

ISSN 1814-6023 (Print)
ISSN 2524-2350 (Online)

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

УДК 616.37-002:611.37
<https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-4-391-404>

Поступила в редакцию 08.02.2018
Received 08.02.2018

**А. В. Воробей, А. Ч. Шулейко, Т. Э. Владимирская, И. А. Швед,
Е. И. Вижинис, М. Ю. Макки**

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск, Республика Беларусь

ГИПОКСИЯ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ ФИБРОЗА ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ПАНКРЕАТИТЕ

Аннотация. Патогенез хронического панкреатита (ХП) и болевого синдрома до конца не изучен. Цель исследования – оценить взаимосвязь фиброзных изменений паренхимы поджелудочной железы (ПЖ), ее гипоксии и панкреатической протоковой гипертензии в патогенезе ХП.

В проспективном исследовании проведено морфологическое, иммуногистохимическое изучение препаратов ПЖ, интраоперационно изучены показатели тканевой оксиметрии и панкреатического протокового давления у 40 пациентов, оперированных по поводу ХП.

Установлено, что по мере прогрессирования фиброзных изменений в ткани ПЖ пациентов с ХП отмечаются увеличение экспрессии TGF- β 1 ($p < 0,001$), рост количества панкреатических звездчатых клеток ($r = 0,32$, $p < 0,05$), снижение содержания гликогена (маркера гипоксии). При интраоперационном прямом измерении наблюдаются высокие показатели внутрипротокового давления: 34,2 (26,6; 45,3) мм рт. ст., снижение оксигенация ткани ПЖ, которые коррелируют со степенью фиброза.

Ткани ПЖ при ХП испытывают хроническую гипоксию, связанную с фиброзом и панкреатической протоковой гипертензией. В свою очередь, вторичная ишемия ПЖ может быть значимым фактором в прогрессировании фиброза и хронического болевого синдрома при ХП.

Ключевые слова: хронический панкреатит, фиброз поджелудочной железы, гипоксия поджелудочной железы, панкреатическое протоковое давление, звездчатые клетки

Для цитирования: Гипоксия поджелудочной железы в патогенезе фиброза при хроническом панкреатите / А. В. Воробей [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. мед. навук. – 2018. – Т. 15, № 4. – С. 391–404. <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-4-391-404>

A. V. Varabei, A. Ch. Shuleika, T. E. Vladimirskaia, I. A. Shved, Y. I. Vizhinis, M. Y. Makki

Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education, Minsk, Republic of Belarus

HYPOXIA OF PANCREAS IN PATHOGENESIS OF FIBROSIS IN CHRONIC PANCREATITIS

Abstract. The pathogenesis of chronic pancreatitis and pain syndrome had not been fully studied. The aim of the study was to evaluate the interrelation of fibrotic and ischemic changes in the parenchyma of pancreas, and pancreatic duct pressure in the pathogenesis of chronic pancreatitis.

In a prospective study, a morphological, the immunohistochemical study of pancreatic preparations was performed, and the indicators of tissue oximetry and pancreatic duct pressure were studied intraoperatively in 40 patients operated for chronic pancreatitis.

It was found that with the progression of fibrotic changes in the pancreatic tissue of patients with chronic pancreatitis, there was an increase in TGF- β 1 expression ($p < 0.001$), an increase in the number of pancreatic stellate cells ($r = 0.32$, $p < 0.05$), a decrease in glycogen (ischemia marker). The intraoperative direct measurement revealed a high pancreatic duct pressure: 34.2 (26.6; 45.3) mm Hg, a decrease in oxygenation of the pancreatic tissue that correlate with a degree of fibrosis.

The pancreatic tissue in chronic pancreatitis has chronic hypoxia associated with fibrosis and increased pancreatic ductal hypertension. So, secondary pancreatic ischemia can be a significant factor in the progression of fibrosis and chronic pain syndrome in chronic pancreatitis.

Keywords: chronic pancreatitis, fibrosis of pancreas, ischemia of pancreas, pancreatic ductal hypertension, pancreatic stellate cells

For citation: Varabei A. V., Shuleika A. Ch., Vladimirskaia T. E., Shved I. A., Vizhinis Y. I., Makki M. Y. Hypoxia of pancreas in pathogenesis of fibrosis in chronic pancreatitis. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seriya meditsinskikh navuk* = *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Medical series*, 2018, vol. 15, no. 4, pp. 000–000 (in Russian). <https://doi.org/10.29235/1814-6023-2018-15-4-391-404>

Введение. Хронический панкреатит (ХП) является прогрессирующим воспалительным заболеванием, при котором панкреатическая секреторная паренхима разрушается и замещается фиброзной тканью, что приводит к экзо- и эндокринной недостаточности. Злоупотребление алкоголем [1–3] и курение [4] являются основными причинами развития ХП. Однако только у 10 % алкоголиков развивается ХП. В развитии алкогольного ХП есть дополнительные, возможно генетические, факторы (мутации гена регулятора трансмембранного муковисцидоза – CFTR) [5].

Существует несколько теорий патогенеза алкогольного ХП. Sarles с соавт. [6–8] предположили, что хроническое потребление этанола повышает концентрацию белка литостатина в секрете поджелудочной железы (ПЖ) с последующим осаждением белковых пробок в протоках и кальцификацией. Образование камней, в свою очередь, приводит к обструкции протоков, атрофии ацинарной ткани, фиброзу и перидуктальному воспалению дистальнее обструкции.

Токсико-метаболическая гипотеза, выдвинутая Bordalo и Noronha [9], предполагает, что хроническое потребление алкоголя оказывает прямые токсический и метаболический эффекты на ацинарные клетки, вызывая прогрессивное отложение липидов, атрофию ацинусов и интрапанкреатический фиброз. Описанные изменения ПЖ, в частности жировая дистрофия ацинарных клеток, не были подтверждены другими исследователями. Согласно гипотезе окислительного стресса, последний создает в ацинарных клетках ПЖ избыточные свободные радикалы, которые вызывают блокаду клеточных ферментов и окисление мембранных липидов [10].

В последние годы ведущей является концепция последовательности некроза и фиброза [11, 12]. Эта теория постулирует, что алкогольный ХП инициируется рецидивирующим тяжелым острым панкреатитом [13]. Резорбция больших площадей жирового и геморрагического некроза, которые являются главными событиями при тяжелом панкреатите, индуцирует фиброз [14, 15] в основном в междольковом пространстве [16, 17]. Междольковый фиброз, в свою очередь, влияет на структуру интерлобулярных протоков, постепенно приводя к их дилатации и стриктурам [18]. В этих измененных протоках нарушается пассаж панкреатического секрета, что может вызвать самопроизвольное выпадение белка с последующей его кальцификацией. В конечном итоге нарушение функции панкреатической секреции приводит к фиброзной трансформации ацинарных клеток и внутريدольковому фиброзу.

Патоморфологической особенностью ХП является развитие фиброза ПЖ, в основе которого лежит накопление коллагена и других протеинов внеклеточного матрикса, продуцируемых активированными панкреатическими звездчатыми клетками (ПЗК). Впервые эти клетки описаны Karl von Kupffer в 1876 г., обнаружены в 1980-х годах [19–21] и выделены в культуре в 1998 г. [22, 23]. В нормальной ПЖ они расположены в непосредственной близости от ацинарных клеток. В покое ПЗК могут рассматриваться как клетки с центральным телом и длинными цитоплазматическими выступами, простирающимися вдоль основания смежных ацинарных клеток. Они содержат в цитоплазме липидные капли с витамином А, которые исчезают после их активации [24, 25]. Подсчитано, что в состоянии покоя ПЗК составляют 4–7 % от всех паренхиматозных клеток в нормальной ПЖ [22, 23]. В норме функция этих клеток заключается в поддержании нормальной анатомии ПЖ: активированные ПЗК участвуют в процессах восстановления тканей после повреждений, в том числе после панкреонекроза [3, 26, 27].

В последние годы накоплены убедительные доказательства о ключевой роли ПЗК в фиброгенезе ПЖ при ХП [16, 22, 23, 28–30]. В ответ на повреждение ПЗК переходят из неактивного состояния в активированный фенотип миофибробластов. Последние синтезируют и выделяют избыточное количество белков экстрацеллюлярного матрикса, что ведет к фиброзным изменениям ПЖ.

К потенциальным возбудителям ПЗК в естественных условиях относятся этанол и его метаболиты (ацетальдегид), активные формы кислорода; паракринные факторы, такие как цитокины (IL-1, IL-6, IL-8 и TNF- α); факторы роста: тромбоцит-производный фактор роста (PDGF) и трансформирующий фактор роста- β 1 (TGF- β 1), ангиотензин II, образованные при повреждении клеток ПЖ

и лейкоцитов [31–37]. ПЗК могут самостоятельно синтезировать данные факторы роста, аутокринно поддерживая активный миофибробластный фенотип. Это проявляется прогрессирующим панкреатическим фиброзо даже при прекращении действия панкреатит-провоцирующих факторов. Активированные ПЗК синтезируют аутокринные факторы, такие как PDGF, TGF-1, активин-А, цитокины (IL-1, IL-6 и TRAIL) и провоспалительные молекулы (ЦОГ-2), эндотелин-1, и закрепляют активированный фенотип [34, 36, 38–41].

Активный фенотип ПЗК характеризуется синтезом α -гладкомышечного актина, глиального фибриллярного кислого белка, коллагена I и III типа, десмина, виментина, металлопротеиназ (ММР-1, ММР-2), тканевых ингибиторов металлопротеиназ (TIMP-1, TIMP-2), протеогликанов и гиалуроновой кислоты.

Развитие фиброгенеза начинается с некроза ткани и аутопереваривания, за которыми следуют воспаление и индукция фиброзной реакции [42, 43]. На начальной стадии развития острого панкреатита ПЗК находятся в тесной связи с макрофагами вокруг участков некроза, а при формировании фиброза они концентрируются в перилобарных пространствах. В период стабилизации воспалительного процесса количество ПЗК заметно уменьшается – они обнаруживаются в основном рядом с поврежденными протоками [43].

В дополнение к производству компонентов внеклеточного матрикса ПЗК обладают широким спектром клеточных функций, связанных с реализацией местного иммунитета, воспаления, ангиогенеза, а по последним данным, еще и фагоцитарной функцией. Они могут регулировать экзокринные функции в ПЖ через холецистокинин-индуцированное высвобождение ацетилхолина. ПЗК индуцируют апоптоз и снижают экспрессию инсулина в бета-клетках, что является новым механизмом развития диабета у пациентов с ХП [44, 45].

Механизм поддержания процесса фиброза в ПЖ, особенно после прекращения действия повреждающего действия, не ясен. Считается, что он зависит от гипертензии в ткани ПЖ, гипергликемии, внутриклеточной реактивной продукции активных форм кислорода, активации протеаз-активированного рецептора 2. Индукция циклооксигеназы 2, бактериальная инфекция, самоактивация ПЗК играют определенную роль в поддержании панкреатического фиброза [45]. Таким образом, неизвестны механизмы, поддерживающие прогрессирование панкреатического фиброза даже при прекращении действия панкреатит-провоцирующих факторов. Несмотря на очевидность влияния протоковой гипертензии на течение заболевания и болевой синдром, механизмы этих процессов полностью не изучены.

Цель исследования – оценить роль взаимосвязи фиброзных изменений паренхимы поджелудочной железы, ее гипоксии и панкреатической протоковой гипертензии в патогенезе хронического панкреатита.

Материалы и методы исследования. В проспективное исследование были последовательно включены 40 пациентов, страдавших осложненным ХП и оперированных в период с января 2015 г. по декабрь 2016 г. в хирургических отделениях Минской областной клинической больницы. Критерии включения: возраст старше 18 лет, информированное согласие пациента; наличие ХП, осложненного магистральной или периферической гипертензией в правом и левом секторах ПЖ. Всем пациентам выполнены резекционно-дренирующие хирургические вмешательства на ПЖ ($n = 40$), в том числе 28 Бернских вариантов операции Бегера и 12 операций Фрея, в 16 наблюдениях они сочетались с продольной панкреатовирсунготомией ($n = 9$) или вирсунгэктомией ($n = 7$) в области тела-хвоста ПЖ.

У всех 40 пациентов интраоперационно измеряли тканевую оксиметрию паренхимы ПЖ с помощью соматического датчика церебрального оксиметра INVOS 5100 (Somanetics, США). У 12 пациентов с расширенным Вирсунговым протоком выполнено интраоперационно прямое измерение внутривнутрипротокового давления с помощью системы для инвазивного измерения давления монитором «Интеграл 12» (Республика Беларусь).

Материалом для морфологического исследования являлись 40 участков ПЖ после резекции ее головки. Контрольную группу составили 5 образцов ткани ПЖ без патологии, полученные в отделении общей патологии Управления Государственного комитета судебных экспертиз по Минской области от умерших в результате несчастных случаев. Операционный материал стандартно

обрабатывали, окрашивали гематоксилином и эозином и трихромом. Изучение препаратов и изготовление микрофотографий осуществляли с помощью световых микроскопов Axio Imager (Zeiss, Германия) и DMLS (Leica, Германия).

Для количественной оценки степени выраженности фиброзных изменений измеряли площадь фиброза в образце ткани ПЖ в 5 случайно выбранных полях зрения при увеличении в 100 раз, вычисляли среднее значение и определяли процент фиброза. Оценивали три степени фиброза: I степень (слабо выраженные фиброзные изменения) – площадь фиброза 0–24 %; II степень (умеренно выраженные фиброзные изменения) – площадь фиброза 25–49 %; III степень (значительно выраженные фиброзные изменения) – площадь фиброза >50 %.

Количественную оценку содержания гликогена проводили полуколичественным методом на препаратах, окрашенных ШИК-реакцией. Содержание гликогена оценивали по шкале от 0 до 4 баллов. В контрольной группе с наибольшей интенсивностью окраски в реакции с Шифф-йодной кислотой выставляли 4 балла, полное отсутствие окрашивания на гликоген принимали за 0 баллов.

Иммуногистохимическое исследование (ИГХ) уровней экспрессии молекулярно-биологических маркеров (TGF- β 1 и альфа-гладкомышечного актина (α -SMA)) проведено с использованием моно- и поликлональных антител. Результат ИГХ выявления α -SMA представлен в виде интенсивного гомогенного коричневого окрашивания цитоплазмы гладкомышечных, эндотелиальных и панкреатических звездчатых клеток.) Среди клеток, экспрессирующих α -SMA, ПЗК определяли по фибробластоподобному фенотипу.

Количественную оценку экспрессии TGF- β 1 выполняли путем анализа цифрового изображения, полученного с помощью микроскопа Leica DMLS с программным обеспечением (Германия) и цифровой камерой JVC (увеличение – в 200 раз, минимальное количество полей зрения – 50), с использованием алгоритма “positive pixel count” и программы для морфометрии Aperio Image Scope. Рассчитывали индекс экспрессии биомолекулярных маркеров по формуле: число позитивных пикселей/общее число пикселей \times 100.

Количественную оценку численности ПЗК выполняли путем подсчета числа α -SMA-позитивных звездчатых клеток на участках фиброза в поле зрения на увеличении 400 (минимальное количество полей зрения – 10).

Для оценки содержания в крови TGF- β 1 использовали наборы Human Transforming growth factor beta-1 ELISA Kit (EIAab, Китай) для иммуноферментного анализа. Оптическую плотность измеряли на иммуноферментном анализаторе SIRIO S SEAC (Италия).

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью пакета статистических программ STATISTICA 10.0 (Version10-Index, StatSoftInc., США). Для проверки нормальности распределения данных использовали метод Колмогорова–Смирнова, а также показатели эксцесса и асимметрии. Различия между выборками оценивали с помощью *U*-теста Манна–Уитни и теста Краскелла–Уоллеса. Результаты представлены в виде медианы (значение, справа и слева от которого на оси значений признака располагаются равные количества значений признака данной выборки (Me 25; 75 процентиль). Достоверным считалось различие при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты исследования. После выполнения операций летальных исходов не было. Осложнения составили 16,7 %. Макроскопически во время вмешательства были выявлены следующие изменения: псевдокисты имели место у 18 (42 %) пациентов, стеноз двенадцатиперстной кишки – у 6 (15 %), билиарная гипертензия – у 15 (37,5 %), портальная гипертензия – у 7 (17,5 %).

При морфологическом исследовании операционных препаратов I степень фиброза не выявлена, II степень выявлена у 18 (45 %) пациентов (первая группа), III степень – у 22 (55 %) человек (вторая группа).

Показатель насыщения гемоглобина кислородом (StO₂) ткани ПЖ в общей группе составил 54,4 (49,1; 61,1) % с колебаниями от 36 до 65 %. Отмечена достоверная зависимость StO₂ от степени фиброза (табл. 1), т. е. при нарастании степени фиброза снижается оксигенация ткани ПЖ.

Показатели внутрипротокового давления при интраоперационном прямом измерении во всех наблюдениях превышали нормальные (7–10 мм рт. ст. (E. L. Bradley III, 1982; N. Ebbehoj, 1986) и составили 34,2 (26,6; 45,3) мм рт. ст. (максимальный уровень – 56 мм рт. ст.). Зависимости внутрипротокового давления от степени фиброза не выявлено.

Таблица 1. Насыщение гемоглобина кислородом поджелудочной железы у пациентов с ХП
 Table 1. Saturation of hemoglobin with pancreatic oxygen in patients with chronic pancreatitis

Группа	Насыщение гемоглобина кислородом, % (Me (25; 75))
1 (умеренный фиброз)	58,8 (51,1; 62,5)
2 (выраженный фиброз)	42 (36,1; 48,7)*

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с группой 1 ($p < 0,005$).

При постановке ШИК-реакции в ацинарной ткани ПЖ в контрольной группе четко определялись ШИК-положительные углеводные соединения, имеющие вид зерен, окрашенных в темно-розовый цвет (рис. 1). Часто выявлялись зернистые включения темного цвета, которые не были похожи на гликоген, но в то же время могли быть деструктивными углеводными компонентами. В межацинарных пространствах ПЖ обнаруживались отростчатые синцитиальные структуры (рис. 2).

В первой группе в ацинусах со степенью фиброза 25–49 % ШИК-положительных веществ встречалось мало, гранулы гликогена были бледно-розового цвета, мелкие и практически одинаковых размеров (рис. 3). Апикальная часть эпителия протоков имела ярко-малиновый цвет, железистый эпителий окрашивался в бледно-розовый цвет. ШИК-реакция показала умеренное окрашивание мукопротеидов экстрацеллюлярного матрикса зоны склероза (рис. 4).

Бледно-розовую окраску имели ШИК-положительные вещества в клетках тубуло-островкового комплекса.

В группе со степенью фиброза >50 % цитоплазма клеток ацинарной зоны, представленной в большинстве случаев тубуло-островковыми комплексами, окрашивалась слабо или умеренно (рис. 5). Также наблюдалось неравномерное умеренное или слабое окрашивание ШИК-положительных веществ в протоковом эпителии, тубулярном комплексе и межацинарных пространствах. В цитоплазме фибробластов зон фиброза, в тубулярном комплексе и в коллагеновых волокнах отмечалось слабое или умеренной силы окрашивание гликогена, мукопротеидов межклеточного матрикса ШИК-методом (рис. 6).

Таким образом, гистохимический анализ ПЖ в норме показал, что реактивность ее тканей достаточно хорошо выражена, что проявлялось положительной фуксинофилией при ШИК-реакции. Так как одним из важных углеводов является гликоген, который содержится в организме в местах высокой метаболической активности и служит источником глюкозы, т. е. энергетическим субстратом, то гистохимические исследования на наличие и распределение углеводного компонента в ткани ПЖ могут являться критерием степени ишемии.

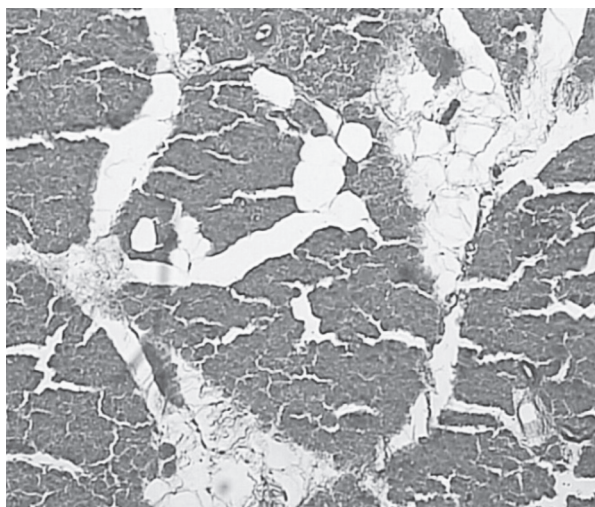


Рис. 1. ШИК-реакция в ацинарной зоне в норме. $\times 100$
 Fig. 1. SHIC-reaction in the acinar zone is normal. $\times 100$

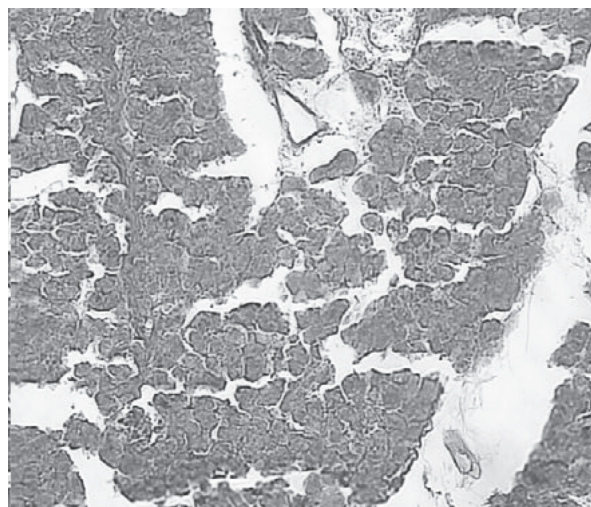


Рис. 2. ШИК-реакция в участках соединительной ткани в норме. $\times 100$
 Fig. 2. SHIC-reaction in the connective tissue is normal. $\times 100$

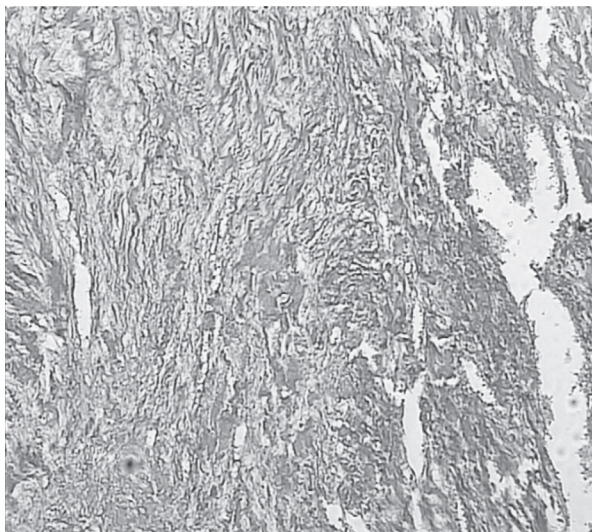


Рис. 3. ШИК-реакция в ацинарной зоне в группе со степенью фиброза 25–49 %
Fig. 3. CHIC-reaction in the acinar zone in the group with a fibrosis of 25–49 %

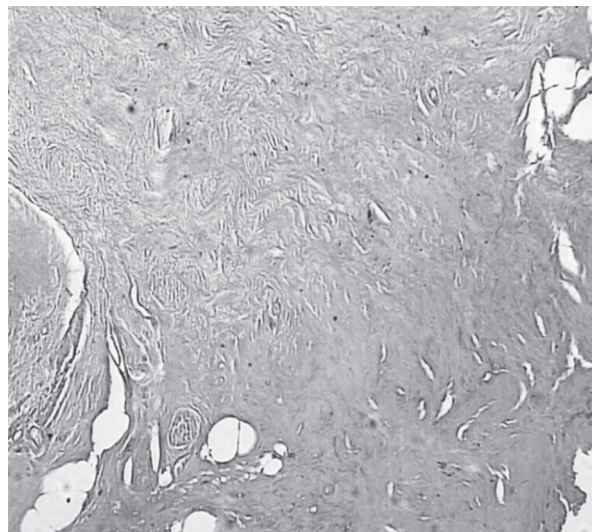


Рис. 4. ШИК-реакция в зонах склероза и тубуло-островковом комплексе в группе со степенью фиброза 25–49 %
Fig. 4. CHIC-reaction in sclerosis zones and tubulo-islet complex in the group with a degree of fibrosis 25–49 %



Рис. 5. ШИК-реакция в тубуло-островковом комплексе группы со степенью фиброза >50 %. × 100
Fig. 5. CHIC-reaction in the tubulo-islet complex of the group with a degree of fibrosis >50 %. × 100



Рис. 6. Окрашивание гликогена в ацинарной зоне в группе со степенью фиброза >50 %. × 100
Fig. 6. Staining of glycogen in the acinar zone in the group with a degree of fibrosis >50 %. × 100

При количественной оценке содержания гликогена у пациентов с разной степенью фиброза статистически значимых различий между группами не выявлено ($p > 0,05$), однако наблюдалась тенденция к снижению количества ШИК-положительных веществ в ткани ПЖ по сравнению с нормой в 4 раза (табл. 2).

Не выявлено достоверных различий в концентрации TGF- β 1 в сыворотке крови пациентов с ХП различной степени фиброза (табл. 3).

При окрашивании с антителами к TGF- β 1 эндотелиальные клетки кровеносных и лимфатических сосудов, фибробласты имели выраженную коричневую окраску, компоненты экстрацеллюлярного матрикса – светло-коричневую (рис. 7). Ацинарные клетки окрашивались неравномерно (рис. 8).

В местах скопления тубуло-островковых комплексов отмечалось диффузно-очаговое окрашивание с антителами к TGF- β 1 (рис. 9). Более интенсивно окрашивались ациноциты с дистро-

Таблица 2. Оценка содержания гликогена у пациентов с разной степенью фиброза ПЖ

Table 2. Evaluation of glycogen content in patients with different degrees of pancreatic fibrosis

Группа	Содержание гликогена, балл (Ме (25; 75))
1	1 (0,5; 2,0)
2	0,75 (0,5; 2,0)
Контроль (фиброз отсутствует)	4 (4,0; 4,0)

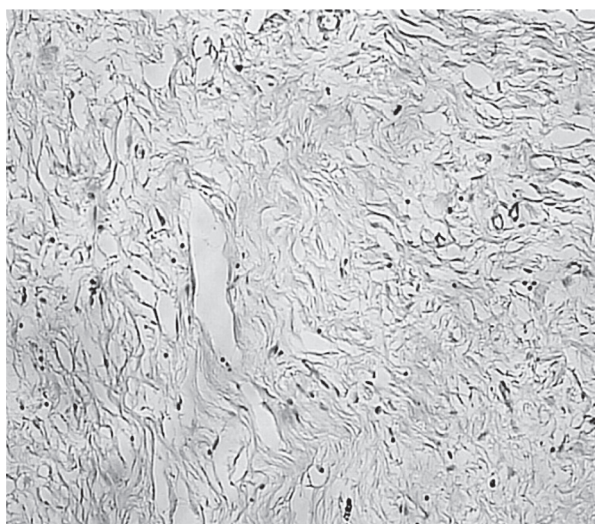


Рис. 7. Экспрессия TGF-β1 в фибробластах и эндотелиальных клетках сосудов зоны фиброза ПЖ. ×400

Fig. 7. Expression of TGF-β1 in fibroblasts and vascular endothelial cells of the pancreas fibrosis zone. ×400

Таблица 3. Содержание TGF-β1 в сыворотке пациентов с ХП с различной степенью фиброза

Table 3. TGF-β1 serum levels of patients with chronic pancreatitis with different degrees of fibrosis

Группа	Содержание TGF-β1, нг/мл (Ме (25; 75))
1	92,14 (93,29; 100,27)
2	96,66 (90,12; 105,98)

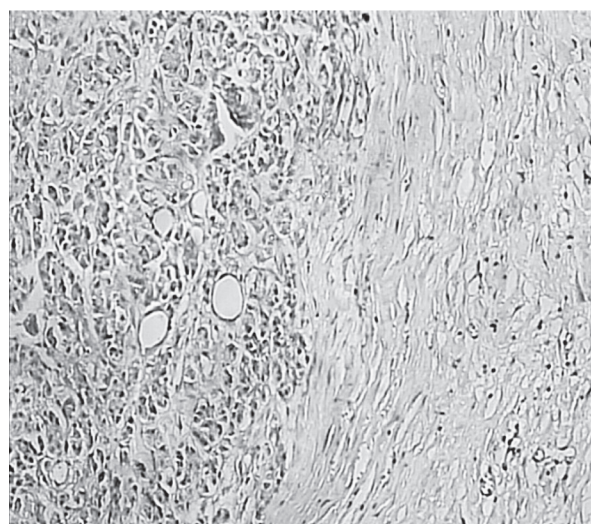


Рис. 8. Экспрессия TGF-β1 в панкреоцитах и фибробластах ацинарной зоны ПЖ. ×400

Fig. 8. Expression of TGF-β1 in pancreocytes and fibroblasts of the pancreatic acinar zone. ×400

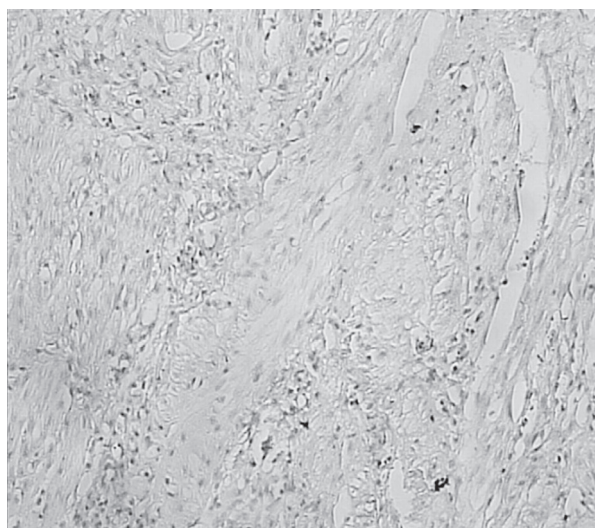


Рис. 9. Экспрессия TGF-β1 в тубуло-островковом комплексе зоны фиброза ПЖ. ×400

Fig. 9. Expression of TGF-β1 in the tubulo-islet complex the pancreas fibrosis zone. ×400

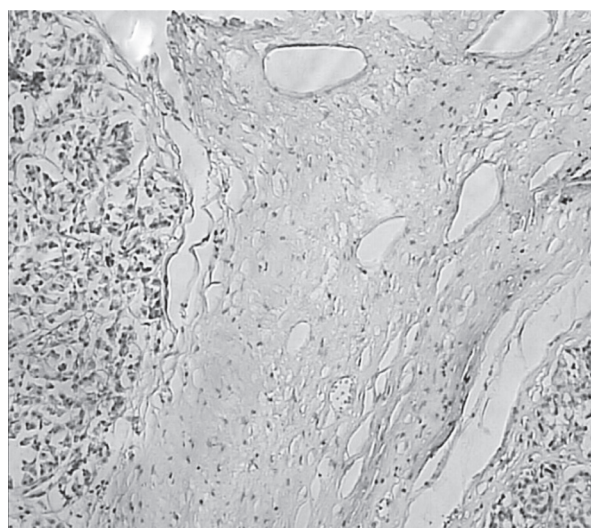


Рис. 10. Экспрессия TGF-β1 в клетках ацинарной зоны и зоны перидуктального фиброза ПЖ. ×400

Fig. 10. Expression of TGF-β1 in cells of the acinar zone and of periductal pancreatic fibrosis zone. ×400

Таблица 4. Количественная оценка экспрессии TGF-β1 у пациентов с разной степенью фиброза

Table 4. Quantification of TGF-β1 expression in patients with different degrees of fibrosis

Группа	ИЭ, % (Ме (25; 75))
1 (умеренный фиброз)	5,02 (3,18; 7,21)*
2 (выраженный фиброз)	6,04 (4,0; 8,49)

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с группой 2 ($p < 0,001$).

фическими изменениями (нечеткими границами, размытыми ядрами, мелковакуольной дистрофией) и клетки островков Лангерганса (рис. 10).

Визуализировались плазматические клетки с выраженным окрашиванием цитоплазмы. Протоковый эпителий окрашивался диффузно.

Количественная оценка уровня экспрессии TGF-β1 выявила достоверное ($p < 0,001$) увеличение экспрессии TGF-β1 в ткани ПЖ у второй группы пациентов с ХП по сравнению с первой (табл. 4).



Рис. 11. Экспрессия α-SMA в ПЗК и гладкомышечных клетках зоны фиброза ПЖ. ×400

Fig. 11. Expression of α-SMA in pancreatic stellate cells and smooth muscle cells of the pancreas fibrosis zone. ×400



Рис. 12. Экспрессия α-SMA в ПЗК, эпителиальных и гладкомышечных клетках ацинарной зоны и зоны фиброза ПЖ. ×400

Fig. 12. Expression of α-SMA in pancreatic stellate cells, epithelial and smooth muscle cells of the acinar zone, and pancreas fibrosis zone. ×400

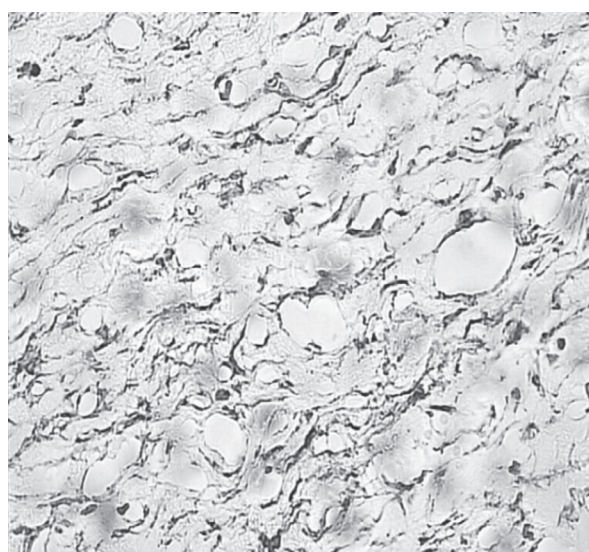


Рис. 13. Экспрессия α-SMA в эпителиальных и ПЗК зоны фиброза ПЖ. ×400

Fig. 13. Expression of α-SMA in epithelial cells and pancreatic stellate cells of the pancreas fibrosis zone. ×400



Рис. 14. Экспрессия α-SMA в гладкомышечных клетках и ПЗК. ×400

Fig. 14. Expression of α-SMA in smooth muscle and pancreatic stellate cells. ×400

При окрашивании с антителами к α -SMA наблюдалось интенсивное окрашивание цитоплазмы ПЗК, гладкомышечных, эпителиальных и миоэпителиальных клеток (рис. 11). Мозаично окрашивалось вещество экстрацеллюлярного матрикса. Эндотелиальные клетки гемо- и лимфокапилляров окрашивались интенсивно позитивно (рис. 12).

Морфологически α -SMA позитивные ПЗК были сходны с фибробластами – веретеновидной или округлой (овоидного типа) отросчатой формы. Гладкомышечные клетки – веретеновидные, не имеющие отростков. Интенсивно экспрессировали α -SMA эндотелий сосудов и ПЗК зоны склероза (рис. 13). В гладкомышечных клетках крупных сосудов отмечалось выраженное окрашивание цитоплазмы и диффузное (неравномерное) окрашивание мембранных структур (рис. 14).

Статистический анализ показал достоверное ($p < 0,0001$) увеличение количества звездчатых клеток во второй группе по сравнению с первой (табл. 5).

Корреляционный анализ показал наличие умеренной силы положительной связи между количеством активных ПЗК и степенью фиброза ПЖ ($r = 0,32, p < 0,05$). Так как активация ПЗК сопровождается усилением синтеза ими компонентов экстрацеллюлярного матрикса, увеличение количества активных ПЗК приводит к стимуляции фиброгенеза.

В результате проведенных исследований получены следующие результаты:

Окрашивание ШИК-методом (на гликоген) ткани ПЖ является достаточно информативным маркером ишемического ее повреждения. У пациентов со слабой фуксинофилией или ее отсутствием отмечаются высокая (>50 %) степень фиброза и низкое насыщение ткани ПЖ кислородом.

В крови пациентов с ХП наблюдается тенденция к увеличению в 1,5 раза TGF- β 1 в группе с фиброзом >50 % по сравнению с группой с фиброзом 25–49 %.

В ткани ПЖ пациентов с ХП отмечается увеличение экспрессии TGF- β 1 по мере прогрессирования в ней фиброзных изменений ($p < 0,001$).

Рост количества ПЗК коррелирует с увеличением степени фиброзных изменений в ПЖ ($r = 0,29, p < 0,05$).

Обсуждение. Звездчатые клетки ПЖ являются причиной развития фиброза и образования белковой стромы для конкрементов через очаги миелинизации. Деструктивные процессы охватывают стенку межациназных протоков и околопротоковое пространство, состоящее из соединительной ткани и проходящих в ней кровеносных капилляров и нервных волокон. В результате прогрессирующего фиброза перидуктальная область замещается грубой волокнистой соединительной тканью, которая, разрастаясь, суживает просвет протоков и сдавливает проходящие в ней сосуды микроциркуляторного русла ПЖ. Развивающаяся вторичная ишемия ткани ПЖ через стимуляцию звездчатых клеток может быть причиной непрерывного прогрессирования фиброза в ПЖ. Таким образом, просвет периферических протоков суживается вплоть до стриктур, а в просвете формируются конкременты. Создаются условия для развития периферической протоковой гипертензии, что является дополнительным патогенетическим фактором стойкой абдоминалгии при ХП. Усиливают периферическую протоковую гипертензию процессы фиброза в эпителии протоков всех уровней. Протоковая гипертензия формируется за счет трех компонентов: фиброза самой стенки протоков, сдавления протоков извне перидуктальным фиброзом, формирования конкрементов в просвете протоков.

Прямая интраоперационная оксиметрия показывает, что ткани ПЖ при хроническом панкреатите находятся в состоянии хронической ишемии. Это подтверждается снижением содержания гликогена в клетках ПЖ. Слабое ШИК-окрашивание участков ПЖ указывает на низкую метаболическую активность клеток и может служить для оценки степени ишемии ПЖ. Оценка степени ишемии в ПЖ по количественному содержанию ШИК-положительных веществ и уровню оксигенации показывает, что пропорционально увеличению степени фиброза происходит снижение

Таблица 5. Количество α -SMA-позитивных ПЗК у пациентов с разной степенью фиброза

Table 5. Number of α -SMA-positive pancreatic stellate cells in patients with different degrees of fibrosis

Группа	К-во клеток в поле зрения (Ме (25; 75))
1 (умеренный фиброз)	10 (7,5; 14)*
2 (выраженный фиброз)	12 (9,5; 16)

Примечание. * – различия статистически значимы по сравнению с группой 2 ($p < 0,001$).

содержания гликогена в клетках ПЖ. Таким образом, эти данные доказывают, что степень выраженности фиброзных изменений ткани ПЖ коррелирует с уровнем гипоксии этой ткани. В свою очередь, ишемия ткани ПЖ приводит к развитию фиброзных изменений.

При ХП существенный вклад в развитие фиброзных изменений в ПЖ вносят панкреатические звездчатые клетки, которые секретируют множество белков экстрацеллюлярного матрикса. Активный фенотип ПЗК характеризуется экспрессией α -SMA, который используется в качестве главного маркера звездчатых миофибробластов. Количество активных ПЗК прямо коррелирует со степенью фиброзных изменений ($r = 0,29, p < 0,05$). Таким образом, развитию тяжелого фиброза ПЖ способствуют пролиферация и увеличение количества α -SMA-позитивных ПЗК в ткани.

При исследовании трансформирующего фиброзного фактора TGF- β 1, стимулирующего пролиферацию фибробластов, коллагенообразование и фиброз, в крови и ткани ПЖ у пациентов с ХП отмечалась тенденция к увеличению (в крови) и статистически значимое увеличение (в ткани) маркера у пациентов с тяжелой степенью фиброза (>50 %). Таким образом, повышение экспрессии TGF- β 1 является маркером тяжести фиброзных изменений. Однонаправленное изменение TGF- β 1 в сыворотке крови и в ткани ПЖ (с прогрессированием фиброза увеличивается содержание TGF- β 1 в крови и ткани) свидетельствует об активации синтеза белка, а не об увеличении его в крови вследствие цитолиза. Таким образом, выявлено, что нарастающий фиброз железы, вызывая ее ишемическое повреждение через факторы роста (TGF- β 1), оказывает влияние на увеличение количества и активности ПЗК, которые, в свою очередь, приводят к росту выраженности фибротических изменений. Свой вклад в нарастание ишемии ПЖ оказывает протоковая гипертензия. Сдавление и деформация протоков фиброзными тканями, панкреатолиты приводят к повышению внутрипротокового давления в ПЖ, т. е. к развитию протоковой гипертензии. Последняя характерна как для магистральных, так и для периферических протоков. Высокий уровень протоковой гипертензии (до 56 мм рт. ст. в нашем исследовании) значимо снижает перфузионное давление и, соответственно, оксигенацию тканей ПЖ.

Выводы

1. На основании прямых интраоперационных измерений и данных морфологического обследования установлено, что ткани ПЖ при хроническом панкреатите испытывают хроническую гипоксию.

2. Развитие хронической гипоксии связано с прогрессирующим фиброзом перидуктальных областей и непосредственным сдавлением проходящих в них сосудов микроциркуляторного русла ПЖ вследствие воспалительного повреждения, а также с развитием протоковой гипертензии, которая ввиду высоких значений значимо снижает перфузионное давление в микроциркуляторном русле.

3. Степень фиброза ПЖ коррелирует с уровнем ее гипоксии.

4. Гипоксия ткани ПЖ (так же как и некроз), в свою очередь, через активацию звездчатых клеток цитокинами и факторами роста стимулирует развитие фиброза.

5. Теорию развития ХП, которая основывается на концепции последовательности «некроз – фиброз» при развитии рецидивирующего очагового панкреатита, можно дополнить концепцией «фиброз – гипоксия – фиброз», что объясняет прогрессирование панкреатического фиброза даже при прекращении действия панкреатит-провоцирующих факторов.

6. Гипоксия ПЖ наряду с протоковой гипертензией может быть значимым фактором в формировании хронического болевого синдрома при ХП.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список использованных источников

1. Worning, H. Incidence and prevalence of chronic pancreatitis / H. Worning // *Chronic Pancreatitis* / ed. : H. G. Beger [et al.]. – Berlin, 1990. – P. 8–14.
2. Mössner, J. Epidemiology of chronic pancreatitis / J. Mössner // *Standards in Pancreatic Surgery* / ed. : H. G. Beger, M. Büchler, P. Malfèrtheiner. – Berlin, 1993. – P. 263–271.

3. Apte, M. The fibrosis of chronic pancreatitis: new insights into the role of pancreatic stellate cells / M. Apte, R. Pirola, J. Wilson // *Antioxidants and Redox Signaling*. – 2011. – Vol. 15, N 10. – P. 2711–2722. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4079>
4. Lankisch, P. G. Pancreatitis / P. G. Lankisch, P. A. Banks. – Berlin : Springer-Verlag, 1998. – 377 p.
5. Dreiling, D. A. The natural history of alcoholic pancreatitis: update 1985 / D. A. Dreiling, M. Koller // *Mount Sinai J. Med.* – 1985. – Vol. 52, N 5. – P. 340–342.
6. Chronic pancreatitis, relapsing pancreatitis, calcification of the pancreas / H. Sarles [et al.] // *Gastroenterology* / ed. H. L. Bockus. – 2nd ed. – Philadelphia, 1976. – P. 1040–1051.
7. Pancreatic stone protein II: implication in stone formation during the course of chronic calcifying pancreatitis / I. Multigner [et al.] // *Gastroenterology*. – 1985. – Vol. 89, N 2. – P. 387–391. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(85\)90341-5](https://doi.org/10.1016/0016-5085(85)90341-5)
8. Sarles, H. Pathogenesis of chronic pancreatitis / H. Sarles, J. P. Bernard, L. Gullo // *Gut*. – 1990. – Vol. 31, N 6. – P. 629–632. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.31.6.629>
9. Noronha, M. Alcohol and the pancreas. II. Pancreatic morphology of advanced alcoholic pancreatitis / M. Noronha, O. Bordalo, D. A. Dreiling // *Am. J. Gastroenterol.* – 1981. – Vol. 76, N 2. – P. 120–124.
10. Braganza, J. M. Pancreatic disease: a casualty of hepatic «detoxification»? / J. M. Braganza // *Lancet*. – 1983. – Vol. 29, N 8357. – P. 1000–1003. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(83\)90983-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(83)90983-2)
11. Klöppel, G. Pathology of acute and chronic pancreatitis / G. Klöppel, B. Maillet // *Pancreas*. – 1993. – Vol. 8, N 6. – P. 659–670. <https://doi.org/10.1097/00006676-199311000-00001>
12. Comfort, M. W. Chronic relapsing pancreatitis. A study of twenty-nine cases without associated disease of the biliary or gastro-intestinal tract / M. W. Comfort, E. E. Gambill, A. H. Baggenstoss // *Gastroenterology*. – 1946. – Vol. 6. – P. 239–285, 376–408.
13. Ammann, R. W. Course of alcoholic chronic pancreatitis: a prospective clinicomorphological long-term study / R. W. Ammann, P. U. Heitz, G. Klöppel // *Gastroenterology*. – 1996. – Vol. 111, N 1. – P. 224–231.
14. Chronic pancreatitis is associated with increased concentrations of epidermal growth factor receptor, transforming growth factor, and phospholipase C gamma / M. Korc [et al.] // *Gut*. – 1994. – Vol. 35, N 10. – P. 1468–1473. <https://doi.org/10.1136/gut.35.10.1468>
15. Localizing of transforming growth factor β -1 and its latent binding protein in human chronic pancreatitis / J.-L. van Laethem [et al.] // *Gastroenterology*. – 1995. – Vol. 108, N 6. – P. 1873–1881. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(95\)90152-3](https://doi.org/10.1016/0016-5085(95)90152-3)
16. Klöppel, G. Fibrosis of the pancreas: the initial tissue damage and the resulting pattern / G. Klöppel, S. Detlefsen, B. Feyerabend // *Virchows Archiv*. – 2004. – Vol. 445, N 1. – P. 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00428-004-1021-5>
17. Klöppel, G. The morphological basis for the evolution of acute pancreatitis into chronic pancreatitis / G. Klöppel, B. Maillet // *Virchows Archiv. A, Pathological Anatomy and Histopathology*. – 1992. – Vol. 420, N 1. – P. 1–4. <https://doi.org/10.1007/BF01605976>
18. Klöppel, G. Chronic pancreatitis of alcoholic and nonalcoholic origin / G. Klöppel // *Seminars in Diagnostic Pathology*. – 2004. – Vol. 21, N 4. – P. 227–236. <https://doi.org/10.1053/j.semmp.2005.07.002>
19. Friedman, S. L. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver / S. L. Friedman // *Physiol. Rev.* – 2008. – Vol. 88, N 1. – P. 125–172. <https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2007>
20. The pancreatic stellate cell: a star on the rise in pancreatic diseases / M. B. Omary [et al.] // *J. Clin. Invest.* – 2007. – Vol. 117, N 1. – P. 50–59. <https://doi.org/10.1172/jci30082>
21. Watari, N. Morphological studies on a vitamin A-storing cell and its complex with macrophage observed in mouse pancreatic tissues following excess vitamin A administration / N. Watari, Y. Hotta, Y. Mabuchi // *Okajimas Folia Anatomica Japonica*. – 1982. – Vol. 58, N 4–6. – P. 837–857. https://doi.org/10.2535/ofaj1936.58.4-6_837
22. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture / M. V. Apte [et al.] // *Gut*. – 1998. – Vol. 43, N 1. – P. 128–133. <https://doi.org/10.1136/gut.43.1.128>
23. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans / M. G. Bachem [et al.] // *Gastroenterology*. – 1998. – Vol. 115, N 2. – P. 421–432. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(98\)70209-4](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(98)70209-4)
24. Pancreatic stellate cells contribute to regeneration early after acute necrotising pancreatitis in humans / A. Zimmermann [et al.] // *Gut*. – 2002. – Vol. 51, N 4. – P. 574–578. <https://doi.org/10.1136/gut.51.4.574>
25. Pancreas recovery following cerulein-induced pancreatitis is impaired in plasminogen-deficient mice // A. Lugea [et al.] // *Gastroenterology*. – 2006. – Vol. 131, N 3. – P. 885–899. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.06.023>
26. Jaster, R. Regulation of pancreatic stellate cell function *in vitro*: biological and molecular effects of all-transretinoic acid / R. Jaster, I. Hilgendorf, B. Fitzner // *Biochem. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 66, N 4. – P. 633–641. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(03\)00390-3](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(03)00390-3)
27. Talukdar, R. Pancreatic stellate cells: new target in the treatment of chronic pancreatitis / R. Talukdar, R. K. Tandon // *J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2008. – Vol. 23, N 1. – P. 34–41. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2007.05206.x>
28. Pancreatic carcinoma cells induce fibrosis by stimulating proliferation and matrix synthesis of stellate cells / M. G. Bachem [et al.] // *Gastroenterology*. – 2005. – Vol. 128, N 4. – P. 907–921. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.12.036>
29. Rat pancreatic stellate cells secrete matrix metalloproteinases: implications for extracellular matrix turnover / P. A. Phillips [et al.] // *Gut*. – 2003. – Vol. 52, N 2. – P. 275–282. <https://doi.org/10.1136/gut.52.2.275>
30. Pancreatic stellate cells: partners in crime with pancreatic cancer cells / A. Vonlaufen [et al.] // *Cancer Res.* – 2008. – Vol. 68, N 7. – P. 2085–2093. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-07-2477>
31. Pancreatic stellate cells are activated by proinflammatory cytokines: implications for pancreatic fibrogenesis / M. V. Apte [et al.] // *Gut*. – 1999. – Vol. 44, N 4. – P. 534–541. <https://doi.org/10.1136/gut.44.4.534>

32. Platelet-derived growth factors stimulate proliferation and extracellular matrix synthesis of pancreatic stellate cells: implications in pathogenesis of pancreas fibrosis / T. Luttenberger [et al.] // *Lab. Invest.* – 2000. – Vol. 80, N 1. – P. 47–55. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3780007>
33. Identification of mediators stimulating proliferation and matrix synthesis of rat pancreatic stellate cells / E. Schneider [et al.] // *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* – 2001. – Vol. 281, N 2. – P. C532–C543. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.281.2.c532>
34. Expression of transforming growth factor- β 1 by pancreatic stellate cells and its implications for matrix secretion and turnover in chronic pancreatitis / F. W.-T. Shek [et al.] // *Am. J. Pathol.* – 2002. – Vol. 160, N 5. – P. 1787–1798. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)61125-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)61125-x)
35. Pancreatic stellate cells respond to inflammatory cytokines: potential role in chronic pancreatitis / P. Mews [et al.] // *Gut.* – 2002. – Vol. 50, N 4. – P. 535–541. <https://doi.org/10.1136/gut.50.4.535>
36. Cell migration: a novel aspect of pancreatic stellate cell biology / P. A. Phillips [et al.] // *Gut.* – 2003. – Vol. 52, N 5. – P. 677–682. <https://doi.org/10.1136/gut.52.5.677>
37. Angiotensin II promotes the proliferation of activated pancreatic stellate cells by Smad7 induction through a protein kinase C pathway / K. Hama [et al.] // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – Vol. 340, N 3. – P. 742–750. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.12.069>
38. Gao, R. Connective tissue growth factor (CCN2) in rat pancreatic stellate cell function: integrin α 5 β 1 as a novel CCN2 receptor / R. Gao, D. R. Brigstock // *Gastroenterology.* – 2005. – Vol. 129, N 3. – P. 1019–1030. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.06.067>
39. Cyclooxygenase-2 is required for activated pancreatic stellate cells to respond to pro-inflammatory cytokines / H. Aoki [et al.] // *Am. J. Physiol.-Cell Physiol.* – 2007. – Vol. 292, N 1. – P. C259–C268. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00030.2006>
40. Activin A is an autocrine activator of rat pancreatic stellate cells: potential therapeutic role of follistatin for pancreatic fibrosis / N. Ohnishi [et al.] // *Gut.* – 2003. – Vol. 52, N 10. – P. 1487–1493. <https://doi.org/10.1136/gut.52.10.1487>
41. Endothelin-1 stimulates contraction and migration of rat pancreatic stellate cells / A. Masamune [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2005. – Vol. 11, N 39. – P. 6144–6151. <https://doi.org/10.3748/wjg.v11.i39.6144>
42. Ammann, R. W. Course of alcoholic chronic pancreatitis: a prospective clinicomorphological long-term study / R. W. Ammann, P. U. Heitz, G. Kloppel // *Gastroenterology.* – 1996. – Vol. 111, N 1. – P. 224–231. <https://doi.org/10.1053/gast.1996.v111.pm8698203>
43. Fibrogenesis in alcoholic chronic pancreatitis: the role of tissue necrosis, macrophages, myofibroblasts and cytokines / S. Detlefsen [et al.] // *Modern Pathol.* – 2006. – Vol. 19, N 8. – P. 1019–1026. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800613>
44. Masamune, A. Pancreatic stellate cells – Multi-functional cells in the pancreas / A. Masamune, T. Shimosegawa // *Pancreatol.* – 2013. – Vol. 13, N 2. – P. 102–105. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2012.12.058>
45. Shimizu, K. Mechanisms of pancreatic fibrosis and applications to the treatment of chronic pancreatitis / K. Shimizu // *J. Gastroenterol.* – 2008. – Vol. 43, N 11. – P. 823–832. <https://doi.org/10.1007/s00535-008-2249-7>

References

1. Worning H. Incidence and prevalence of chronic pancreatitis. *Chronic Pancreatitis*. Berlin, 1990, pp. 8–14.
2. Mössner J. Epidemiology of chronic pancreatitis. *Standards in Pancreatic Surgery*. Berlin, 1993, pp. 263–271.
3. Apte M., Pirola R., Wilson J. The fibrosis of chronic pancreatitis: new insights into the role of pancreatic stellate cells. *Antioxidans and Redox Signaling*, 2011, vol. 15, no. 10, pp. 2711–2722. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4079>
4. Lankisch P. G., Banks P. A. *Pancreatitis*. Berlin, Springer-Verlag, 1998. 377 p.
5. Dreilind D. A., Koller M. The natural history of alcoholic pancreatitis: update 1985. *Mount Sinai Journal of Medicine*, 1985, vol. 52, no. 5, pp. 340–342.
6. Sarles H., Payan H., Tasso F., Sahel J. Chronic pancreatitis, relapsing pancreatitis, calcification of the pancreas. *Gastroenterology*. 2nd ed. Philadelphia, 1976, pp. 1040–1051.
7. Multigner L., Sarles H., Lombardo D., de Caro A. Pancreatic stone protein II: implication in stone formation during the course of chronic calcifying pancreatitis. *Gastroenterology*, 1985, vol. 89, no. 2, pp. 387–391. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(85\)90341-5](https://doi.org/10.1016/0016-5085(85)90341-5)
8. Sarles H., Bernard J. P., Gullo L. Pathogenesis of chronic pancreatitis. *Gut*, 1990, vol. 31, no. 6, pp. 629–632. <http://dx.doi.org/10.1136/gut.31.6.629>
9. Noronha M., Bordalo O., Dreilind D. A. Alcohol and the pancreas. II. Pancreatic morphology of advanced alcoholic pancreatitis. *American Journal of Gastroenterology*, 1981, vol. 76, no. 2, pp. 120–124.
10. Braganza J. M. Pancreatic disease: a casualty of hepatic «detoxification»? *Lancet*, 1983, vol. 29, no. 8357, pp. 1000–1003. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(83\)90983-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(83)90983-2)
11. Klöppel G., Maillet B. Pathology of acute and chronic pancreatitis. *Pancreas*, 1993, vol. 8, no. 6, pp. 659–670. <https://doi.org/10.1097/00006676-199311000-00001>
12. Comfort M. W., Gambill E. E., Baggenstoss A. H. Chronic relapsing pancreatitis. A study of twenty-nine cases without associated disease of the biliary or gastro-intestinal tract. *Gastroenterology*, 1946, vol. 6, pp. 239–285, 376–408.
13. Ammann R. W., Heitz P. U., Klöppel G. Course of alcoholic chronic pancreatitis: a prospective clinicomorphological long-term study. *Gastroenterology*, 1996, vol. 111, no. 1, pp. 224–231.
14. Korc M., Friess H., Yamanaka Y., Kobrin M. S., Buchler M., Beger H. G. Chronic pancreatitis is associated with increased concentrations of epidermal growth factor receptor, transforming growth factor, and phospholipase C gamma. *Gut*, 1994, vol. 35, no. 10, pp. 1468–1473. <https://doi.org/10.1136/gut.35.10.1468>

15. Laethem van J.-L., Deviere J., Resibois A., Rickaert F., Vertongen P., Ohtani H., Cremer M., Miyazono K., Robberecht P. Localizing of transforming growth factor β -1 and its latent binding protein in human chronic pancreatitis. *Gastroenterology*, 1995, vol. 108, no. 6, pp. 1873–1881. [https://doi.org/10.1016/0016-5085\(95\)90152-3](https://doi.org/10.1016/0016-5085(95)90152-3)
16. Klöppel G., Detlefsen S., Feyerabend B. Fibrosis of the pancreas: the initial tissue damage and the resulting pattern. *Virchows Archiv*, 2004, vol. 445, no. 1, pp. 1–8. <https://doi.org/10.1007/s00428-004-1021-5>
17. Klöppel G., Maillet B. The morphological basis for the evolution of acute pancreatitis into chronic pancreatitis. *Virchows Archiv. A, Pathological Anatomy and Histopathology*, 1992, vol. 420, no. 1, pp. 1–4. <https://doi.org/10.1007/BF01605976>
18. Klöppel G. Chronic pancreatitis of alcoholic and nonalcoholic origin. *Seminars in Diagnostic Pathology*, 2004, vol. 21, no. 4, pp. 227–236. <https://doi.org/10.1053/j.semdp.2005.07.002>
19. Friedman S. L. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiological Reviews*, 2008, vol. 88, no. 1, pp. 125–172. <https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2007>
20. Omary M. B., Lugea A., Lowe A. W., Pandol S. J. The pancreatic stellate cell: a star on the rise in pancreatic diseases. *Journal of Clinical Investigation*, 2007, vol. 117, no. 1, pp. 50–59. <https://doi.org/10.1172/jci30082>
21. Watari N., Hotta Y., Mabuchi Y. Morphological studies on a vitamin A-storing cell and its complex with macrophage observed in mouse pancreatic tissues following excess vitamin A administration. *Okajimas Folia Anatomica Japonica*, 1982, vol. 58, no. 4–6, pp. 837–858. https://doi.org/10.2535/ofaj1936.58.4-6_837
22. Apte M. V., Haber P. S., Applegate T. L., Norton I. D., McCaughan G. W., Korsten M. A., Pirola R. C., Wilson J. S. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut*, 1998, vol. 43, no. 1, pp. 128–133. <https://doi.org/10.1136/gut.43.1.128>
23. Bachem M. G., Schneider E., Groß H., Weidenbach H., Schmid R. M., Menke A., Siech M., Beger H., Grünert A., Adler G. Identification, culture, and characterization of pancreatic stellate cells in rats and humans. *Gastroenterology*, 1998, vol. 115, no. 2, pp. 421–432. [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(98\)70209-4](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(98)70209-4)
24. Zimmermann A., Gloor B., Kappeler A., Uhl W., Friess H., Büchler M. W. Pancreatic stellate cells contribute to regeneration early after acute necrotising pancreatitis in humans. *Gut*, 2002, vol. 51, no. 4, pp. 574–578. <https://doi.org/10.1136/gut.51.4.574>
25. Lugea A., Nan L., French S. W., Bezerra J. A., Gukovskaya A. S., Pandol S. J. Pancreas recovery following cerulein-induced pancreatitis is impaired in plasminogen-deficient mice. *Gastroenterology*, 2006, vol. 131, no. 3, pp. 885–899. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.06.023>
26. Jaster R., Hilgendorf I., Fitzner B., Brock P., Sparmann G., Emmrich J., Liebe S. Regulation of pancreatic stellate cell function *in vitro*: biological and molecular effects of all-transretinoic acid. *Biochemical Pharmacology*, 2003, vol. 66, no. 4, pp. 633–641. [https://doi.org/10.1016/s0006-2952\(03\)00390-3](https://doi.org/10.1016/s0006-2952(03)00390-3)
27. Talukdar R., Tandon R. K. Pancreatic stellate cells: new target in the treatment of chronic pancreatitis. *Journal Gastroenterology and Hepatology*, 2008, vol. 23, no. 1, pp. 34–41. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1746.2007.05206.x>
28. Bachem M. G., Schünemann M., Ramadani M., Siech M., Beger H., Buck A., Zhou S., Schmid-Kotsas A., Adler G. Pancreatic carcinoma cells induce fibrosis by stimulating proliferation and matrix synthesis of stellate cells. *Gastroenterology*, 2005, vol. 128, no. 4, pp. 907–921. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2004.12.036>
29. Phillips P. A., McCarroll J. A., Park S., Wu M.-J., Pirola R., Korsten M., Wilson J. S., Apte M. V. Rat pancreatic stellate cells secrete matrix metalloproteinases: implications for extracellular matrix turnover. *Gut*, 2003, vol. 52, no. 2, pp. 275–282. <https://doi.org/10.1136/gut.52.2.275>
30. Vonlaufen A., Joshi S., Qu C., Phillips P. A., Xu Z., Parker N. R., Toi C. S., Pirola R. C., Wilson J. S., Goldstein D., Apte M. V. Pancreatic stellate cells: partners in crime with pancreatic cancer cells. *Cancer Research*, 2008, vol. 68, no. 7, pp. 2085–2093. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-07-2477>
31. Apte M. V., Haber P. S., Darby S. J., Rodgers S. C., McCaughan G. W., Korsten M. A., Pirola R. C., Wilson J. S. Pancreatic stellate cells are activated by proinflammatory cytokines: implications for pancreatic fibrogenesis. *Gut*, 1999, vol. 44, no. 4, pp. 534–541. <https://doi.org/10.1136/gut.44.4.534>
32. Luttenberger T., Schmid-Kotsas A., Menke A., Siech M., Beger H., Adler G., Grünert A., Bachem M. G. Platelet-derived growth factors stimulate proliferation and extracellular matrix synthesis of pancreatic stellate cells: implications in pathogenesis of pancreas fibrosis. *Laboratory Investigation*, 2000, vol. 80, no. 1, pp. 47–55. <https://doi.org/10.1038/labinvest.3780007>
33. Schneider E., Schmid-Kotsas A., Zhao J., Weidenbach H., Schmid R. M., Menke A., Adler G., Waltenberger J., Grünert A., Bachem M. G. Identification of mediators stimulating proliferation and matrix synthesis of rat pancreatic stellate cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2001, vol. 281, no. 2, pp. C532–C543. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2001.281.2.c532>
34. Shek F. W.-T., Benyon R. C., Walker F. M., McCrudden P. R., Pender S. L. F., Williams E. J., Johnson P. A., Johnson C. D., Bateman A. C., Fine D. R., Iredale J. P. Expression of transforming growth factor- β 1 by pancreatic stellate cells and its implications for matrix secretion and turnover in chronic pancreatitis. *American Journal of Pathology*, 2002, vol. 160, no. 5, pp. 1787–1798. [https://doi.org/10.1016/s0002-9440\(10\)61125-x](https://doi.org/10.1016/s0002-9440(10)61125-x)
35. Mews P., Phillips P., Fahmy R., Korsten M., Pirola R., Wilson J., Apte M. Pancreatic stellate cells respond to inflammatory cytokines: potential role in chronic pancreatitis. *Gut*, 2002, vol. 50, no. 4, pp. 535–541. <https://doi.org/10.1136/gut.50.4.535>
36. Phillips P. A., Wu M. J., Kumar R. K., Doherty E., McCarroll J. A., Park S., Pirola R. C., Wilson J. S., Apte M. V. Cell migration: a novel aspect of pancreatic stellate cell biology. *Gut*, 2003, vol. 52, pp. 677–682. <https://doi.org/10.1136/gut.52.5.677>
37. Hama K., Ohnishi H., Aoki H., Kita H., Yamamoto H., Osawa H., Sato K., Tamada K., Mashima H., Yasuda H., Sugano K. Angiotensin II promotes the proliferation of activated pancreatic stellate cells by Smad7 induction through a protein kinase C pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, vol. 340, no. 3, pp. 742–750. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.12.069>

38. Gao R., Brigstock D. R. Connective tissue growth factor (CCN2) in rat pancreatic stellate cell function: integrin alpha5beta1 as a novel CCN2 receptor. *Gastroenterology*, 2005, vol. 129, no. 3, pp. 1019–1030. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2005.06.067>
39. Aoki H., Ohnishi H., Hama K., Shinozaki S., Kita H., Osawa H., Yamamoto H., Sato K., Tamada K., Sugano K. Cyclooxygenase-2 is required for activated pancreatic stellate cells to respond to pro-inflammatory cytokines. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2007, vol. 292, no. 1, pp. C259–C268. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00030.2006>
40. Ohnishi N., Miyata T., Ohnishi H., Yasuda H., Tamada K., Ueda N., Mashima H., Sugano K. Activin A is an autocrine activator of rat pancreatic stellate cells: potential therapeutic role of follistatin for pancreatic fibrosis. *Gut*, 2003, vol. 52, no. 10, pp. 1487–1493. <https://doi.org/10.1136/gut.52.10.1487>
41. Masamune A., Satoh M., Kikuta K., Suzuki N., Satoh K., Shimosegawa T. Endothelin-1 stimulates contraction and migration of rat pancreatic stellate cells. *World Journal of Gastroenterology*, 2005, vol. 11, no. 39, pp. 6144–6151. <https://doi.org/10.3748/wjg.v11.i39.6144>
42. Ammann R. W., Heitz P. U., Kloppel G. Course of alcoholic chronic pancreatitis: a prospective clinicomorphological long-term study. *Gastroenterology*, 1996, vol. 111, no. 1, pp. 224–231. <https://doi.org/10.1053/gast.1996.v111.pm8698203>
43. Detlefsen S., Sipos B., Feyeraend B., Klöppel G. Fibrogenesis in alcoholic chronic pancreatitis: the role of tissue necrosis, macrophages, myofibroblasts and cytokines. *Modern Pathology*, 2006, vol. 19, no. 8, pp. 1019–1026. <https://doi.org/10.1038/modpathol.3800613>
44. Masamune A., Shimosegawa T. Pancreatic stellate cells – Multi-functional cells in the pancreas. *Pancreatology*, 2013, vol. 13, no. 2, pp. 102–105. <https://doi.org/10.1016/j.pan.2012.12.058>
45. Shimizu K. Mechanisms of pancreatic fibrosis and applications to the treatment of chronic pancreatitis. *Journal of Gastroenterology*, 2008, vol. 43, no. 11, pp. 823–832. <https://doi.org/10.1007/s00535-008-2249-7>

Информация об авторах

Воробей Александр Владимирович – член-корреспондент, д-р мед. наук, профессор, заведующий кафедрой. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: dept-surg@hotmail.com, ORCID 0000-0003-4710-5996

Шулейко Анатолий Чеславович – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shuleika1961@gmail.com, ORCID 0000-0002-4721-7341

Владимирская Татьяна Эрнстовна – канд. биол. наук, заведующий отделом. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь)

Швед Иван Адамович – д-р мед. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь)

Вижинис Ежи Ионас – канд. мед. наук, доцент. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: vigman@mail.ru

Макки Макки Юсеф – клинический ординатор. Белорусская медицинская академия последипломного образования (ул. П. Бровки, 3/3, 220013, г. Минск, Республика Беларусь)

Information about the authors

Aleksandr V. Varabei – Corresponding Member, D. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: dept-surg@hotmail.com, ORCID 0000-0003-4710-5996

Anatolii C. Shuleika – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shuleika1961@gmail.com, ORCID 0000-0002-4721-7341

Tat'yana E. Vladimirovskaya – Ph. D. (Biol.), Head of the Department. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus)

Ivan A. Shved – D. Sc. (Med.), Professor, Chief researcher. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus)

Ezhi Ionas Vizhinis – Ph. D. (Med.), Assistant Professor. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: vigman@mail.ru

M. Y. Makki – clinical resident. Belarusian Medical Academy of Postgraduate Education (3/3, P. Browka Str., 220013, Minsk, Republic of Belarus)