

© С.В. Дорошкевич, 2011
УДК 616.37-006.2-089.82-089.168

С.В. Дорошкевич

СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПСЕВДОКИСТЫ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ ПОСЛЕ ЕЁ ОПОРОЖНЕНИЯ ПУТЕМ ПУНКЦИОННОЙ АСПИРАЦИИ (экспериментальное исследование)

Кафедра анатомии человека с курсом оперативной хирургии и топографической анатомии
(зав. — доц. В.Н. Жданович) УО «Гомельский государственный медицинский университет», Республика Беларусь

Ключевые слова: псевдокиста, поджелудочная железа, пункция, эксперимент.

Введение. В настоящее время возможности хирургического лечения псевдокист поджелудочной железы (ПЖ) пункционно-дренажным способом остаются предметом многочисленных дискуссий. Одни авторы считают, что пункционный способ является нерадикальным и опасным в плане развития осложнений [2], другие — называют указанное вмешательство методом выбора [1]. Отсутствие морфологических данных об изменениях псевдокисты после пункционной аспирации содержимого ее полости не позволяет полно оценить эффективность данного способа. Результаты проведенного экспериментального исследования нацеливают на совершенствование малоинвазивных хирургических вмешательств на ПЖ.

Материал и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 66 нелинейных белых крысах массой 160–180 г с соблюдением правил, предусмотренных Европейской комиссией по надзору за проведением лабораторных и других опытов с участием экспериментальных животных разных видов.

Моделирование псевдокисты ПЖ производили по оригинальной методике [5] с использованием криохирургического комплекса КСН 3А/В (фирма «Хирана», г. Брно), применяемого для местного замораживания тканей. Пункционное аспираторное содержимое полости псевдокисты выполняли на 14-е сутки после криовоздействия с соблюдением правил асептики и антисептики. Под эфирным наркозом производили лапаротомию. Для оптимизации манипуляций на ПЖ были использованы специально разработанные инструменты [3, 4]. В рану выводили селезеночный сегмент ПЖ вместе с саленником и селезенкой, а также псевдокисту. Рыхлые спайки осторожно разрушали и высвобождали псевдокисту. Выделив стенку псевдокисты, производили пункцию и аспирацию содержимого, после чего селезеночный сегмент ПЖ вместе с саленником, селезенкой и пунктированной псевдокистой погружали в брюшную полость. Рану наглухо ушивали.

Забой животных производили на 1-, 3-, 7-, 16-е и 31-е сутки после выполнения пункционного аспираторного содержимого полости псевдокисты. Для гистологического исследования брали опорожненную путем пункционной аспирации псевдокисту ПЖ, саму железу с парапанкреатической клетчаткой, брыжейку тонкой и толстой кишки, большой саленник.

Для количественной оценки и получения достоверных данных, характеризующих морфогенез псевдокисты ПЖ, использовали морфометрию, которую проводили на световом микроскопе Nikon eclipse E200 с применением программно-аппаратного комплекса, оснащенного цифровой видеокамерой Donpisha color vision 3CCD, с помощью компьютерной программы «Морфотест».

Полученные результаты обрабатывали с помощью пакета компьютерных программ статистического анализа «Microsoft Excel 2003» и «Statistica 6.0».

Результаты и обсуждение. Через 1 сут после опорожнения содержимого псевдокисты путем пункционной аспирации в брюшной полости экссудат не обнаружен. Определялся незначительный отек серозных оболочек. В парапанкреатической клетчатке выявлено подвижное, округлой формы образование, белесого цвета, мягко-эластичной консистенции. При гистологическом исследовании стенка псевдокисты состояла из двух слоев: наружного — более плотного, представленного оформленной соединительной тканью, и внутреннего — образованного грануляционной тканью. В наружном слое преобладали концентрически ориентированные волокнистые структуры. Выявлены различной степени зрелости фибробласты. Внутренний слой богат клеточными элементами, в нем преобладали нейтрофильные лейкоциты, макрофаги и фибробласты. В стенке псевдокисты определялись расширенные и полнокровные кровеносные сосуды, наибольшее их число содержалось во внутреннем слое. В полости псевдокисты имелась жидкость, которая содержала нейтрофильные лейкоциты, макрофаги и незначительное количество

Таблица 1

**Морфометрическая характеристика псевдокисты поджелудочной железы
после однократной пункционной аспирации содержимого ее полости (M±m)**

Сроки после пункционной аспирации содержимого полости псевдокисты, сут	Морфометрические параметры псевдокисты, мм				
	Диаметр кисты	Диаметр полости	Толщина стенки	Ширина наружного слоя стенки	Ширина внутреннего слоя стенки
1-е	5,88±0,02*** (8,72±0,02)	4,20±0,02*** (6,99±0,02)	0,84±0,02 (0,86±0,01)	0,41±0,01* (0,48±0,02)	0,43±0,01* (0,38±0,01)
3-и	5,52±0,02*** (8,94±0,02)	3,80±0,02*** (7,05±0,02)	0,86±0,01** (0,92±0,01)	0,51±0,03* (0,59±0,01)	0,35±0,01 (0,33±0,01)
7-е	5,36±0,02*** (9,01±0,03)	3,71±0,02*** (7,15±0,04)	0,83±0,01*** (0,93±0,01)	0,55±0,01*** (0,64±0,01)	0,28±0,01 (0,30±0,02)
16-е	4,85±0,01*** (9,03±0,01)	3,55±0,01*** (7,14±0,02)	0,65±0,01*** (0,95±0,01)	0,42±0,01*** (0,67±0,02)	0,23±0,02 (0,28±0,02)
31-е	4,71±0,01*** (9,03±0,01)	3,51±0,02*** (7,02±0,03)	0,60±0,01*** (1,01±0,01)	0,40±0,01*** (0,76±0,01)	0,20±0,01* (0,25±0,01)

Здесь и в табл. 2. Различия достоверны при сравнении с группой контроля (показателями псевдокисты, не подвергшейся опорожнению путем пункционной аспирации): * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$; 2) в скобках указаны морфометрические характеристики псевдокисты ПЖ, не подвергшейся опорожнению путем пункционной аспирации (группа контроля).

эритроцитов. Установлены морфометрические характеристики псевдокисты ПЖ (табл. 1, 2).

Анализ полученных данных позволил установить различия морфометрических параметров псевдокисты, подвергшейся и не подвергшейся опорожнению путем пункционной аспирации (группа контроля).

У псевдокисты через 1 сут после ее опорожнения путем пункционной аспирации в сравнении с псевдокистой, у которой не производилась пункционная аспирация содержимого ее полости, диаметр меньше на 32,6%. На 39,9% сократилась внутренняя полость. Толщина стенки уменьшилась на 2,3%. Ширина наружного слоя — меньше

на 14,6%, а внутреннего — больше на 13,2%. Количество нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов меньше соответственно на 10 и 4%, а макрофагов и фибробластов — больше на 3,9 и 0,2%. Спустя 3 сут диаметр псевдокисты уменьшился на 38,3%. Диаметр внутренней полости сократился на 46,1%. Толщина стенки уменьшилась на 6,5%. Ширина наружного слоя на 13,6% меньше, а внутреннего — на 6,1% больше в сравнении с контролем. Установлено различие в количестве клеток, изучаемых популяций, число нейтрофильных лейкоцитов и лимфоцитов уменьшилось соответственно на 30,7 и 4,4%, а

Таблица 2

Число клеток в 1 мм² стенки псевдокисты поджелудочной железы после однократной пункционной аспирации содержимого ее полости (M±m)

Сроки после пункционной аспирации содержимого полости псевдокисты, сут	Наименование клеточных популяций			
	Нейтрофильные лейкоциты	Макрофаги	Фибробласты	Лимфоциты
1-е	800±3*** (889±5)	566±2** (545±4)	411±4 (410±3)	120±2 (125±2)
3-и	540±3*** (779±4)	560±2*** (510±3)	490±4*** (431±4)	130±2 (136±3)
7-е	410±3*** (630±4)	510±5* (486±6)	561±4*** (451±5)	150±2 (143±3)
16-е	329±2*** (429±3)	470±3*** (561±4)	590±5*** (494±7)	161±4 (158±5)
31-е	280±3*** (362±4)	421±4 (434±5)	601±4*** (541±5)	171±2 (166±3)

макрофагов и фибробластов — увеличилось на 9,8 и 13,7%.

Псевдокиста, подвергшаяся пункционному аспирированию содержимого, спустя 7 сут имела меньшие на 40,5% диаметр и 48,1% внутреннюю полость. Толщина стенки стала меньше на 10,8%. Ширина наружного слоя уменьшилась на 14,1%, а внутреннего — на 6,7%. Количество нейтрофильных лейкоцитов уменьшилось на 34,9%. Число макрофагов, фибробластов и лимфоцитов возросло соответственно на 4,9, 24,4 и 4,9%.

Псевдокиста через 16 сут имела меньший на 46,2% диаметр и на 50,3% меньшую внутреннюю полость. Уменьшилась толщина стенки на 31,6% и ширина наружного и внутреннего слоев соответственно на 37,3 и 17,9%. Количество нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов уменьшилось соответственно на 23,3 и 16,2%, увеличилось число фибробластов и лимфоцитов — на 19,4 и 1,9%.

На 31-е сутки после однократной аспирации содержимого полости псевдокисты установлены ряд различий в сравнении опытной и контрольной групп. Уменьшился диаметр псевдокисты на 47,8%, а диаметр полости — на 50%. Толщина стенки уменьшилась на 40,6%. Ширина наружного слоя стала меньше на 47,4%, а внутреннего — на 20%. Уменьшилось на 22,7% количество нейтрофильных лейкоцитов и на 3% — макрофагов. Возросло на 11,1% число фибробластов и на 3% — лимфоцитов.

Пункционная аспирация содержимого полости псевдокисты приводит к структурным изменениям, для которых характерна определенная последовательность. Структурные изменения имеют три фазы: 1) контракция; 2) ремоделиция; 3) стабилизация.

Фаза контракции (первые 24 ч после опорожнения псевдокисты путем пункционной аспирации) характеризуется быстрым уменьшением диаметра и внутренней полости псевдокисты ПЖ. При контракции происходит концентрическое сжатие псевдокисты. Фактором контракции является наличие в стенке псевдокисты контрактильных фибробластов (миофибробластов) [8].

Число нейтрофильных лейкоцитов снижается, что обусловлено удалением содержимого псевдокисты, включающего физиологически активные вещества. Количество макрофагов в стенке псевдокисты после пункционной аспирации содержимого ее полости возрастает, что вызвано, вероятно, дегрануляцией тучных клеток [7].

Во время фазы ремоделиции (с 1-х по 16-е сутки) происходит реорганизация стенки псевдокисты ПЖ. Снижение механической нагрузки рецептируется клетками как сигнал к ослаблению биосинтеза коллагена и активации

коллагенолиза. Это обусловлено изменением пьезоэлектрических свойств коллагена [6], которые влияют на заряд наружных мембран клеток, а также наличием рецепторов к коллагену на поверхности клеток. На протяжении фазы ремоделиции диаметр и размеры полости меньше, чем в контрольной группе. Снижено число нейтрофильных лейкоцитов. Количество макрофагов на протяжении с 1-х по 7-е сутки больше, чем в контрольной группе, а к 16-м суткам уменьшается. Возрастает количество фибробластов, что обусловлено интенсивным процессом реорганизации соединительной ткани. С 7-х суток количество лимфоцитов увеличивается в сравнении с псевдокистой, не подвергавшейся пункционной аспирации. Увеличение числа лимфоцитов свидетельствует об усилении иммунного контроля за развитием соединительной ткани.

Нами установлено, что при ремоделиции в стенке псевдокисты ПЖ извитые, волнообразные коллагеновые пучки подвергаются набуханию, разрыхлению, истончению и исчезают в результате деятельности фибробластов. Одновременно образуются волокна и пучки, направление которых определяется функциональной нагрузкой.

В фазу стабилизации (с 16-х по 31-е сутки) диаметр и размеры полости псевдокисты меньше, чем в контрольной группе, тоньше наружный и внутренний слои псевдокисты, меньше толщина стенки в целом. Отмечается уменьшение числа нейтрофильных лейкоцитов и макрофагов в сравнении с контрольной группой, количество фибробластов и лимфоцитов больше, что свидетельствует о высоком уровне их функциональной активности.

Выводы. 1. Однократная пункционная аспирация содержимого полости псевдокисты вызывает уменьшение ее диаметра и внутренней полости и не завершается полной инволюцией.

2. Структурным изменениям псевдокисты поджелудочной железы после ее опорожнения путем пункционной аспирации характерны следующие фазы: контракции (первые 24 ч), ремоделиции (с 1-х по 16-е сутки) и стабилизации (с 16-х по 31-е сутки).

3. В стенке псевдокисты выявлено снижение количества нейтрофильных лейкоцитов, макрофагальной реакции и рост числа фибробластов и лимфоцитов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ачкасов Е.Е., Пугаев А.В., Харин А.Л. Пункционный метод в лечении постнекротических кист поджелудочной железы // Хирургия. — 2007. — № 8. — С. 33–37.
2. Данилов М.В., Федоров В.Д. Хирургия поджелудочной железы. — М.: Медицина, 1995. — 512 с.

3. Патент № 3979 Республика Беларусь. Криохирургический наконечник / С.В.Дорошкевич, Е.Ю.Дорошкевич.—Заявка № и20070286 от 18.04.2007 г.—Опубл. в Афіцыйны бюл.—2007.—№ 5.—С. 168.
4. Патент № 4891 Республика Беларусь. Пинцет / С.В.Дорошкевич, Е.Ю.Дорошкевич.— Заявка № и 20080372 от 07.05.2008 г.—Опубл. в Афіцыйны бюл.—2008.—№ 6.—С. 167.
5. Патент № 12268 Республика Беларусь. Способ моделирования псевдокисты поджелудочной железы / С.В.Дорошкевич, Е.Ю.Дорошкевич.—Заявка № а 20070428 от 30.12.2008 г.—Опубл. Афіцыйны бюл.—2009.—№ 4.—С. 160.
6. Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань.—М.: Медицина, 1981.—312 с.
7. Юрина Н.А., Радостина А.И. Морфофункциональная гетерогенность и взаимодействие клеток соединительной ткани.—М.: Изд-во УДН, 1990.—322 с.
8. Eddy R.J., Petro J.A., Tomasek J.J. Evidence for the nonmuscle nature of «myofibroblast» of granulation tissue and hypertrophic scar. An immunofluorescence study // Am. J. Physiol.—1988.—Vol. 130, № 2.—P. 252–260.

Поступила в редакцию 28.01.2011 г.

S.V.Doroshkevich

STRUCTURAL CHANGES OF THE PSEUDOCYST OF THE PANCREAS ARTERIES AFTER ITS EMPTYING BY PUNCTURAL ASPIRATION (EXPERIMENTAL INVESTIGATION)

Punctural aspiration of the contents of the pseudocyst cavity caused reduction of the diameter and internal cavity, but failed to result in its full involution. Structural changes in the pseudocyst wall developed from the following phases of the counteraction (first 24 hours), remodeling (from the 1st through 16th day) and stabilization (from the 16th day through the 31st day). Cellular reactions of its wall were characterized by a reduced number of neutrophil leukocytes, increased number of macrophages from the 1st through the 7th day and increased number of fibroblasts and lymphocytes as compared with the control group.