

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ИНФИЛЬТРАТА ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Кафедра патологической анатомии Кубанского государственного медицинского университета, Россия, 350089, г. Краснодар, ул. Седина, 4. E-mail: slavinsky@hotmail.ru

В воспалительном инфильтрате поджелудочной железы выявлено преобладание клеток с экспрессией иммуногистохимических маркеров гранулоцитов (CD15, миелопероксидаза). Количество этих клеток находится в зависимости от длительности прогрессирования острого панкреатита.

Ключевые слова: острый панкреатит, инфильтрация поджелудочной железы, CD15, миелопероксидаза.

A. V. BARSUK, A. A. SLAVINSKY

IMMUNOHISTOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF PANCREAS INFLAMMATORY INFILTRATE IN ACUTE PANCREATITIS

Department of pathologic anatomy of the Kuban state medical university, Russia, 350089, Krasnodar, Sedin str., 4. E-mail: slavinsky@hotmail.ru

In the inflammatory infiltrate of the pancreas revealed the predominance of cells with the expression of immunohistochemical markers of granulocytes (CD15, myeloperoxidase). Number of these cells is dependent on the duration of progression of acute pancreatitis.

Key words: acute pancreatitis, pancreatic infiltration, CD15, myeloperoxidase.

Прогноз при остром панкреатите зависит от тяжести полиорганной недостаточности [1, 3, 4, 5, 6], что свидетельствует о сложном балансе локального повреждения тканей поджелудочной железы и системного противовоспалительного ответа [10]. Тяжелый острый панкреатит связан с компенсационным подавлением иммунитета [11]. При аутоиммунном панкреатите в воспалительном инфильтрате поджелудочной железы в ряде случаев выявляется большое количество CD3-позитивных Т-лимфоцитов. В других наблюдениях преобладала инфильтрация CD20-позитивными В-лимфоцитами [13], причем общее количество CD3-позитивных Т-лимфоцитов периферической крови было достоверно ниже у больных острым панкреатитом, чем у здоровых людей или у пациентов с клиникой острого живота непанкреатогенной этиологии в первые пять дней заболевания [12].

В иммунных процессах при остром панкреатите важную роль играет активация молекул адгезии, что сопровождается существенным увеличением экспрессии CD68, а также CD25 в мононуклеарных клетках периферической крови и в ткани поджелудочной железы [7]. Гидролиз триглицеридов липазой поджелудочной железы способствует активации макрофагов, увеличение количества которых в тканевом инфильтрате усугубляет воспаление [11, 14]. Кроме того, тканевые повреждения усугубляет массивная воспалительная реакция посредством секреции цитокинов [9] с выработкой протеаз и активных форм кислорода [8]. Цель настоящего исследования – выявить состав и характер воспалительного инфильтрата ткани поджелудочной железы в динамике острого панкреатита по их уникальным иммуномаркерным признакам.

Материалы и методы исследования

Исследованы гистологические препараты тканей поджелудочной железы у 40 пациентов, умерших в различные сроки развития острого панкреатита (от 1 до

40 суток). Больные были разделены на 4 группы в зависимости от срока развития острого панкреатита: I группа (10 человек) – 1–3-и сутки заболевания, II группа (10 человек) – от 4 до 6 суток, III группа (10 человек) – от 7 до 9 суток, IV группа (10 человек) – от 9 до 20 суток. Контрольная группа составила 10 пациентов без воспалительного процесса в поджелудочной железе, скоропостижно умерших от мозговых инсультов. Возраст больных варьировал от 24 до 72 лет, лиц контрольной группы – от 25 до 63 лет. Применяли иммунопероксидазный метод с использованием первичных антител к CD15 (clone Carb-3), CD3 (clone PS-1), CD20 (clone L26), CD68 (clone PG-M1) и поликлональных антител к миелопероксидазе. Среднее количество клеток, экспрессирующих иммуногистохимические маркеры, оценивали в 10 полях зрения (увеличение $\times 400$).

Результаты исследования и их обсуждение

CD15 – углеводная молекула адгезии, которая опосредует фагоцитоз и хемотаксис нейтрофилов, является антигеном более 95% гранулоцитов и 80% циркулирующих моноцитов, а также эпителиальных клеток, вовлеченных в процесс фагоцитоза. В микропрепаратах, полученных от лиц контрольной группы, количество CD15-позитивных клеток составило $0,15 \pm 0,38$. В 1–3-и сутки острого панкреатита среднее количество клеток, экспрессирующих CD15, составило $2,92 \pm 1,19$, что почти в 19 раз больше контрольной группы ($p < 0,001$). На 4–6-е сутки количество этих клеток увеличилось в 3,6 раза и составило $10,77 \pm 2,59$. На 7–9-е сутки болезни выявлено незначительное увеличение клеток, экспрессирующих CD15: в 1,2 раза, до значений $13,69 \pm 2,18$ ($p < 0,03$). 10–16-е сутки от начала заболевания характеризовались почти двукратным увеличением (в 1,9 раза) показателей: до $26,62 \pm 4,09$ ($p < 0,001$). Таким образом, в динамике развития острого панкреатита, в ткани поджелудочной железы каждые

трое суток наблюдалось увеличение CD15-позитивных клеток, с наиболее существенным подъемом показателей в первые трое суток.

CD3 представляет собой антигенный полипептидный комплекс, высокоспецифичный маркер Т-лимфоцитов. В контрольной группе количество клеток, экспрессирующих CD3, составило $0,08 \pm 0,28$. В 1–3-и сутки острого панкреатита среднее количество этих клеток составило $0,31 \pm 0,48$, что в 4 раза больше контрольной группы ($p < 0,05$). На 4–6-е сутки их количество увеличилось в полтора раза и составило $0,46 \pm 0,52$ ($p < 0,01$). На 7–9-е сутки болезни выявлено уменьшение количества клеток, экспрессирующих CD3, до значений $0,38 \pm 0,51$. 10–16-е сутки от начала заболевания характеризовались дальнейшим незначительным уменьшением количества CD3-позитивных клеток до $0,31 \pm 0,48$ ($p < 0,5$).

CD20 – фосфопротеин, который экспрессируется у человека и мышей только на В-лимфоцитах. У человека он встречается как на покоеющихся, так и на активированных В-лимфоцитах, но отсутствует на плазматических клетках. В препаратах, полученных от лиц контрольной группы, количество клеток, экспрессирующих CD20, характеризовалось значением $0,08 \pm 0,28$ ($p < 0,05$). На 1–3-и сутки заболевания их количество составило $0,31 \pm 0,48$, что характеризует четырехкратный рост ($p < 0,001$). На 4–6-е сутки болезни в среднем по железе количество CD20-позитивных клеток увеличилось в два с половиной раза и составило $0,77 \pm 0,6$. На 7–9-е, а также на 10–16-е сутки определялось незначительное последовательное снижение количества CD20-позитивных клеток: соответственно с $0,69 \pm 0,63$ до $0,54 \pm 0,52$.

Миелопероксидаза экспрессируется в гранулоцитах и моноцитах крови, а также тканевых макрофагах. В препаратах, полученных от лиц контрольной группы, количество клеток, экспрессирующих миелопероксидазу, составило $0,15 \pm 0,38$. На 1–3-и сутки заболевания количество таких клеток увеличилось в 33 раза ($5,08 \pm 1,93$) при $p < 0,01$. На 4–6-е сутки болезни в среднем по железе количество клеток, экспрессирующих миелопероксидазу, составило $9,85 \pm 3,21$ (увеличение в 2 раза). На 7–9-е сутки выявлен их дальнейший трехкратный рост ($43,54 \pm 6,98$). На 10–16-е сутки от начала заболевания количество этих клеток составило $23,31 \pm 5,27$, что характеризовало снижение показателя в 1,5 раза ($p < 0,01$).

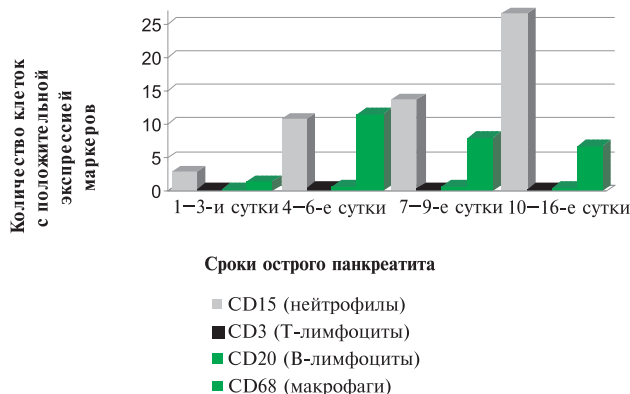
CD68 – гликопротеин, который экспрессируется на моноцитах крови и тканевых макрофагах. Он также присутствует на лимфоцитах, фибробластах и эндотелиальных клетках, широко используется как маркер макрофагов.

В препаратах, полученных от лиц контрольной группы, количество клеток с экспрессией CD68, составило $0,23 \pm 0,44$ позитивных клеток. На 1–3-и сутки заболевания панкреатитом количество этих клеток увеличилось шестикратно: $1,46 \pm 0,88$ ($p < 0,05$). На 4–6-е сутки болезни в среднем по железе был выявлен их дальнейший значительный рост в 7,5 раза, что составило $11,08 \pm 3,15$ ($p < 0,05$). На 7–9-е сутки экспрессия CD68 выявлялась в среднем в $7,92 \pm 3,25$ клетках в поле зрения (уменьшение количества в 1,3 раза). На 10–16-е сутки от начала заболевания количество CD68-позитивных клеток составило $6,77 \pm 1,64$ (уменьшение в 1,1 раза) при $p < 0,05$.

Результаты исследования показали, что в первые трое суток острого панкреатита имеет место резкое (в 33 раза) возрастание количества клеток тканевого воспалительного инфильтрата, экспрессирующих ми-

елопероксидазу, что обусловлено увеличением в нем содержания нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов. Эти данные согласуются с современными представлениями о респираторном взрыве, характеризуя активацию нейтрофилов крови непосредственно в очаге воспаления. Этот процесс идет одновременно с активацией нейтрофилов в периферическом кровяном русле [2]. Снижение количества клеток, экспрессирующих миелопероксидазу, после седьмых суток может быть связано с депрессией фагоцитарной активности на фоне присоединившихся гнойных осложнений панкреатита. Увеличение количества Т-лимфоцитов и активированных В-лимфоцитов в воспалительном инфильтрате тканей поджелудочной железы относительно контрольной группы в первые шесть суток развития острого панкреатита обусловлено проявлениями разных форм иммунного ответа при прогрессировании воспалительного процесса.

Выраженный рост содержания в воспалительном инфильтрате CD68-позитивных клеток в первые шесть суток болезни может быть обусловлен усилением макрофагальной активности и фагоцитоза с максимальными показателями на 4–7-е сутки. Снижение их количества после седьмых суток связано с присоединением гнойных осложнений, снижением фагоцитарной активности макрофагов, что свидетельствует об отсутствии адекватного воспалительного ответа и может быть прогностическим фактором неблагоприятного течения заболевания.



Экспрессия иммуногистохимических маркеров клетками воспалительного инфильтрата в ткани поджелудочной железы

Таким образом, иммуногистохимическая идентификация лейкоцитов различных типов по их уникальным маркерным признакам выявила динамическое разнообразие клеточного состава и характера воспалительного инфильтрата ткани поджелудочной железы при остром панкреатите. Это проявляется значительным преобладанием в инфильтрате нейтрофильных лейкоцитов, а также отчетливой взаимосвязью их нарастания в зависимости от длительности прогрессирования острого панкреатита. Слабая выраженность лимфоцитарной инфильтрации, вероятно, обусловлена местным иммунодефицитом в условиях прогрессирующего воспалительного процесса с присоединением гнойных осложнений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аверкиев В. Л., Тарасенко В. С., Латышева Т. В., Проскуряков В. Е., Аверкиева Л. В. Изменения некоторых иммунологиче-

ских показателей при панкреонекрозе и их коррекция // Хирургия. – 2003. – № 5. – С. 31–34.

2. Барсуков А. В., Славинский А. А. Активность миелопероксидазы нейтрофилов периферической крови при остром панкреатите // Международный журнал экспериментального образования. – 2012. – № 7. – С. 97–98

3. Савельев В. С., Филимонов М. И., Бурневич С. З. Панкреонекрозы // Мед. информ. агентство. – 2008. – С. 258.

4. Семенова А. С. Характеристика синдрома системной воспалительной реакции в зависимости от фазы панкреонекроза // Санкт-Петербургские научные чтения: Материалы VI научно-практической конференции с международным участием. – СПб, 2004. – С. 83.

5. Семенова А. С. Возможности использования синдрома системной воспалительной реакции в диагностике инфекционных осложнений в различные сроки панкреонекроза // Актуальные вопросы военной медицины и военно-медицинского образования: Сб. науч. работ / Под общ. ред. В. А. Решетникова. – Саратов: СВМИ, 2004. – С. 92–93.

6. Филимонов М. И. и соавт. Роль препаратов соматостатина в комплексном лечении больных панкреонекрозом // Consilium medicum. Хирургия. – Приложение. – 2005. – № 1. – С. 69–71.

7. Bhatnagar A., Wig J. D. Expression of activation, adhesion molecules and intracellular cytokines in acute pancreatitis. – 2001. – Jul. 2, № 77 (3). – P. 133–141.

8. Frossard J. L., Steer M. L., Pastor C. M. Acute pancreatitis // Lancet. – 2008. – № 371. – P. 143–152.

9. Gutierrez P. T., Folch-Puy E., Bulbena O., Closa D. Oxidized lipids present in ascitic fluid interferes the regulation of the macrophages during acute pancreatitis, promoting an exacerbation of the inflammatory response // Gut. – 2008. – № 57. – P. 642–648.

10. Kylanpaa M. L., Mentula P. et al. Monocyte anergy is present in patients with severe acute pancreatitis and is significantly alleviated by granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and interferon-gamma in vitro // Pancreas. – 2005. – Jul. № 31 (1). – P. 23–72.

11. Oiva J., Mustonen H. Acute pancreatitis with organ dysfunction associates with abnormal blood lymphocyte signaling: controlled laboratory study // Crit. care. – 2010. – № 14 (6). – P. 207.

12. Pezzilli R., Billi P. Circulating lymphocyte subsets in human acute pancreatitis // Pancreas. – 1995. – Jul. № 11 (1). – P. 95–100.

13. Taku Tabata, Terumi Kamisawa. Differences between diffuse and focal autoimmune pancreatitis // World j. gastroenterol. – 2012. – May 7. № 18 (17). – P. 2099–2104. Autoimmune pancreatitis // World j. gastroenterol. – 2012. – May 7. № 18 (17). – P. 2099–2104.

14. Zhao X., Carnevale K. A., Cathcart M.K. Human monocytes use Rac1, not Rac2, in the NADPH oxidase complex // J. biol. chem. – 2003. – № 278. – P. 40788–40792.

Поступила 09.10.2012

А. В. БАРСУК, А. А. СЛАВИНСКИЙ

ФУНКЦИОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ЛЕЙКОЦИТОВ КРОВИ И НЕЙТРОФИЛЬНЫЙ ВОСПАЛИТЕЛЬНЫЙ ИНФИЛЬТРАТ ПРИ ОСТРОМ ПАНКРЕАТИТЕ

*Кафедра патологической анатомии Кубанского государственного медицинского университета,
Россия, 350089, г. Краснодар, ул. Седина, 4. E-mail: slavinsky@hotmail.ru*

Обнаружена зависимость интенсивности нейтрофильного воспалительного инфильтрата в поджелудочной железе от функционально-метаболической активности нейтрофильных лейкоцитов периферической крови в динамике острого панкреатита. Охарактеризованы разнонаправленные корреляционные связи между ними.

Ключевые слова: нейтрофильные лейкоциты, функционально-метаболическая активность, острый панкреатит, инфильтрация.

A. V. BARSUK, A. A. SLAVINSKY

BLOOD NEUTROPHIL LEUKOCYTES FUNCTIONAL-METABOLIC ACTIVITY AND NEUTROPHILIC INFLAMMATORY INFILTRATE IN ACUTE PANCREATITIS

*Department of pathologic anatomy of the Kuban state medical university,
Russia, 350089, Krasnodar, Sedin str., 4. E-mail: slavinsky@hotmail.ru*

Dependence of the neutrophilic inflammatory infiltrate intensity in the pancreas from peripheral blood neutrophils functional-metabolic activity at acute pancreatitis is discovered. Multidirectional correlations between them are described.

Key words: neutrophils, functional-metabolic activity, acute pancreatitis, infiltration.

Острый панкреатит – это тяжелый воспалительный процесс, вызванный химической травмой поджелудочной железы и действием активированных панкреатических ферментов, что приводит к аутолизу паренхимы органа и парапанкреатических тканей, сопровождается некрозом ацинарной ткани и жировой клетчатки, окружающей поджелудочную железу [12]. При остром панкреатите активированные ферменты поджелудочной железы выступают в качестве первичных факторов

агрессии, первоначально оказывая местное действие и только потом проникая в брюшинное пространство, брюшную полость, печень, кровоток, оказывают действие на системном уровне [3, 14].

Массивная воспалительная реакция с формированием нейтрофильного инфильтрата усугубляет тканевые повреждения не только секрецией провоспалительных цитокинов, но и экзотоксикозом нейтрофильными лейкоцитами лизосомальных ферментов и активных форм