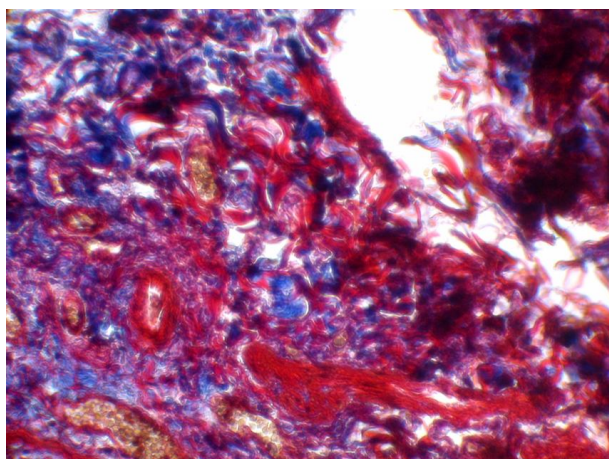


Рис. 3. Коллагеновые, ретикулярные и эластические волокна в спайке, выделенной в ходе холецистэктомии. Окраска трихром по Массону. Ув. 10x40

При анализе клеточного состава выявлено присутствие большого количества нейтрофилов, умеренного количества лимфоцитов, макрофагов и фибробластов.

При исследовании спаек, полученных на вскрытии, определялась выраженная коллагенизация спаек, представляющих собой плотную оформленную волокнистую соединительную ткань, с достаточно развитым сосудистым руслом и патологически расширенными сосудами. В отдельных случаях в толще спаек обнаружены немногочисленные кровоизлияния, размеры которых варьировали от мелкоочаговых до кровяных «озер». Дав-

ность кровоизлияний также варьировала: от свежих, без признаков реактивных изменений, до резорбируемых макрофагами. В ткани — небольшое количество эластических и ретикулярных волокон, распределение которых повторяло тенденцию в группе с новообразованными спайками. В структуре спаек обнаруживалось небольшое количество полимеризовавшегося фибрина, цвет которого изменялся от серо-голубого до светло-синего. Такой фибрин может быть идентифицирован как «старый» (от 24 до 48 ч). В отдельных участках спаек обнаруживалась жировая ткань. По клеточному составу имелись выраженные отличия от спаек, полученных в ходе оперативных вмешательств. Обращало внимание преобладание фибробластов, макрофаги локализовались преимущественно в местах выпадения фибрина.

При морфометрическом анализе были получены данные, представленные в табл. 1.

ТАБЛИЦА 1

Морфометрические показатели клеточного и волоконного состава спаек ($M \pm m$), %

Морфометрические показатели	Спайки, полученные при оперативных вмешательствах	Спайки, полученные при аутопсии
Объемная плотность лейкоцитов	0,31 ± 0,05	0,19 ± 0,02*
Объемная плотность фибробластов	22,17 ± 0,41	41,80 ± 2,13*
Относительный объем фибрина	18,35 ± 1,28	1,61 ± 0,84*
Относительный объем коллагеновых волокон	3,10 ± 0,11	58,20 ± 0,09*
Относительный объем ретикулярных и эластических волокон	63,81 ± 2,51	17,20 ± 0,23*
Относительный объем сосудистого русла	5,43 ± 0,13	16,42 ± 0,11*

* Достоверные различия ($P < 0,05$) в группах.

Спайки при острой интоксикации характеризовались выраженным лейкоцитарным представителем, которое снижалось при переходе процесса в хроническую фазу, что сопровождалось увеличением количества фибробластов и увеличением количества коллагена. Аналогичные изменения касаются ретикулярных и эластических волокон, количество которых также снижалось при хронизации спаечного процесса.

Увеличение относительного объема сосудистого русла отражало факт васкуляризации спаек, что не только усиливало спайкообразование, но и приводило к проникновению биологически активных веществ из области спайкообразования в системный кровоток.

Данные метода продольной морфометрии представлены в табл. 2.

Из представленных данных следует, что достоверно значимым считается показатель **R**, характеризующий расстояние от места прикрепления спайки до наиболее яркой точки. Этот показа-

тель характеризует степень «коллаген-насыщенности» спайки, что является отражением давности спаечного процесса.

ТАБЛИЦА 2

Результаты продольной морфометрии коллаген-насыщенности спаек ($M \pm m$)

Характеристика спаек	K ₁	K ₂	I _m , усл. ед.	R, %
Спайки, полученные при оперативных вмешательствах	0,21 ± 0,05	-0,14 ± 0,12	5,52 ± 0,92	24,43 ± 6,68
Спайки, полученные при аутопсии	0,34 ± 0,17	-0,25 ± 0,09	6,18 ± 1,03	84,64 ± 7,31*

* Достоверные различия ($P < 0,05$) в группах.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. На основании проведенного исследования установлено, что хроническая эндогенная интоксикация приводит к развитию и/или к усилению спайкообразования, что, в свою очередь, сопровождается развитием скоропостижной смерти. Данный факт имеет важное судебно-медицинское значение, поскольку многие аспекты скоропостиж-

ной смерти не учитывают влияние эндогенной интоксикации на динамику спаечного процесса.

2. Метод продольной морфометрии может быть использован для характеристики волоконного состава спаек, в частности наличия коллагена в спайках, что может быть использовано в судебно-медицинской практике для определения давности спаечного процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Автандилов Г. Г. Основы количественной патологической анатомии. — М.: Медицина, 2002. — 240 с.
2. Эндотоксикоз: Моделирование и органопатология / В. В. Новочадов, В. В. Писарев. — Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2005. — 240 с.
3. Herrick S. E., Mutsaers S. E. // Int. J. Artif. Organs. — 2007. — № 6. — P. 527—540.
4. Van der Wal J. B., Jeekel J. // Colorectal Dis. — 2007. — № 9. — P. 9—13.
5. Wilkosz S., Epstein J., de Giorgio-Miller A., et al. // Br. J. Surg. — 2008. — № 3. — P. 387—396.
6. Zabolotskikh I. B., Golubtsov V. V. // Anesteziol Reanimatol. — 2006. — № 6. — P. 20—23.