

Каніковський Олег Євгенійович,

доктор медичних наук, професор,
завідувач кафедри хірургії медичного факультету № 2,
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова
o.kanikovsky@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0002-9302-8760>
м. Вінниця, Україна

Павлик Ігор Васильович,

кандидат медичних наук,
доцент кафедри хірургії медичного факультету № 2,
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова
ipavlyk@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0003-2018-273X>
м. Вінниця, Україна

Пунько Юлія Анатоліївна,

аспірант кафедри хірургії медичного факультету № 2,
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова
julua9543@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0001-8056-6650>
м. Вінниця, Україна

Особливості патоморфологічних та імуногістохімічних змін тканини підшлункової залози у хворих на хронічний панкреатит

Вступ. Хронічний панкреатит (ХП) – це захворювання, що являє собою запалення паренхіми підшлункової залози (ПЗ) із подальшими прогресуючими незворотними морфологічними змінами, такими як заміщення здорової паренхіми ПЗ на фіброзну тканину. Саме тому однією з провідних патоморфологічних ознак при ХП є фіброз, який носить стадійний і перманентний характер внаслідок активації фібробластів, трансформації контрактильних міофібробластів в секреторні міофібробласти з подальшим порушенням стромально – епітеліальної клітинної взаємодії. Розшифровка і прогнозування відновлювальних процесів у зоні ураженого органу в основі своїй базується на результатах морфологічних досліджень. Роль та участь різних клітинних компонентів сполучної тканини у структурній перебудові паренхіми ПЗ залишається на сьогоднішній день до кінця не з'ясованою.

Метою дослідження стала – гісто- та імуногістохімічна оцінка кількісного складу сполучнотканинних елементів у хворих на хронічний панкреатит з різним ступенем фіброзу.

Матеріали та методи. Ступінь фіброзу ПЗ в нашому дослідженні оцінювали за Stolt (1987). Для оцінки морфологічних змін в ПЗ вивчали гістологічний матеріал хворих після проведеного оперативного втручання із приводу захворювання на хронічний панкреатит з подальшою фіксацією його в 10% розчині нейтрального формаліну. Препарати готували за стандартною методикою, гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм фарбували гематоксиліном і еозинном, пікрофуксином за ван Гізоном, трихромом за Масоном. Імуногістохімічні дослідження проводили непрямим імунопероксидазним методом з первинними антитілами і системою візуалізації DAKO EnVision + з діамінбензидіном («ДАКО», Данія) відповідно до стандартизованих протоколів для парафінових зрізів.

Результати досліджень та їх обговорення. Виявлена нами та іншими авторами морфологічна картина ХП, характеризувалася деформацією протокової системи, нервових стовбурів та судин на тлі фіброзування зі значною звивистістю та розширенням проток за рахунок перидуктального фіброзу з розширенням міжчасточкових фіброзних септ, потовщенням інтралобулярних сполучнотканинних тяжів, структурною перебудовою (ремодулюванням) з дисоціацією, дезорганізацією та дезінтеграцією пучків колагену. Дифузно розповсюджений міжчасточковий фіброз, що охоплював більшу частину часточок ПЗ, зазвичай поєднувався з внутрішньочасточковим септально-періацинарним фіброзом ПЗ, який характеризувався наявністю в часточках фіброзних септ різної товщини, а також ділянок концентричного періацинарного фіброзу.

Висновки. Перспектива глибокого аналізу і розуміння процесів стимуляції колагеногенезу та біодеградації у хворих на ХП може мати суттєвий вплив на розробку нових методів оперативної та консервативної корекції захворювання, а також дозволить переглянути вже існуючі тактики на предмет їх раціональності та ефективності.

Ключові слова: хронічний панкреатит, фіброз, патоморфологічні зміни, імуногістохімічні зміни.

Kanikovskiy Oleh Evheniyovych, MD, PhD, DSc, Professor, Head of Department of Surgery of Medicine Faculty №2, National Pirogov Memorial Medical University, o.kanikovsky@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0002-9302-8760>, Vinnytsia, Ukraine

Pavlyk Ihor Vasylovych, PhD (Med), Associate Professor, Associate Professor of Department of Surgery of Medicine Faculty №2, National Pirogov Memorial Medical University, ipavlyk@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0003-2018-273X>, Vinnytsia, Ukraine

Punko Yuliia Anatoliivna, PhD Student of Department of Surgery of Medicine Faculty №2, National Pirogov Memorial Medical University, julua9543@gmail.com, <https://orcid.org/0000-0001-8056-6650>, Vinnytsia, Ukraine

Characteristics of pathomorphological and immunohistochemical changes of the tissue of the pancreatic gland in patients with chronic pancreatitis

Introduction. Chronic pancreatitis (CP) is an inflammatory disorder of the pancreas with subsequent progressive irreversible morphological changes, such as the replacement healthy parenchyma of the pancreas by fibrous tissue. That is why one of the leading pathomorphological signs in CP is fibrosis, which has a staged and permanent character due to the activation of fibroblasts, the transformation of contractile myofibroblasts into secretory myofibroblasts with subsequent disruption of stromal-epithelial cell interaction. The key role of various cellular components of the connective tissue in the structural reorganization of the pancreatic parenchyma has not yet been fully established.

The aim of the study was histo- and immunohistochemical evaluation of the quantitative composition of connective tissue elements in patients with chronic pancreatitis with varying degrees of fibrosis.

Materials and methods. The degree of pancreatic fibrosis in our study was evaluated according to Stolt (1987). Histological material was studied with its fixation in a 10% solution of neutral formalin which helped to assess morphological changes in the pancreas. Preparations were prepared according to the standard method, histological sections with a thickness of 5–7 μm were stained with hematoxylin and eosin, van Gieson's picrofuchsin, Masson's trichrome. Immunohistochemical studies were performed by the indirect immunoperoxidase method with primary antibodies and the DAKO EnVision + imaging system with diamine benzidine (DAKO, Denmark) according to standardized protocols for paraffin sections.

Research results and their discussion. The morphological picture of chronic pancreatitis was characterized by deformation of the ductal system, nerve trunks and vessels against the background of fibrosis with significant tortuosity and ductal expansion due to periductal fibrosis with expansion of interlobular fibrous septa, thickening of intralobular connective tissue cords, structural rearrangement (remodulation) with dissociation, disorganization and disintegration of collagen bundles. Diffuse interlobular fibrosis, which covered most of the lobules of the pancreas, was usually combined with intralobular septal-periacinar fibrosis of the pancreas, which was characterized by the presence of fibrous septa of different thicknesses in the lobules, as well as areas of concentric periacinar fibrosis.

Conclusions. The perspective of deep analysis and understanding of the processes of stimulation of collagenogenesis and biodegradation in patients with chronic pancreatitis can have a significant impact on the development of new methods of operative and conservative correction of the disease.

Key words: chronic pancreatitis, fibrosis, pathomorphological changes, immunohistochemical changes.

Вступ. Однією з провідних патоморфологічних ознак при хронічному панкреатиті (ХП) є фіброз, який носить стадійний і перманентний характер внаслідок активації фіброblastів, трансформації контрактильних міофіброblastів в секреторні міофіброblastи з порушенням стромально-епітеліальної клітинної взаємодії. Розшифровка і прогнозування відновлювальних процесів у зоні ураженого органу в основі своєї базується на результатах морфологічних досліджень. Роль та участь різних клітинних компонентів сполучної тканини у структурній перебудові паренхіми підшлункової залози (ПЗ) залишається до кінця не з'ясованою.

Мета дослідження – гісто- та імуногістохімічна оцінка кількісного складу сполучнотканинних елементів у хворих на хронічний панкреатит з різним ступенем фіброзу.

Матеріали та методи дослідження. Ступінь фіброзу ПЗ в нашому дослідженні оцінювали за Stolt (1987) [1]. Дифузний або сегментарний фіброз поділяли за наступними ступенями: 1 ступінь – легкий фіброз (переважно навколо часточок); 2 ступінь – помірний фіброз (фіброз поширюється всередину часточок, сегментарний фіброз); 3 ступінь – висока ступінь фіброзу (зони внутрішньочасточкового фіброзу зливаються, утворюючи широкі поля фіброзу); 4 ступінь – тотальний фіброз: значна фіброзна реконструкція ПЗ з повною деструкцією екзокринної паренхіми (табл. 1).

Для оцінки морфологічних змін в підшлунковій залозі вивчали післяопераційний матеріал хворих,

що були прооперовані із приводу хронічного панкреатиту з подальшою фіксацією препаратів в 10% розчині нейтрального формаліну. Препарати готували за стандартною методикою, гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм фарбували гематоксилином і еозином, пікрофуксином за ван Гізоном, трихромом за Масоном [2, 3, 4]. Імуногістохімічні дослідження проводили непрямыми імунопероксидазним методом з первинними антитілами і системою візуалізації DAKO EnVision + з діамінбензидіном («DAKO», Данія) відповідно до стандартизованих протоколів для парафінових зрізів. Активовані ПЗК визначали з використанням моноклональних антитіл Мо a-Hu α Smooth Muscle Actin, Clone 1A4 («DAKO», Данія), для визначення клітинами експресії віментину застосовували моноклональні антитіла Мо a-Hu Vimentin,

CloneV9 Мікроскопію і фотографування гістологічних препаратів проводили за допомогою світлового мікроскопа OLIMPUS BX 41 при збільшеннях у 40, 100, 200 і 400 разів. Отримували і обробляли знімки, проводили морфометрію та статистичну обробку за допомогою програми «Quick PHOTO MICRO 2.3». Вміст клітинних елементів визначали з розрахунку на одиницю умовної площі (0,1 мм²). При виконанні морфометричних досліджень керувалися основними засадами, викладеними в керівництві Г.Г.Автанділова (2002).

Результати дослідження та їх обговорення. У 12.5% випадків з ХП виявляли легкий перилобулярний фіброз (1 ступінь за M. Stolte), який характеризувався розростанням сполучнотканинних волокон переважно навколо часточок, місцями з формуванням неповних інтралобулярних септ (рис. 1). Серед фіброblastів переважали малодиференційовані, юні форми і поодинокі міофіброblastи причому частина з них з дистрофічними змінами. Слід зазначити, що розростання сполучної тканини навколо проток та між часточками було мінімальне. Атрофія екзокринної тканини

Таблиця 1

Стадії фіброзу підшлункової залози за Stolt (1987)

1 ступінь	перилобулярний фіброз
2 ступінь	інтралобулярний фіброз
3 ступінь	зливні поля сполучної тканини
4 ступінь	субтотальний і тотальний фіброз

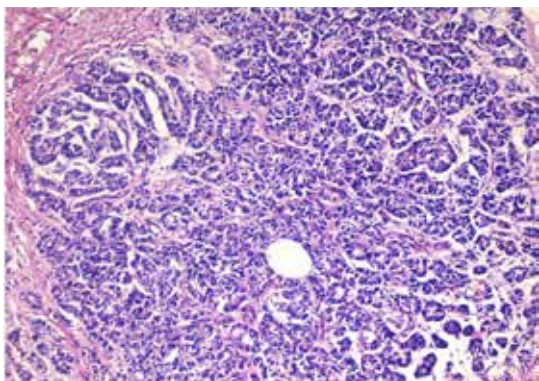


Рис. 1. Перилобулярний фіброз підшлункової залози з формуванням неповних інтралобулярних септ. 1 ступінь фіброзу ПЗ. Забарвлення гематоксилином та еозином, х 100

була незначною та зустрічалася у 20,5%, у дуктальній системі спостерігали дистрофічні зміни епітелію, розширення просвіту окремих протоків. У 75,5% хворих на ХП спостерігався перилобулярний фіброз з відсутністю атрофії ацинарного апарату ПЗ. При гістологічному дослідженні на фоні нормальних часточок з незміненими ацинусами, клітини яких багаті на зимоген, чітко визначалися часточки, де клітини ацинусів дисконкомплексовані, з незначною кількістю зимогену, гранули якого розташовуються в базальних відділах клітин, цитоплазма їх вакуолізована, багата ліпідами. Інкреторний відділ представлений острівцями Лангерганса, які розташовані між ацинусами. Острівкові альфа-клітини були малочисельні, локалізувалися переважно в периферичних відділах острівців.

Острівці Лангерганса в початкові строки страждали менше за екзокринну паренхіму. Можливо, їх більша толерантність пояснюється особливостями кровопостачання. Надалі в острівцях відбувається склероз, наростання кількості грубоволокнистої сполучної тканини.

Площа колагенових волокон з розрахунку на 1 мм² за даними морфометричного аналізу з використанням триколіорового забарвлення за Масоном в середньому складала 0,13±0,12 мм².

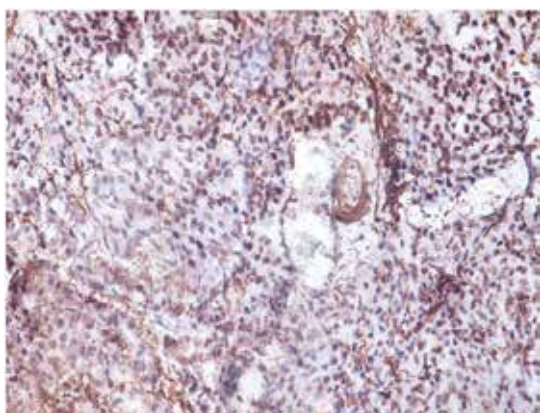


Рис. 2. Перилобулярна локалізація зірчастих клітин, що експресують α -SMA, позитивна реакція в стінці артеріоли та міжацинарного протоку. 1 ступінь фіброзу ПЗ. Імуногістохімічна реакція з α -SMA, х 200

Зірчасті панкреатичні клітини (ЗПК), що експресували α -SMA (гладком'язовий актин) були нечисельними та локалізувалися переважно в перилобулярних відділах навколо ацинусів, в стінках протоків та судин (рис. 2), аналогічне розташування займали й віментин-позитивні клітини (рис. 3).

Кількість α -SMA-позитивно забарвлених ЗПК при даному ступені фіброзу з розрахунку на 0,1 мм² становила 9,80±0,01, а віментин-позитивних ЗПК – 21,1±1,10 (табл. 2).

Другий ступінь фіброзу спостерігався у 11 % випадків та проявлявся формуванням фіброзної тканини, яка розповсюджувалася від перидуктальних зон, з поступовим заповненням міжчасточкового простору і проникненням всередину часточок, при цьому фіброзні септи повністю зросталися між собою з формуванням несправжніх часточок, що було добре помітно при забарвленні пікрофуксином за ван-Гізеном та за Масоном (рис. 4, 5).

При патогістологічному дослідженні строма залози у вигляді тонких прошарків сполучної тканини з помірно повнокровними кровоносними судинами, та периваскулярними осередковими крововиливами.

Периваскулярно визначалися малодиференційовані та юні фібробласти, що синтезують кислі глікозаміноглікани (ГАГ). У більш зрілих ділянках сполучної тканини розташовуються відростаті фібробласти з посиленою біосинтетичною активністю про що свідчить піронинофілія в цитоплазмі та значна кількість кислих ГАГ у міжклітинному матриксі, а також виражений фібрилогенез.

Екскреторний апарат був представлений різної величини та форми залозистими часточками між якими зустрічалися вивідні протоки різного калібру, вислані однорядним призматичним та кубічним епітелієм.

Ендокринна частина ПЗ характеризувалася наявністю панкреатичних острівців з дистрофічними змінами альфа- та бета-ендокриноцитів.

За даними імуногістохімічного аналізу кількість α -SMA – позитивних клітин, які розташовувалися переважно в перилобулярних відділах (рис. 6), достовірно

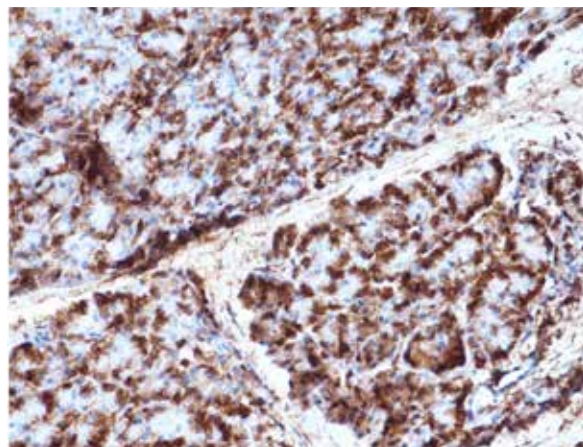


Рис. 3. Віментин-позитивні зірчасті панкреатичні клітини, серед ацинарних клітин. 1 ступінь фіброзу ПЗ. Імуногістохімічна реакція з віментином, х 200

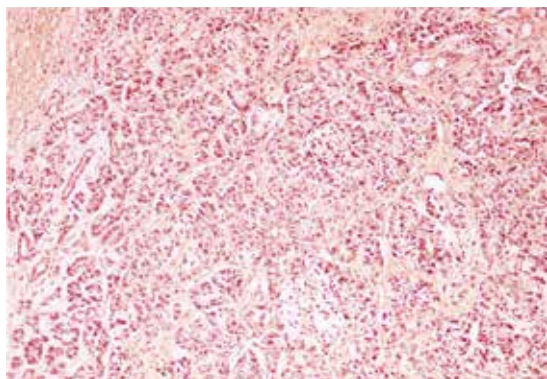


Рис. 4. Перилобулярний фіброз з формуванням несправжніх часточок, вогнищевий крововилив. 2 ступінь фіброзу ПЗ. Забарвлення за ван-Гізоном, x 200

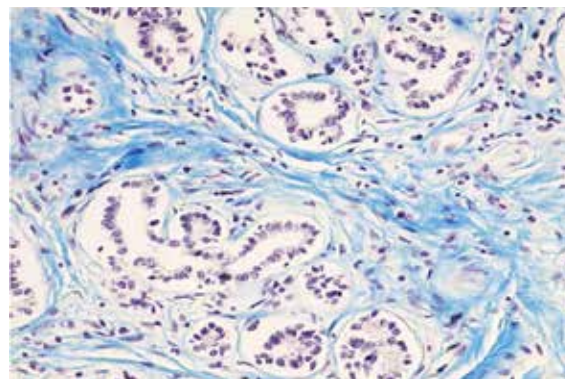


Рис. 5. Міжацинарне розростання сполучнотканинних волокон (синього кольору) з формуванням несправжніх часточок. 2 ступінь фіброзу ПЗ. Забарвлення за Масоном, x 400

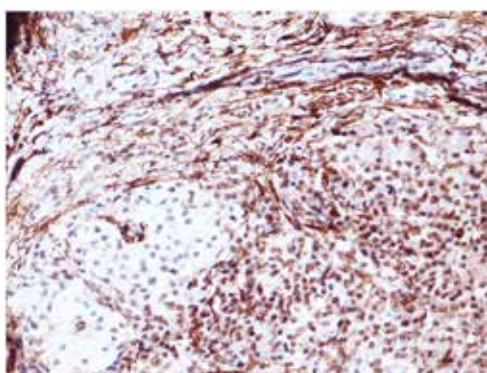


Рис. 6. Перилобулярна проліферація α -SMA – позитивних клітин. 2 ступінь фіброзу ПЗ. Імуногістохімічна реакція з α -SMA, x 200

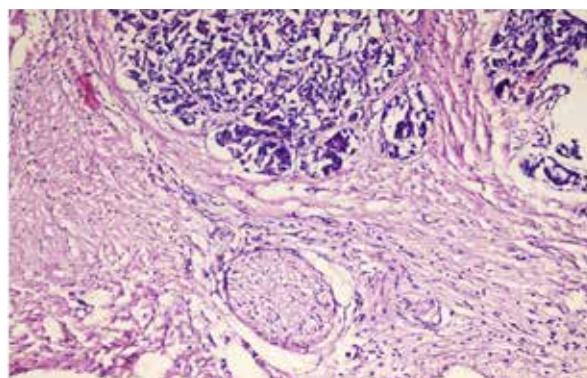


Рис. 7. Перилобулярний та інтрабулярний фіброз 3 ступеня. Вакуольна дистрофія міжчасточкового нерву. Забарвлення гематоксином та еозином, x 200

зростала ($p < 0,05$) у порівнянні з першим ступенем фіброзу (табл. 2), проте кількість віментин-позитивних клітин практично не змінювалася.

Площа колагенових волокон при другому ступені фіброзу ПЗ складала $0,35 \pm 0,02 \text{ мм}^2$.

У 72% випадків хворих на ХП спостерігалася повна атрофія частини часточок, на місці яких розташовані зливні поля щільної фіброзної тканини, що відповідало 3 ступеню фіброзу, з порушенням гістоархітекtonіки ПЗ, подекуди інтенсивними вогнищами хронічного запалення, гіпертрофією нервових волокон, інколи з вакуольною дистрофією нейроцитів (рис. 7).

Інсулярний апарат ПЗ складався з острівців, контури яких ставали нерівними та втрачали чіткість.

У 65% з них був виявлений виражений перидуктулярний і внутрішньочасточковий фіброз, лімфо-плазмочитарна перилобулярна інфільтрація з формуванням поодиноких лімфоїдних фолікулів, часто з домішками еозифільних лейкоцитів. Атрофія ПЗ при гістологічному дослідженні проявлялася різким зменшенням її часточок, наявністю дегенеративних змін в ацинарних клітинах та масивним розростанням сполучної тканини. Зустрічали апоптозно змінені клітини, які мали чіткі контури, еозинофільну цитоплазму та різко базофільні фрагменти ядра, часто з формуванням апоптозних тілець. Також, на цьому етапі фіброзної трансформації ПЗ відмічалися ознаки активного процесу формування тубулярних

Таблиця 2

Кількість SMA- та віментин-позитивних клітин на $0,1 \text{ мм}^2$ площі в залежності від ступеня фіброзу підшлункової залози

Ступінь фіброзу	Кількість клітин (M \pm m)	
	α -SMA (+)	Віментин (+)
1 ступінь	9,80 \pm 0,01	21,10 \pm 1,10
2 ступінь	24,50 \pm 1,59*	20,00 \pm 1,21
3 ступінь	41,40 \pm 2,01*	16,20 \pm 0,98*
4 ступінь	27,90 \pm 1,60*	12,20 \pm 0,71*

Примітка: * – $p < 0,05$ у порівнянні з 1 ступенем.

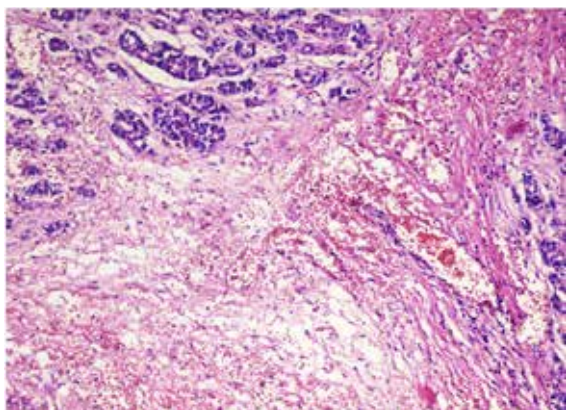


Рис. 8. Формування тубуло-острівцевих комплексів серед дифузного розростання сполучної та жирової тканини. Розширені та повнокровні венули, вогнищеві крововиливи та некроз. 3 ступінь фіброзу ПЗ. Забарвлення гематоксином та еозином, x 200

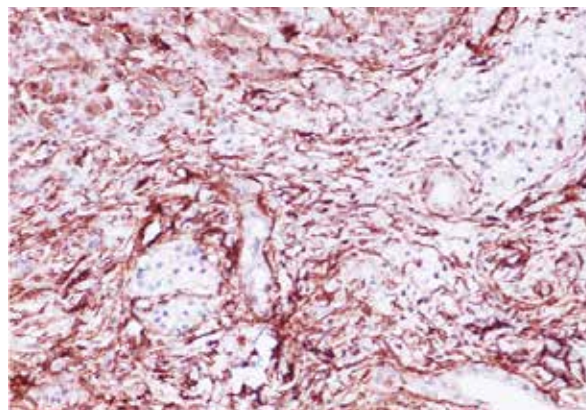


Рис. 10. Перилубулярна та перидуктальна проліферація α -SMA позитивних ЗПК. 3 ступінь фіброзу ПЗ. Імуногістохімічна реакція з α -SMA, x 200

комплексів, що часто займали місце зруйнованих часточок (рис. 8).

Фіброз ПЗ розвивався як за рахунок огрубіння й розширення міжчасточкових септ, розростання колагенових волокон із їх складу між ацинусами з утворенням псевдочасточок, так і за рахунок збільшення кількості внутрішньочасточкової сполучної тканини, що супроводжувала дрібні судини та була добре помітна при використанні гістохімічної реакції за Масоном (рис. 9).

Морфометричне дослідження виявило збільшення площі колагенових волокон до $0,66 \pm 0,01 \text{ мм}^2$ та зростання і посилення кількості α -SMA позитивних ЗПК (рис. 10) до $41,40 \pm 2,01$, попри зменшення кількості клітин, що експресували віментин – $16,20 \pm 0,98$ (див. табл. 2).

Колагенізація перидуктального простору зростала та за даними морфометричного аналізу площа сполучної тканини при 3 ступені фіброзу складала $0,66 \pm 0,01 \text{ мм}^2$.

Розлади мікоциркуляції проявлялися у вигляді гемата лімфостазу, набряку ендотеліоцитів та потовщення базальних мембран, набряку периваскулярної тканини

та діapedезних крововиливів – екстравазатів. Виникала десквамація ендотеліоцитів у капілярах, венулах та артеріолах, стаз та аглютинація еритроцитів, просвіти окремих судин були розширені, деяких навпаки звужені за рахунок спадання стінок, в окремих зберігалися ознаки плазматичного просякнення та фібриноїдного некрозу, в інших гіалінозу.

Ознаками підвищеної проникності судинних стінок були значний периваскулярний набряк, вихід з просвітів судин сегментоядерних нейтрофілів та еритроцитів. Артерії втрачали округлість просвіту, еластичні мембрани утворювали глибокі згини, м'язово-еластичні елементи середньої оболонки піддавалися переорієнтації та мали тенденцію до хаотичного розташування з появою серед них фібробластів (рис. 11).

Навколо судин та протоків колагенові волокна були рихлі і являли собою сіткоподібні утворення з паралельними та переплітаючимися між собою пучками та клубками. Компактно розташовані потовщені колагенові волокна в зоні некрозу були еозинофільні, місцями гіалінізовані, що було добре помітно при забарвленні за ван Гізеном. Тут же присутні скупчення судин капілярного типу, навколо яких визначаються поодинокі лімфоцити та лейкоцити.

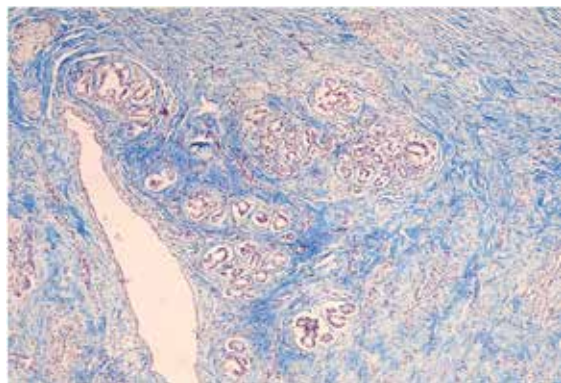


Рис. 9. Поля фіброзної тканини (синього кольору), формування псевдочасточок, перидуктальний, периваскулярний фіброз. 3 ступінь фіброзу ПЗ. Забарвлення за Масоном, x 100

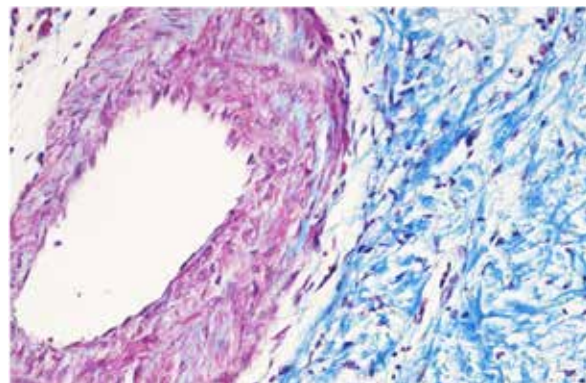


Рис. 11. Потовщена артеріальна стінка за рахунок появи фібробластів, периваскулярний склероз (синього кольору). 3 ступінь фіброзу ПЗ. Забарвлення за Масоном, x 400

Сполучнотканинні волокна були направлені в основному циркулярно навколо ацинусів; фібробласти присутні в значній кількості, але розташовані здебільшого неупорядковано. Острівки Лангерганса були оточені значними прошарками пухкої сполучної тканини, яка фарбувалася в синій колір та була інфільтрована лімфоцитами, сегментоядерними нейтрофілами та чисельними еозинофілами. Це наочно виявлялось у гістологічних препаратах, що були забарвлені за методом Масона (рис. 12).

У вогнищах панкреонекрозу виявлено наявність сполучнотканинного регенерату, що включає велику кількість клітин фібробластичного ряду, макрофаги, лімфоцити, зернисті лейкоцити. Відмічено розростання фібробластів у вигляді вузьких безперервних і розгалужених тяжів. У нервових стовбурах, як правило, визначалися дистрофічні зміни у вигляді набухання та зморщування, хроматолізу, пікнозу та гіперхромії ядер нервових клітин.

При четвертому ступені фіброзу реєстрували значне розростання сполучнотканинних волокон з формуванням полів склерозу, що супроводжувалося практично повним зникненням паренхіми залози, місцями з перидуктальними крововиливами, осередками некрозу та лімфоцитарної інфільтрації, пучки фіброзної тканини здавлювали стінки артерій, артеріол, протоків, нервів з деформацією останніх та руйнуванням периневрію (рис. 13, 14), заміщення ацинарної тканини відбувалося за рахунок фіброзної трансформації – ЗПК у міофібробласти та фібробласти з розвитком тотального фіброзу і ліпоматозу.

Стиснення та деформація безмієлінових нервових волокон супроводжувалася больовим синдромом. Міжчасточкові протоки у 80% випадків хворих на ХП з четвертим ступенем фіброзу ПЗ мали розширений просвіт, що свідчило про порушення дренажної функції залози. Виявлялися виражені дистрофічні зміни та десквамація епітелію у просвіт протоків, які, у свою чергу, значно деформувалися на певних ділянках з розростанням

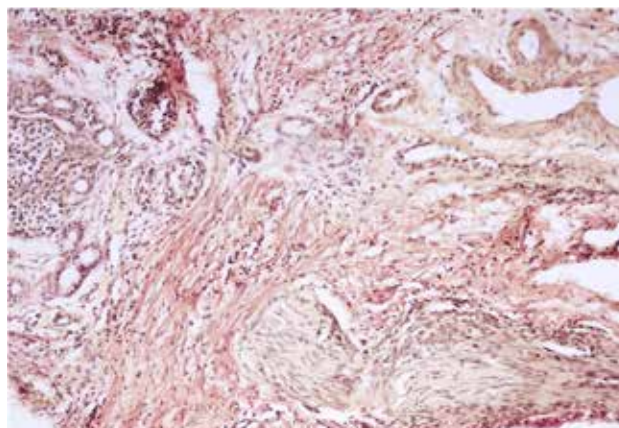


Рис. 13. Дифузне розростання сполучнотканинних волокон з деформацією артеріол, артерій, міжчасточкового нерва. Формування тубуло-острівцевих комплексів. 4 ступінь фіброзу ПЗ. Забарвлення гематоксиліном та еозином, x 200

перифокальної сполучної тканини, що добре реєструвалося на препаратах, котрі були забарвлені пікрофуксином за ван Гізоном (рис. 15).

При гістохімічному фарбуванні зрізів за Масоном відмічався інтенсивний колагеногенез з тенденцією до збільшення кількості грубих пучків (рис. 16).

Целюлярність колагенових пучків прогресивно зменшилась, що підтверджувалося даними імуногістохімічного аналізу, який виявив при даному ступені фіброзу достовірне зниження як α -SMA-позитивних ЗПК – $27,90 \pm 1,60$, так і віментин позитивних – $12,20 \pm 0,71$ ($p < 0,05$ у порівнянні з першим ступенем фіброзу, див. табл. 2), що на нашу думку пов'язано з декомпенсацією та збільшенням кількості щільних сполучнотканинних волокон (рис. 17, 18, див. табл. 2). Площа останніх при даному ступені фіброзу складала $0,87 \pm 0,05$ мм².

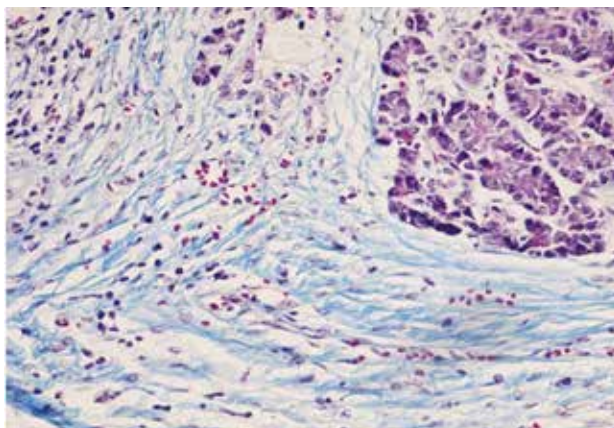


Рис. 12. Циркулярне розростання сполучної тканини (синього кольору навколо острівка Лангерганса) з руйнуванням протоків та інфільтрацією лімфоцитами, сегментоядерними нейтрофілами та еозинофілами. 3 ступінь фіброзу ПЗ. Забарвлення за Масоном, x 200

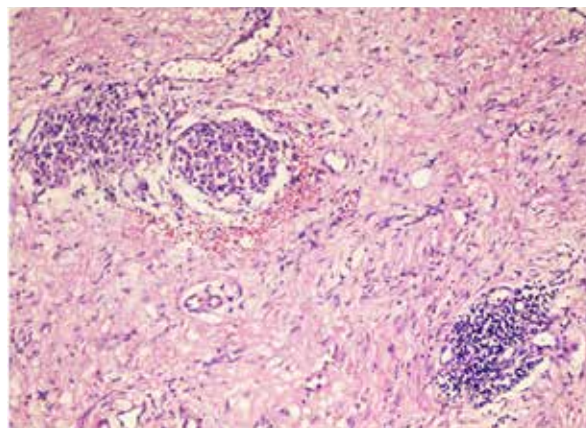


Рис. 14. Проліферація міофібробластів з формуванням широких полів фіброзної тканини, атрофія острівців, осередок хронічного запалення з формуванням лімфоїдного фолікула. 4 ступінь фіброзу ПЗ. Забарвлення гематоксиліном та еозином, x 200

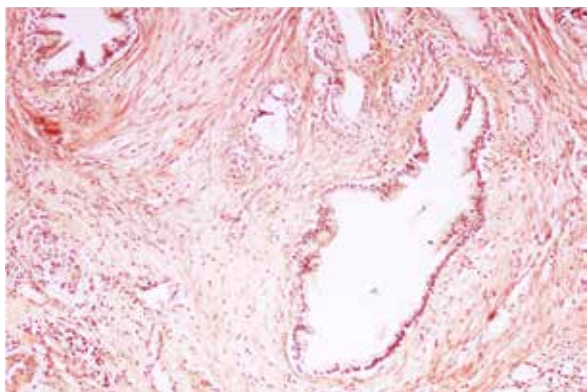


Рис. 15. Перидуктальне розростання сполучної тканини, кістозно розширені просвіти міжчасточкових протоків з дистрофічними змінами епітелію. 4 ступінь фіброзу ПЗ. Забарвлення за ван-Гізоном, х 200

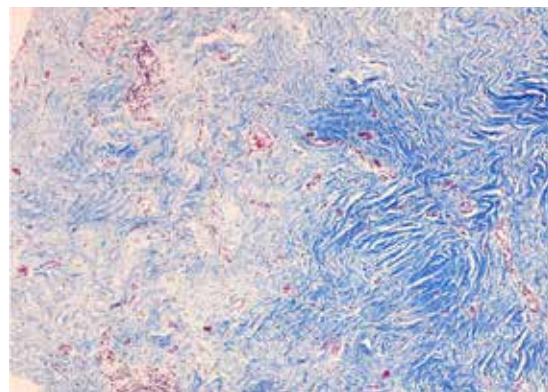


Рис. 16. Паренхіма підшлункової залози повністю заміщена грубими пучками колагенових волокон (синього кольору). 4 ступінь фіброзу ПЗ. Забарвлення за Масоном, х 100

Частина проток була зруйнована пухкою фіброзною тканиною. У товщі фіброзних септ, а також навколо міжчасточкових і дрібних внутрішньочасточкових проток спостерігалася дифузна або вогнищева запальна клітинна інфільтрація. Серед полів фіброзної тканини та залишків часточок розташовувалися інсулярні островці різного розміру в основному з порушеною гістоархітектонікою.

У паренхімі серед ацинарної тканини спостерігалося формування тубулярних та тубуло-острівцевих комплексів, які склалися із дрібних проліферуючих протоків з метапластичними та диспластичними змінами епітелію. Кількість островців Лангерганса значно зменшена, вони овальної або неправильної форми, оточені сполучнотканинною капсулою, яка зливається з проміжною сполучною тканиною. В окремих випадках вони були представлені у вигляді груп дрібних клітин, які погано обмежені від сусідньої тканини. Окремі островці компенсаторно гіпертрофовані. В альфа- та бета-ендокриноцитах знаходили дегрануляцію цитоплазми з гідропічною дистрофією, такі клітини мали світлу – «пусту» цитоплазму, в якій гранули заміщені вакуолями. У 49% випадків відмічали гіаліноз остров-

ців з субендотеліальним відкладанням гомогенного ацидофільного гіаліну. Одночасно з гіалінозом спостерігалася і жирова інфільтрація бета-клітин.

З боку судинного русла відмічалася виражена перебудова як артеріальних так і венозних судин у вигляді перекалібровки їх просвіту за рахунок склерозу. У міжчасточкових артеріолах поряд з гіалінозом стінок спостерігали виражений склероз зі звуженням просвіту судин. Лейкодіapedез при даному ступені фіброзу ПЗ був незначний. Більшість нейтрофільних поліморфно-ядерних лейкоцитів морфо-функціонально збережені, частина з них знаходяться у стані лейкоклазії. Периваскулярні колагенові волокна характеризувалися неоднорідною товщиною.

В розширених протоках виявляли еозинофільний секрет з формуванням білково-слизових пробок, десквамацією призматичного епітелію. У фіброзованій стромі реєстрували помірну кількість лімфоцитів, плазмощитів та макрофагів, осередки жирового некрозу. Поряд із дифузним склерозом спостерігали надлишкове розростання жирової тканини, яка заповнювала як прошарки між часточками, так і вросла всередину часточок. Між жировими клітинами реєструвалися

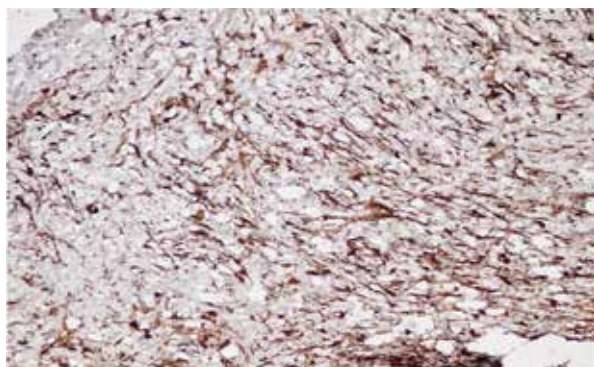


Рис. 17. Зменшення α -SMA-позитивних зірчастих панкреатичних клітин та збільшення колагенових волокон, у хворого на хронічний панкреатит, 4 ступінь фіброзу ПЗ. Імуногістохімічна реакція з α -SMA, х 200

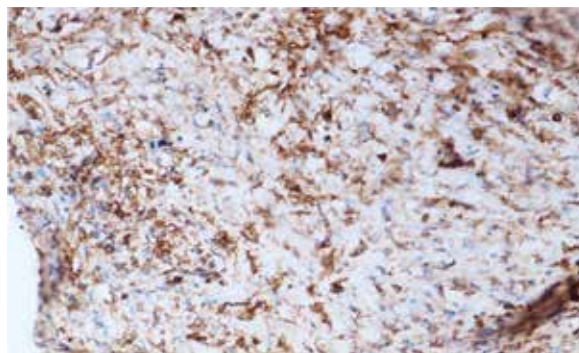


Рис. 18. Поодинокі віментин-позитивні клітини у хворого з хронічним панкреатитом, 4 ступінь фіброзу ПЗ. Імуногістохімічна реакція з віментином, х 200

досить численні як грубі, так і більш тонкі сполучнотканинні волокна.

Обговорення. Виявлена нами та іншими авторами морфологічна картина ХП, [5] характеризувалася деформацією протокової системи, нервових стовбурів та судин на тлі фіброзування зі значною звивистістю та розширенням проток за рахунок перидуктального фіброзу з розширенням міжчасточкових фіброзних септ, потовщенням інтралобулярних сполучнотканинних тяжів, структурною перебудовою (ремодулюванням) з дисоціацією, дезорганізацією та дезінтеграцією пучків колагену. Дифузно розповсюджений міжчасточковий фіброз, що охоплював більшу частину часточок ПЗ, зазвичай поєднувався з внутрішньочасточковим септально-періацинарним фіброзом ПЗ, який характеризувався наявністю в часточках фіброзних септ різної товщини, а також ділянок концентричного періацинарного фіброзу, що збігається з даними [6].

За тривалого перебігу ХП при 3 та 4 ступенях фіброзу ПЗ в перидуктальному просторі реєструється виражена колагенізація з наявністю грубоволокнистої сполучної тканини та практично повною відсутністю паренхіматозного компоненту. Це може дати об'єктивне обґрунтування доцільності застосування тих чи інших медикаментозних засобів на даному етапі ремодулювання ПЗ.

В теперішній час значний прогрес у розумінні процесів фіброзу у ПЗ пов'язаний з ідентифікацією, ізоляцією та описом панкреатичних зірчастих клітин (ПЗК) у 1997 році [7, 8, 9].

Відомо, що 90% активованих ПЗК експресують цитоскелетний α -гладком'язовий актин (α -SMA), тому α -SMA використовується в якості головного маркера активованих ПЗК і зірчастих міофібробластів [6].

Базуючись на результатах багатьох досліджень *in vivo* та *in vitro*, екстрацелюлярні фактори, що викликають активацію ПЗК можуть бути розділені на дві головні групи: цитокіни/ростові фактори та етанол з його метаболітами [7]. У нормі зірчасті клітини перебувають у стані спокою, проте низка патогенних факторів (віруси, холестаз, токсини, механічний стрес тощо) викликають їхнє перетворення в активну форму – міофібробласти. Найбільш істотними факторами активації зірчастих клітин є профіброгенні цитокіни, в першу чергу, трансформуючий фактор росту- β (TGF β) [10]. За нашими даними, які узгоджуються з працею [8]. ПЗК, що знаходяться у стані спокою характеризувалися в основному синтезом віментину на відміну від активованих клітин в яких ми ідентифікували переважно α -SMA.

Також, слід зазначити, що ПЗК можуть регулювати ремодулювання екстрацелюлярного матриксу під час відновлення тканини ПЗ шляхом продукування протеаз, що руйнують екстрацелюлярний матрикс та їх інгібітори, таких як тканний інгібітор металопротеїнази 1 [7]. Хронічне запалення може сприяти постійній активації ПЗК за допомогою паракринних тригерів або ж аутокринним шляхом навіть при їх відсутності, приводячи до фіброзу органу. Прогресування репаративного фіброзу або затримка фібрилогенезу із змінами архітектури органу, збільшенням вмісту колагену і фіброзної тка-

нини в позаклітинному матриксі може визначатися як ремодулювання.

Основною мішенню тканинної реконструкції є паренхіматозні елементи ПЗ. За нашими результатами поряд з прискореним фібрилогенезом, досить важливим є якісні показники колагенових волокон, а також ступінь фіброзу, який краще визначається при застосуванні додаткових гістохімічних методів забарвлення (за Масоном та ван-Гізеном).

Під час розвитку запальної відповіді мезенхімальні клітини, що включають міофібробласти, фібробласти та інші, традиційно розглядають як структурні компоненти, що заповнюють простір між функціонально більш важливими клітинами, проте, згідно з деякими останніми дослідженнями, ці клітини можуть також продукувати прозапальні цитокіни [11] і вступати у взаємодію з Т-лімфоцитами і еозинофілами. На додаток до секреції продуктів запалення мезенхімальні клітини здатні модулювати імунні функції інших клітин і тим самим безпосередньо впливати на тривалість запального процесу. Поряд з цим того ушкодження периневрію виникає також в результаті лімфоцитарної інфільтрації навколишньої тканини [12]. У нашому дослідженні у більшості пацієнтів ми спостерігали лімфоцитарну інфільтрацію паренхіми ПЗ з домішками еозинофілів та формуванням лімфоїдних фолікулів, що підтверджує вищезазначені тези. На тлі зменшення активності запалення фібробласти залишаються активними і позаклітинно-матриксний компонент відкладається постійно у зростаючій кількості, що веде до розвитку фіброзу, збільшенню колагену, порушення органної архітектури і функції ПЗ.

Вирішення питань та морфогенетичних механізмів структурної перебудови ПЗ має практичне значення, так як розуміння сутності патологічного процесу при фіброзі підшлункової залози визначає раціональну тактику лікування хворих та відповідно й наслідки захворювання. Правильне розуміння особливостей, властивих кожному типу клітин, що беруть участь у відновних процесах, забезпечує успіх у виборі методу лікування і дозволяє оптимізувати перебіг регенераторного процесу [13].

Клітини імунної системи відіграють важливу роль у забезпеченні відновлення пошкоджених структур органу. Лімфоцити здатні виробляти лімфокіни, інгібуючі або стимулюючі проліферацію і функціональну активність фібробластів, що реалізується у поступовому формуванні та дозріванні сполучної тканини [14]. Відновлення ушкодженої паренхіми ПЗ в умовах запальної реакції, що характеризується десинхронізацією фаз запалення і регенерації проявляється пролонгацією запальних змін на тлі ослабленої макрофагальної реакції і розладів системи мікроциркуляції. Розлади мікроциркуляції є одним з ключових патогенетичних факторів, що ведуть до пролонгації і сповільнення запальних процесів, гальмування репарації, виникнення вторинних некротичних змін.

У зв'язку з пошкодженням ауторегуляторних механізмів відновлення, різкого розладу мікроциркуляторного русла, медіаторної і контактної взаємодії клітин, порушується взаємозв'язок між пошкодженням, запаленням

ленням, регенерацією і фіброзом, що веде до утворення «порочного кола», при якому персистує пошкодження (некроз) веде до хронічного запалення, останнє до незавершеної регенерації, та в свою чергу до прогресуючого склерозу, а неповноцінна фіброзна тканина схильна до вторинного некрозу. «Порочне коло» патологічних взаємозв'язків замикається, формуючи нову патологічну систему, що виходить, певною мірою, з-під регулюючого впливу організму [15].

З'ясування точних механізмів, контролюючих трансформацію фенотипу ПЗК, – одне з найбільш важливих питань, що розробляються щодо зірчастих клітин в останні роки. Ідентифікація внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, які опосередковують ефекти ПЗК, дозволить знайти способи впливу на них, щоб попередити або перервати активацію ПЗК або фіброгенез [16].

За результатами нашого дослідження кількісний морфологічний аналіз вираженості склеротичних змін у перидуктальній тканині виявляє значне переважання площі експресії сполучнотканинного компонента у хворих на ХП та дозволяє об'єктивно оцінити ступінь фіброзу з використанням додаткових методів дослідження.

Отже, за даними нашого дослідження структурна перебудова ПЗ при ХП характеризувалася проліферацією активованих ПЗК з їх трансформацією у міофібробласти, стимуляцією синтезу та накопичення компонентів екстрацелюлярного матриксу, що підтверджувалося зростанням площі колагенових волокон відповідно ступеня важкості фіброзу. При цьому кількість віментин-позитивних клітин зменшувалася на 3 та 4 стадії фіброзу, що може свідчити про декомпенсацію регенераційних можливостей тканини ПЗ та її виснаження результатом якого є ремоделювання з депаренхіматизацією, тобто практично повним зникненням

функціонально активної паренхіми при четвертому ступені фіброзу.

Використані у нашій роботі гістохімічні дослідження та імуногістохімічні маркери (α -SMA та віментин) можуть слугувати одним з диференціально-діагностичних критеріїв фіброгенезу та застосовуватися при оцінці ступеня фіброзу ПЗ.

Висновки.

1. Ключова роль у процесі фіброгенезу підшлункової залози належить активованим зірчастим панкреатичним клітинам, оскільки вони є головним джерелом протеїнів позаклітинного матриксу і тканинних колагеназ.

2. Посилення експресії α -SMA – гладком'язового актину може слугувати маркером активованих ПЗК, в той час як експресія віментину характерна для ПЗК, що знаходяться у стані спокою.

3. Встановлено, що розвитку важкого фіброзу ПЗ сприяє проліферація і збільшення кількості α -SMA-активованих зірчастих клітин (від $9,80 \pm 0,01$ при першому ступені фіброзу до $41,40 \pm 2,01$ при третьому), що синтезують надлишок компонентів волокнисто-молекулярного матриксу зі збільшенням площі колагенових волокон до $0,87 \pm 0,05$ мм² при четвертому ступені фіброзу.

4. Четверта ступінь фіброзу підшлункової залози характеризується декомпенсацією функціонально активної частини паренхіми ПЗ з ремоделюванням органу за рахунок повного заміщення сполучнотканинними волокнами.

Перспектива глибокого аналізу і розуміння процесів стимуляції колагеногенезу та біодеградації у хворих на ХП може мати суттєвий вплив на розробку нових методів вікової та лікувальної корекції, а також дозволить переглянути вже існуючі тактики на предмет їх раціональності та ефективності.

ЛІТЕРАТУРА

1. Stolte M. Chronische Pancreatitis. *Verh.Dtsch. Ges. Path*; 1987; Vol. 71; 175–186.
2. Avtandilov GG. *Osnovy kolichestvennoj patologicheskoy anatomii*. M.: Medicina; 2002; 240.
3. Golofeevskij VJu. Sochetannaja okraska gistologicheskikh srezov osnovnym korichnevym i prochnym zelenym . *Arhiv anatomii, gistologii i jembriologii*; 1987; 4:101.
4. Sapozhnikov AG. *Gistologicheskaja i mikroskopicheskaja tehnika*. Smolensk: SAU. 2000; 476.
5. Miheev JuA. Strukturnaja transformacija protokovoj sistemy. № 4. T. 51. *Gastroenterologija*. 2017; 237–245.
6. Tumanskij VA. Kovalenko IS. Tjazhelyj fibroz. *Patologija*. 2013; 1 (27): 27–30.
7. Sirenko OJu. *Morfologija*. 2010.
8. Ran Xue. A Rising Star in Pancreatic Diseases. *Front Physiol*. 2018.
9. Tanaka K. Significance of histopathological evaluation of pancreatic fibrosis to predict postoperative course after pancreatic surgery. *Anticancer Res*; 2015.
10. Kanjuka OP. Okremi biohimichni pokazniki sirovatki krovi mishej z nokautom gena pttg. Tom 5/№3. *Є Biologichni Studii/ Studia Biologica*. 2011; 41–48.
11. Pancreatic Satellite Cells Derived Galectin-1 Increase the progression Dong *TangPLoS One*. 2014; 9(3).
12. Klopova VA. Samsonova IV. Vlijanie vospalenija na harakter jekspressii nejrofilamenta v podzheludochnoj zheleze pri hronicheskom pankreatite. Tom 21 (1). *Novosti hirurgii*. 2013; 29–35.
13. Alekseeva NT. Gluhov AA., Ostroushko AP. Rol' kletok fibroblasticheskogo differona v processe zazhivlenija ran. Tom V, №3. *Bulletin of experimental and clinical surgery*; 2012; 601–607.
14. Haiyan Song. Regulation of pancreatic stellate cell activation by Notch3. *BMC Cancer*; 2018; 18: 36.
15. Serov VV. Paukov VS. *Vospalenie*. M: Medicina; 1995; 640.
16. Mozhejko LA. Pankreaticheskie zvezdchatye kletki: struktura i funkcija. T. 2, № 2. *Gepatologija i gastrojnterologija*. 2018; 111–115.