



Проапоптотические протеазы поджелудочной железы у больных хроническим панкреатитом

Н.Б. Губергриц¹, Е.А. Крылова^{2,*}, Ю.А. Гайдар³

¹ Донецкий национальный медицинский университет Министерства здравоохранения Украины, Лиман, Украина

² ООО «Эндотехномед», Днепр, Украина

³ ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», Днепр, Украина

Цель исследования: изучить особенности локализации проапоптотических протеаз ДНК-азы I и эндонуклеазы-G в поджелудочной железе (ПЖ) при хроническом панкреатите (ХП).

Материал и методы. Изучены гистологические препараты ПЖ 60 пациентов с различными формами ХП: I группа — 10 больных с обструктивной формой, II — 21 пациент с кальцифицирующей формой, III — 13 больных с фиброзно-паренхиматозной формой, IV — 16 пациентов с ХП, осложненным псевдокистой. Биоптаты ПЖ получали во время плановых операций на органе и с помощью тонкоигольной биопсии под УЗИ-контролем. Тканевый материал фиксировали в среде Боуэна, готовили микроскопические срезы ткани, окрашивали гематоксилин-эозином и по Маллори—Слинченко. Иммуногистохимическое типирование проапоптотических протеаз проводили согласно косвенной avidин-стрептавидин-пероксидазной реакции (“Elite”, USA) с использованием кроличьих антител к ДНК-азе I и эндонуклеазе-G.

Результаты. Для больных всех групп характерно наличие хронического воспаления, которое в 31,7 % случаев имело признаки обострения. Атрофические изменения выявлены у большинства больных (96,7 %). Достоверной разницы по выраженности и частоте выявления фиброза различной степени в группах не установлено: легкая степень фиброза выявлена у 6,7 % больных, умеренная — у 20,0 %, выраженная — 16,7 %, полный фиброз — 56,6 %. Изучение локализации проапоптотических нуклеаз в структурах ПЖ показало, что проапоптотическая нуклеаза ДНК-аза I обнаружена только в цитоплазме ацинарных клеток ПЖ. При всех степенях фиброза ХП в долях ПЖ найдены единичные ацинарные клетки с транслокацией нуклеазы из цитоплазмы в ядро клеток. Эндонуклеаза-G в большом количестве выявлена в цитоплазме инсул ПЖ и в меньшем — в цитоплазме эпителиальных клеток протоков.

Выводы. При ХП проапоптотические протеазы ДНК-аза I и эндонуклеаза-G экспрессируются в цитоплазме клеток разных частей ПЖ: ДНК-аза I экспрессируется в цитоплазме ацинарных клеток, а эндонуклеаза-G — в части инсулярных клеток и в эпителии протоков, что свидетельствует о существовании различных механизмов апоптоза в экзо- и эндокринной частях ПЖ.

Ключевые слова: поджелудочная железа, хронический панкреатит, апоптоз, ДНК-аза-1, эндонуклеаза-G

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Губергриц Н.Б., Крылова Е.А., Гайдар Ю.А. Проапоптотические протеазы поджелудочной железы у больных хроническим панкреатитом. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2019;29(3):49–57. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-3-49-57>

Pancreas Proapoptotic Proteases in Patients with Chronic Pancreatitis

Natalia B. Gubegriz¹, Elena A. Krylova^{2,*}, Yury A. Gaidar³

¹ Donetsk National Medical University, Donetsk, Ukraine

² “Endotehnomed” Ltd., Dnipro, Ukraine

³ Institute of Gastroenterology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Dnipro, Ukraine

Aim. To study features of localization of the DNA-ase I and endonuclease-G proapoptotic proteases in the pancreas in chronic pancreatitis (CP).

Materials and methods. Histological pancreas preparations from 60 patients with various CP forms were studied: group I — 10 patients with obstructive CP; group II — 21 patients with calcific CP; group III — 13 patients with fibroparenchymal CP; group IV — 16 patients with CP complicated by pseudocyst. Pancreas biopsies were obtained during planned organ operations, as well as using a fine-needle biopsy under ultrasound control. Tissue material was fixed in Bowen medium. Microscopic tissue sections were prepared and subsequently stained with hematoxylin-eosin and by Mallory-Slinchenko. Immunohistochemical typing of proapoptotic proteases was performed according to the indirect avidin-streptavidin-peroxidase reaction (“Elite”, USA) using rabbit antibodies to DNA-I and endonuclease-G (“Chemicon”, USA, 1: 500 dilution — 1: 2000, incubation 12:00, + 4 °C).

Results. Patients in all the groups demonstrated signs of chronic inflammation, with 31.7 % of cases showing signs of its exacerbation. Atrophic changes were found in most patients (96.7 %). No significant differences were observed with regard to the severity and frequency of fibrosis of various degrees in the groups: mild, moderate, severe and full fibrosis was detected in 6.7 %, 20.0 %, 16.7 % and 56.6 %, respectively. The study of the localization of proapoptotic nucleases in the structures of the pancreas showed proapoptotic nucleases of DNA-ase I to be exclusively located in the cytoplasm of pancreatic acinar cells. At all stages of CP fibrosis, single acinar cells with translocation of the nuclease from the cytoplasm into the cell nucleus were found in the lobes of the pancreas. Endonuclease-G was found in large numbers in the cytoplasm of pancreatic islets, with it lower number being detected in the cytoplasm of the epithelial cells of the ducts.

Conclusions. In CP, proapoptotic proteases of DNase I and endonuclease G are expressed in the cytoplasm of cells located in different pancreas zones. Thus, DNase I is expressed in the cytoplasm of acinar cells, while endonuclease G is most typical for insular cells and those in the epithelium of the ducts. This proves the existence of various apoptosis mechanisms in the exo- and endocrine portions of the pancreas.

Keywords: pancreas, chronic pancreatitis, apoptosis, DNase-1, endonuclease-G

Conflict of interest: the authors declare no conflict of interest.

For citation: Gubegritz N.B., Krylova E.A., Gaidar Yu.A. Pancreas Proapoptotic Proteases in Patients with Chronic Pancreatitis. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2019;29(3):49–57. <https://doi.org/10.22416/1382-4376-2019-29-3-49-57>

Введение

Хронический панкреатит (ХП) — заболевание, привлекающее внимание многих исследователей [1–4]. При этом заболевании в поджелудочной железе (ПЖ) вследствие длительно текущего воспаления происходят изменения, приводящие к фиброзированию паренхимы железы с дальнейшим развитием функциональной недостаточности. Важную роль в повреждении клеток ПЖ при ХП играет апоптоз [5, 6].

Апоптоз является общебиологическим механизмом, ответственным за поддержание постоянства численности клеточных популяций, а также формообразование и выбраковку дефектных клеток. Нарушение регуляции апоптоза приводит к развитию заболеваний, связанных с усилением или, наоборот, ингибированием апоптоза [7–10].

Апоптоз имеет место как в клетках неповрежденных нормальных тканей, так и в тканях с наличием патологического процесса. Смерть клетки может играть биологически полезную роль в элиминации тех клеток, выживание которых вредно для организма в целом, например клеток-мутантов или клеток, пораженных вирусом.

Процесс регулируемой клеточной гибели условно может быть разделен на несколько различных фаз: фаза инициации апоптоза, проведение сигнала, активация каспаз, активация эндонуклеаз и специфическая деградация ДНК, в итоге чего наступает гибель клетки. Если начальные фазы зависят от типа клеток и от апоптоз-индуцирующего сигнала, то этап деградации ДНК — универсальный для большинства клеток. Эта фаза — переход к необратимой, терминальной стадии апоптоза, которую контролируют белки семейства Bcl-2, производные одноименных генов [7]. Показано, что экспрессия ацинарной Bcl-2 блокирует апоптотический индекс ацинарных клеток ПЖ. Также отмечено, что пролиферативный индекс в паренхиме ПЖ выше при ХП [3, 5, 6, 11].

Стадия реализации программы апоптоза (эффакторная) состоит в собственно гибели клетки, которая наступает вследствие активации протеолитического и нуклеолитического каскадов. Непосредственными исполнителями процесса «умерщвления» клетки являются Ca^{2+}/Mg^{2+} -зависимые эндонуклеазы (катализируют распад нуклеиновых кислот) и эффакторные каспазы (подвергают протеолитическому расщеплению различные белки, в том числе белки цитоскелета ядра, регуляторные белки и ферменты) [10, 12].

Фермент эндонуклеаза, фрагментирующий ДНК, активируется при значительном повышении уровня зольного кальция в клетке. Увеличение содержания эндонуклеазы является обязательным маркером апоптоза, в начале которого отмечено увеличение цитоплазматического зольного кальция и изменение pH цитоплазмы, что запускает синтез АТФ — начало фрагментации ДНК [10, 13, 14].

Апоптоз играет существенную роль в гибели ацинусов при ХП. В эксперименте на моделях, выполненных на лабораторных крысах, при дефиците меди, введении этанола или лигировании главного панкреатического протока развивается апоптоз ацинарных клеток и атрофия ПЖ [3, 5, 6, 11]. Типичными морфологическими признаками апоптоза является конденсация цитоплазмы клеток, конденсация хроматина, фрагментация ядер. По окончании процесса клетки делятся на небольшие фрагменты цитоплазмы, которые ограничены мембраной.

Цель исследования — изучить особенности локализации проапоптотических протеаз ДНК-азы I и эндонуклеазы-G в ПЖ при ХП.

Материал и методы

Обследовано 60 больных ХП. В соответствии с Марсельско-Римской классификацией (1998) пациенты были распределены на четыре клинические

группы: I группу составили 10 больных обструктивной формой ХП, II — 21 пациент кальцифицирующей формой, III — 13 больных фиброзно-паренхиматозной формой, IV — 16 пациентов с ХП, осложненным псевдокистой [3].

Биоптаты ПЖ получали во время плановых операций на органе и с помощью тонкоигольной аспирационной биопсии под УЗИ-контролем. Для исследования брали материал из наиболее пораженных участков ПЖ. Тканевый материал фиксировали в жидкости Боуэна, проводили через ряд спиртов, помещали в парафин. Гистологические срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по Маллори — Слинченко. Особенности гистоструктуры ПЖ оценивали согласно Stolte (1987), при этом классифицировали диффузный или сегментарный фиброз, который разделяли на четыре степени (подробное описание в разделе «Результаты») [15].

Иммуногистохимическое типирование проапоптотических протеаз (эндонуклеазы-G и ДНК-азы I) проводили на гистологических препаратах согласно косвенной авидин-стрептавидин-пероксидазной реакции («Elite», USA). Используются коммерческие реактивы: кроличьи антитела к ДНК-азе I и эндонуклеазе-G («Chemicon», USA, разведение 1:500—1:2000, инкубация 12:00, +4 °C).

Все пациенты, включенные в исследование, подписали информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено этическим комитетом ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», протокол № 5 от 10.09.2008.

Для анализа полученных результатов использовали описательную и индуктивную статистику. В случае количественных данных и при условии их нормального распределения использовали среднее и стандартную ошибку среднего. Для определения

достоверности различий использовали *t*-критерий Стьюдента. В случае отсутствия нормального распределения использовались медиана, минимум, максимум, верхние и нижние квартили, а достоверность различий определяли по *U*-критерию Манна — Уитни. Для описания качественных данных использовали частоту выявления признака (%). В этом случае для определения достоверности различий между группами пользовались χ -критерием. Показатель $p < 0,05$ считали статистически значимым. Все расчеты проводились в программе SPSS 9.0 for Windows (или Statistica 6) [16, 17].

Результаты исследования и их обсуждение

У больных обнаруживали признаки поражения паренхимы ПЖ, типичные для ХП: разрастание соединительной ткани вокруг протоков и между дольками, между ацинусами, которые были деформированы и местами полностью исчезали; воспалительный инфильтрат, преимущественно очаговая инфильтрация Т-лимфоцитами. Инсулярная ткань была представлена сохраненной эндокринной тканью и тубулярными комплексами как признак вновь воссозданной ткани в условиях активной регенерации экзокринной части ПЖ при ХП [18].

У больных ХП выявляли диффузный или сегментарный фиброз, который имел четыре степени выраженности (см. выше). Легкая I стадия фиброза ПЖ наблюдалась у 6,7 % больных. При этом процесс характеризовался перилобулярным фиброзом, отсутствием атрофии экзокринной паренхимы и инсул (рис. 1, 2).

Гистологическая картина, соответствующая II степени фиброза ПЖ, установлена у 20,0 % больных. При этом наблюдался сегментарный

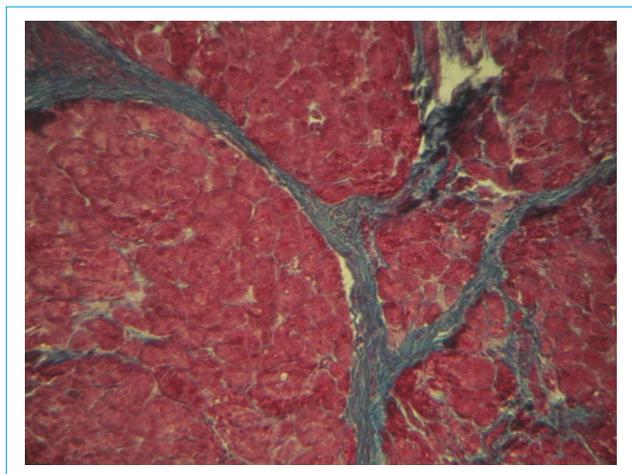


Рис. 1. I степень фиброза ПЖ, умеренный перилобулярный фиброз. Окраска по Маллори — Слинченко, $\times 100$

Fig. 1. I degree of pancreatic fibrosis, moderate perilobular fibrosis. Mallory — Slinchenko staining, $\times 100$

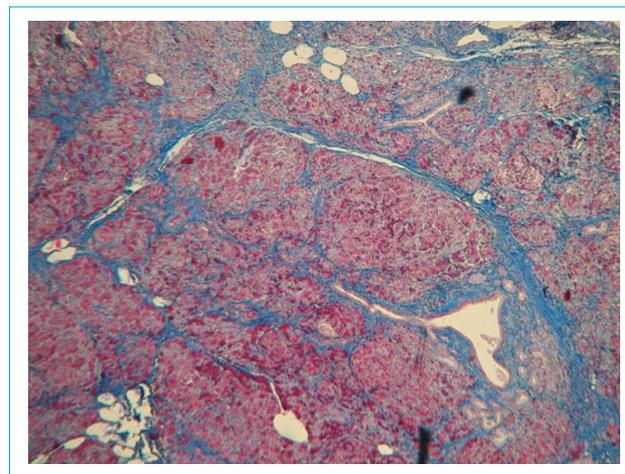


Рис. 2. I степень фиброза ПЖ, фиброзная ткань окружает ацинусы ПЖ. Окраска по Маллори — Слинченко, $\times 200$

Fig. 2. I degree of pancreatic fibrosis, fibrous tissue surrounds the acini of the pancreas. Mallory — Slinchenko staining, $\times 200$

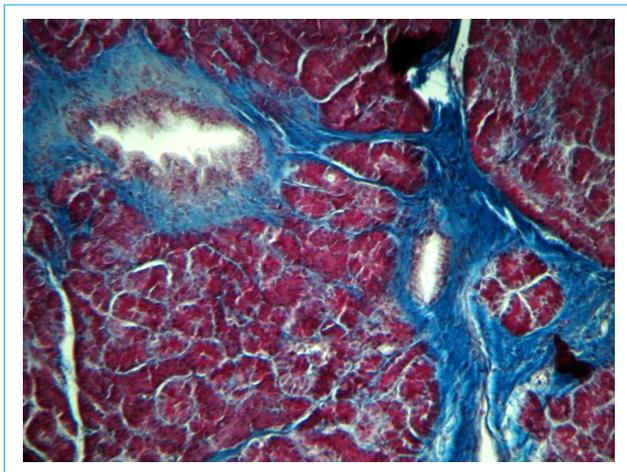


Рис. 3. II степень фиброза ПЖ. Умеренный атрофически-фиброзный панкреатит с сегментарным фиброзом. Окраска по Маллори – Слинченко, $\times 100$

Fig. 3. II degree of pancreatic fibrosis. Moderate atrophic fibrous pancreatitis with segmental fibrosis. Mallory – Slinchenko staining, $\times 100$

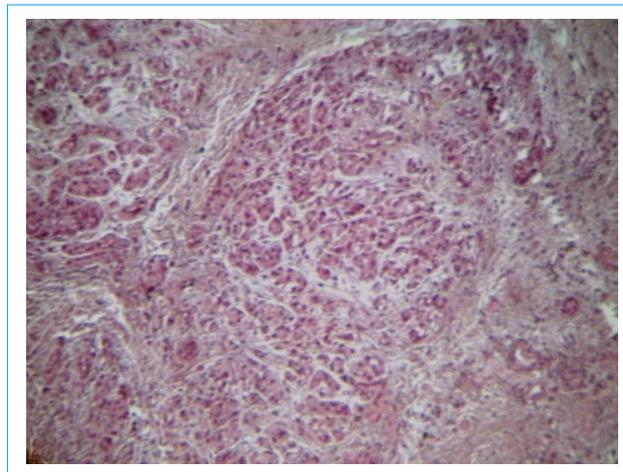


Рис. 4. III степень фиброза ПЖ. Тяжелый атрофически-фиброзный панкреатит, поля фиброзной ткани. Очаговый некроз. Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Fig. 4. III degree of pancreatic fibrosis. Severe atrophic fibrous pancreatitis, fields of fibrous tissue. Focal necrosis. Hematoxylin and eosin staining, $\times 200$

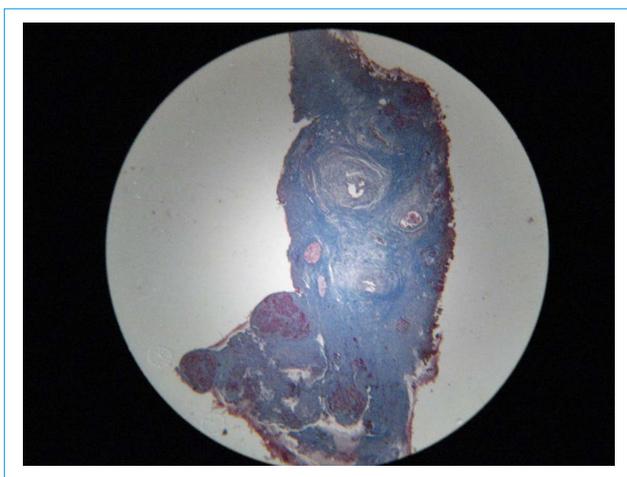


Рис. 5. III степень фиброза ПЖ, фиброзная ткань занимает практически все пространство ацинарной ткани, видны участки сохранных ацинусов. Окраска по Маллори – Слинченко, $\times 10$

Fig. 5. III degree of pancreatic fibrosis, fibrous tissue occupies almost the entire space of acinar tissue, the areas of the preserved acini are visible. Mallory – Slinchenko, $\times 10$

фиброз, соединительная ткань окутывала доли и проникала в междолевые отделы (рис. 2). В соединительной ткани, которая состояла преимущественно из молодой рыхлой соединительной ткани, выявляли слабую лимфогистиоцитарную инфильтрацию стромы, при этом островки Лангерганса оставались интактными, протоки не изменены.

У 16,7 % пациентов выявлена III степень фиброза – атрофированная ацинарная паренхима была отделена внутриволожковыми фиброзными септами, которые, сливаясь, формировали широ-

кие фиброзные поля (рис. 4, 5). Типичной была значительная атрофия ацинусов. У 1 больного выявлен очаговый некроз паренхимы. Характерным для него было набухание и лизис ацинарных клеток, накопление в зоне некроза небольшого количества макрофагов, отек стромы.

У 56,6 % больных выявлена IV степень фиброза, при котором наблюдали полную атрофию части экзокринной ткани и плотный фиброз ПЖ, при этом поля фиброзной ткани были незначительно инфильтрированы лимфоцитами.

При тяжелой степени фиброза и полном фиброзе ПЖ соединительная ткань окутывала безмиелиновые нервы, наблюдалось расширение протоков, появление в них кальцинатов, а также дисплазия и сквамозная метаплазия эпителия протоков (выявленная у 2,7 % от общего количества больных) (рис. 6, 7).

На всех стадиях развития ХП в долях железы встречались единичные ацинарные клетки в состоянии апоптоза. Эти ацинарные клетки эозинофильные имели полигональную форму, со сморщенным базофильным ядром.

У обследованных больных обнаруживали звездчатые клетки, продуцирующие экстрацеллюлярный матрикс с преобладанием коллагена I типа – основного элемента фиброзной ткани.

Выявляли очаговые скопления сегментоядерных нейтрофилов и лимфоцитов с деструктивными изменениями в паренхиме. В последующем на таких участках формировались псевдокисты, которые выявлены у 47,8 % больных ХП. Стенки псевдокисты были сформированы из грубой фиброзной ткани, кисты заполнены жидкостным матриксом. В грануляционной ткани кисты выявляли многоядерные клетки, в цитоплазме которых обнаруживали

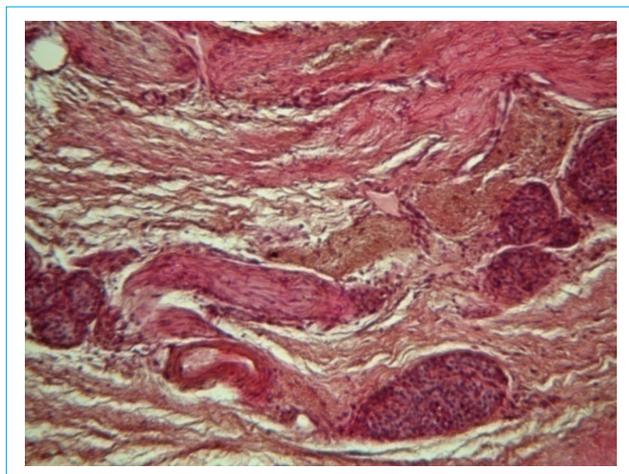


Рис. 6. IV степень фиброза ПЖ. Полный фиброз. Тяжелый атрофически-фиброзный панкреатит. Остатки эпителиальной ткани железы (нижняя половина микрофотографии). Нервы окутаны плотной соединительной тканью (верхняя половина микрофотографии). Окраска гематоксилином и эозином, $\times 200$

Fig. 6. IV degree of pancreatic fibrosis. Full fibrosis. Severe atrophic fibrous pancreatitis. The remnants of the epithelial tissue of the gland (lower half of the micrograph). Nerves are shrouded in dense connective tissue (upper half of micrograph). Hematoxylin and eosin staining, $\times 200$

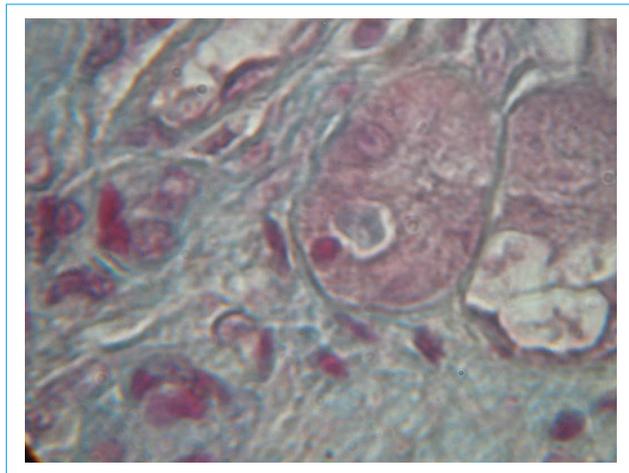


Рис. 8. Апоптоз в ацинарных клетках. Справа видны три апоптотически измененные клетки. Окраска по Маллори – Слинченко, $\times 1000$

Fig. 8. Apoptosis in acinar cells. On the right, three apoptotically modified cells are observed. Mallory – Slinchenko staining, $\times 1000$

желто-коричневый пигмент (липофусцин), который является маркером «старения» клеток.

Апоптоз принимает важное участие в образовании этих кист (рис. 8). При формировании кист в ядрах клеток дегенерированного протокового эпителия наблюдалась экспрессия эндонуклеазы-G (рис. 9).

Изучение локализации двух проапоптотических нуклеаз в структурах ПЖ при ХП показало,

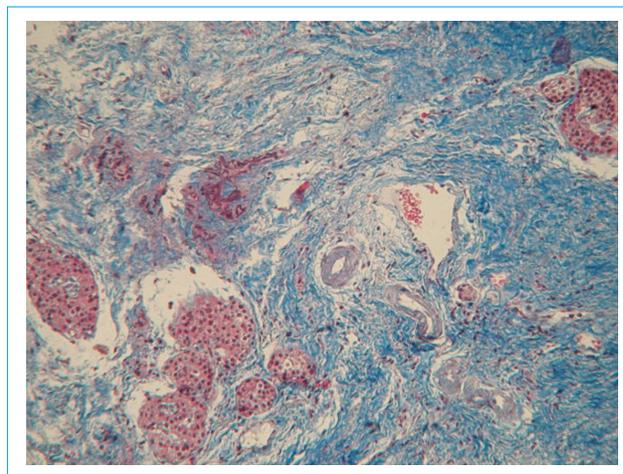


Рис. 7. IV степень фиброза ПЖ, фиброзная ткань занимает всю площадь ацинарной ткани, видны сохранные эндокринные островки. Окраска по Маллори – Слинченко, $\times 200$

Fig. 7. IV degree of pancreatic fibrosis, fibrous tissue occupies the entire area of acinar tissue, remained endocrine islets are visible. Mallory – Slinchenko staining, $\times 200$

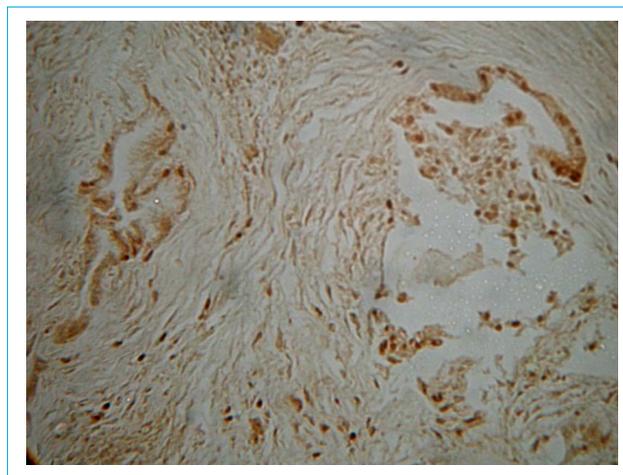


Рис. 9. Формирование кисты ПЖ. Транслокация проапоптотической эндонуклеазы G в ядра протоковых клеток указывает на необратимое начало их апоптоза. Косвенная иммунопероксидазная реакция. ДАБ-реакция, $\times 100$

Fig. 9. Formation of the pancreas cyst. Translocation of the proapoptotic endonuclease G into the nucleus of the ductal cells indicates an irreversible onset of their apoptosis. Indirect immunoperoxidase reaction. DUB reaction, $\times 100$

что проапоптотическая нуклеаза ДНК-аза I обнаруживалась только в цитоплазме ацинарных клеток ПЖ (табл. 1).

При всех степенях фиброза ХП, при которых выполнялось иммуногистохимическое исследование, в долях ПЖ были найдены единичные ацинарные клетки с транслокацией нуклеазы как раннего маркера апоптоза из цитоплазмы в ядро клеток (рис. 10, 11).

Таблица 1. Локализация апоптотических протеаз в структурах ПЖ

Table 1. Localization of apoptotic proteases in the pancreas structures

Ферменты апоптоза Apoptosis ferments	Структура поджелудочной железы / Pancreas structure		
	ацинарная клетка acinar cell	проток duct	инсула insula
дНК-аза I DNA-ase I	+	–	–
Эндонуклеаза-G Endonuclease-G	–	+	+

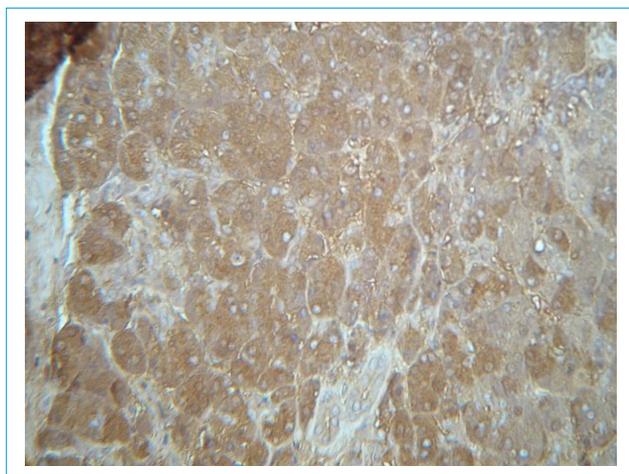


Рис. 10. I степень фиброза ПЖ. Проапоптотическая протеаза ДНК-аза I расположена в цитоплазме ацинарных клеток ацинусов ПЖ. Косвенная иммунопероксидазная реакция с подкраской ядер клеток гематоксилином. ДАБ- реакция, $\times 400$

Fig. 10. I degree of pancreatic fibrosis. Proapoptotic protease of DNA-ase I is located in the cytoplasm of acinar cells of the pancreas acini. Indirect immunoperoxidase reaction with tinting of cell nuclei with hematoxylin. DUB-reaction, $\times 400$

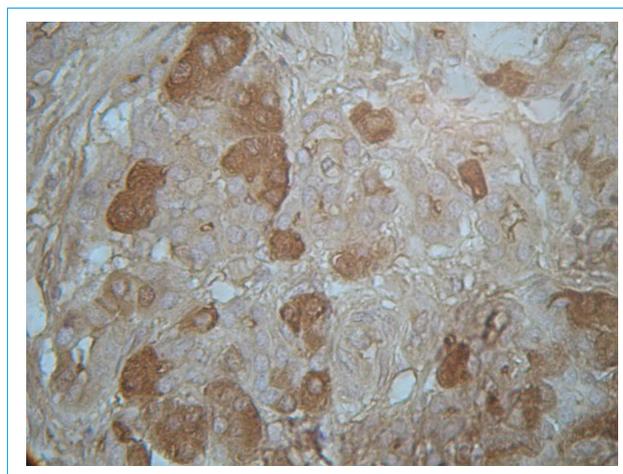


Рис. 11. III степень фиброза ПЖ, экспрессия ДНК-азы I в цитоплазме ацинарных клеток атрофированной доли ПЖ. Косвенная иммунопероксидазная реакция с подкраской ядер клеток гематоксилином. ДАБ-реакция, $\times 400$

Fig. 11. III degree of pancreatic fibrosis, expression of DNA-ase I in the cytoplasm of acinar cells of the atrophied lobe of the pancreas. Indirect immunoperoxidase reaction with tinting of cell nuclei with hematoxylin. DUB-reaction, $\times 400$

Выявлена выраженная экспрессия эндонуклеазы-G в цитоплазме небольшой части эндокринных клеток — инсула ПЖ, а в цитоплазме эпителиальных клеток протоков наблюдалась заметная, но слабая реакция (рис. 12).

Клетки островков, в цитоплазме которых наблюдалась экспрессия эндонуклеазы-G, преимущественно располагались по периферии островка, вероятно эти клетки являются камбиальными, или регуляторными для эндокринной ткани ПЖ. При III–IV степенях фиброза ПЖ выявлялись тубулярные комплексы, состоящие из интрадольных протоков с наличием в их конечных отделах группы эндокринных клеток. В этих комплексах обязательно присутствовали эндонуклеазы-G-положительные эндокринные клетки (рис. 13).

Апоптоз легко распознается при световой микроскопии. При ХП он определяется главным образом в ацинарной ткани ПЖ. Этот факт сам по себе свидетельствует о большей устойчивости эндокринной ткани ПЖ к воспалительным по-

ражениям, чем экзокринной ткани. Как хорошо известно, экзо- и эндокринные части ПЖ имеют разное эмбриональное происхождение и функции. Вероятно, этим и объясняется разница в частоте выявления в них апоптоза.

Строгое различие локализации проапоптотических протеаз в ПЖ (ДНК-азы I в экзокринной части, а эндонуклеазы-G в ее эндокринной части) свидетельствует о функционировании различных апоптотических механизмов повреждения экзокринной и эндокринной части при ХП.

Установлено, что при I степени фиброза ПЖ доля эндонуклеазы-G-положительных клеток составляет 2,6 %, а при IV степени фиброза увеличивается до 15,7 % (табл. 2). Таким образом, увеличение доли эндонуклеазы-G-положительных клеток в эндокринной ткани ПЖ обусловлено развитием фиброза ПЖ при ХП.

При прогрессировании ХП общим правилом является то, что эндокринная ткань ПЖ поражается позже экзокринной, это происходит за счет

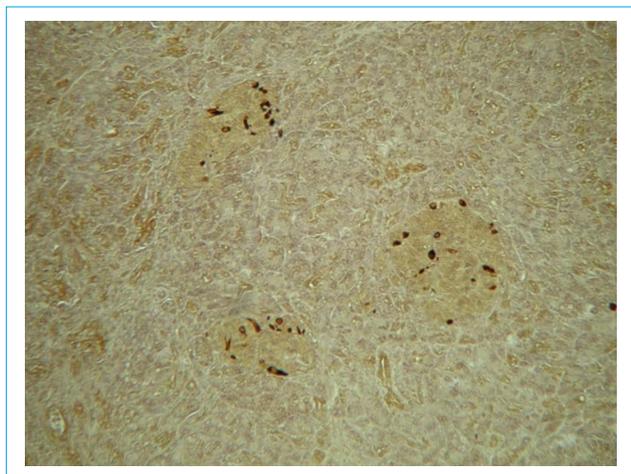


Рис. 12. I степень фиброза ПЖ. Зона сохранения нормальной структуры железы. Эндонуклеаза-G в цитоплазме части клеток островков Лангерганса (выраженный сигнал), в цитоплазме эпителиоцитов протоков (слабый сигнал). Косвенная иммунопероксидазная реакция с подкраской ядер клеток гематоксилином. ДАБ-реакция, $\times 100$

Fig. 12. I degree of pancreatic fibrosis. The zone of preservation of the normal structure of the gland. Endonuclease-G in the cytoplasm of a part of the cells of the islets of Langerhans (pronounced signal), in the cytoplasm of the epithelial cells of the ducts (weak signal). Indirect immunoperoxidase reaction with tinting of cell nuclei with hematoxylin. DUB-reaction, $\times 100$

большей устойчивости эндокринной ткани к поражению и активных процессов регенерации [3]. Однако есть случаи, когда регенерация становится патологической с формированием незидиобластома и эндокринно-активных опухолей. Нами выявлен случай незидиобластома (6,3 %) у больного ХП, осложненным псевдокистой.

У пациента наблюдался полный фиброз ПЖ с дефицитом экзокринной ткани, но среди плотной соединительной ткани были линейно расположены мелкие тяжи эндокринной ткани. Наряду с эндокринными тяжами расположены округлой формы островки Лангерганса значительных размеров, хорошо васкуляризованы (рис. 14).

Заключение

Таким образом, при ХП проапоптотические протеазы ДНК-аза I и эндонуклеаза-G экспрессируются в цитоплазме клеток разных частей ПЖ: ДНК-аза I экспрессируется в цитоплазме ацинарных клеток, а эндонуклеаза-G — в части инсулярных клеток и в эпителии протоков, что свидетельствует о существовании различных механизмов апоптоза в экзо- и эндокринной частях ПЖ. При регенерации ПЖ в условиях ХП, при III и IV степени ее фиброза, в экзокринной части формируются тубулярные комплексы. Обязательным элементом этих комплексов являются

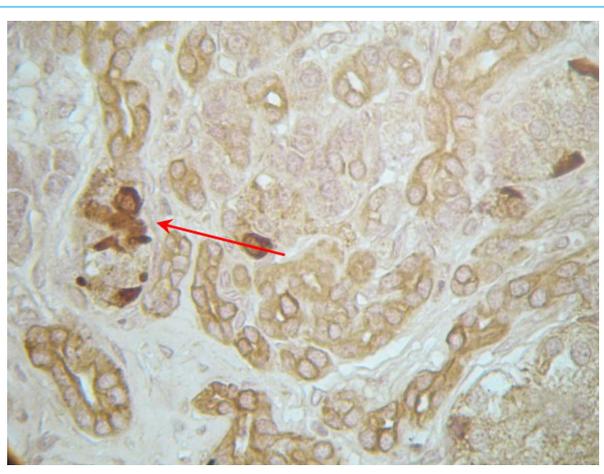


Рис. 13. III степень фиброза ПЖ. Экспрессия эндонуклеазы-G в эндокринных клетках (выраженный сигнал) и в клетках протоков (слабый сигнал). Тубулярный комплекс (указано стрелкой), $\times 200$

Fig. 13. III degree of pancreatic fibrosis. Expression of endonuclease-G in endocrine cells (pronounced signal) and in duct cells (weak signal). Tubular complex (indicated by arrow), $\times 200$



Рис. 14. На фоне полного склероза с поражением экзокринной части (IV степень фиброза) слева видно островок Лангерганса, а справа — нервный ствол. Ацинарная ткань отсутствует. Окраски по Маллори — Слинченко, $\times 400$

Fig. 14. Against the background of complete sclerosis with lesions of the exocrine part (IV degree of fibrosis), the islet of Langerhans is observable on the left, and the nerve trunk is on the right. Acinar tissue is absent. Mallory — Slinchenko staining, $\times 400$

эндокринные клетки, в цитоплазме которых экспрессируется эндонуклеаза-G.

Идентификация морфологических и биохимических маркеров апоптоза в перспективе будет способствовать более глубокому пониманию механизмов патогенеза ХП, трансформации его в аденокарциному ПЖ, улучшению дифференциальной диагностики, прогноза и созданию принципиально новых направлений терапии.

Таблица 2. Количественное отражение экспрессии эндонуклеазы-G в зависимости от выраженности фиброза ПЖ

Table 2. Quantitative reflection of the endonuclease-G expression depending on the severity of pancreatic fibrosis

Степень фиброза поджелудочной железы Degree of pancreatic fibrosis	Эндонуклеаза-G-позитивные клетки Endonuclease-G positive cells	Эндонуклеаза-G-негативные клетки Endonuclease-G negative cells	Процент эндонуклеаза-G-позитивных клеток Percentage of Endonuclease-G positive cells
I степень фиброза I degree of fibrosis	36 ± 3	140 ± 3	2,6
IV степень фиброза IV degree of fibrosis	11 ± 3	70 ± 3	15,7

Литература / References

1. Губергриц Н.Б., Ливневская К.Ю., Беляева Н.В. Дифференциальная диагностика в гастроэнтерологии. От симптома и синдрома к диагнозу и лечению: практ. рук. Киев: Труш Е.Н. [изд.]; 2018. 623 с. [Gubergrits N.B., Linevskaya K.Yu., Belyaeva N.V. Differential diagnosis in gastroenterology. From a symptom and syndrome to diagnosis and treatment: a tutorial. Kiev: Trush E.N. [ed.]; 2018. 623 с. (In Rus.)].
2. Ивашкин В.Т., Маев И.В., Охлобыстин А.В., Алексеенко С.А., Белобородова Е.В., Кучерявый Ю.А. и др. Клинические рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по диагностике и лечению экзокринной недостаточности поджелудочной железы. Рос журн гастроэнтерол гепатол колопроктол. 2018;28(2):72–100. [Ivashkin V.T., Maev I.V., Okhlobystin A.V., Alekseyenko S.A., Beloborodova Ye.V., Kucheryavy Yu.A. et al. Diagnostics and treatment of pancreatic exocrine insufficiency: clinical guidelines of the Russian gastroenterological association. Rus J Gastroenterol Hepatol Coloproctol. 2018;28(2):72-100 (In Rus.)] DOI: 10.22416/1382-4376-2018-28-2-72-100
3. Beger H.G., editors. The Pancreas: An Integrated Textbook of Basic Science, Medicine and Surgery. Oxford: Willey Blackwell; 2018:1173.
4. Machado J.D., Chari S.T., Timmons L., Tang G., Yadav D. A population-based evaluation of the natural history of chronic pancreatitis. Pancreatol. 2018;18(1):39–45. DOI: 10.1016/j.pan.2017.11.012
5. Brock C., Nielsen L.M., Lelic D., Drewes A.M. Pathophysiology of chronic pancreatitis. World J Gastroenterol. 2013;19(42):7231–40. DOI: 10.3748/wjg.v19.i42.7231
6. Kleeff J., Whitcomb D.C., Shimosegawa T., Esposito I., Lerch M.M., Gress T. et al. Chronic pancreatitis. Nat Rev Dis Primers. 2017;3:17060. DOI: 10.1038/nrdp.2017.60
7. Белишклина Н.Н., Хасан С.Е., Северин Х.А. Молекулярные основы апоптоза. Вопросы биол. мед. и фарм. химии. 1998;4:15–23. [Belushkina N.N., Hasan S.E., Severin Kh.A. Molecular basis of apoptosis. Issues of biol. med. and farm. chemistry. 1998; 4:15–23 (In Rus.)].
8. Лушников Е.Ф., Загребин В.М. Апоптоз клеток: морфология, биологическая роль, механизмы развития. Архив патологии. 1987;49:84–89. [Lushnikov E.F., Zagrebin V.M. Apoptosis of cells: morphology, biological role, developmental mechanisms. Archive of pathology. 1987;49:84–9 (In Rus.)].
9. Новиков В.С., редактор. Программированная клеточная гибель. Санкт-Петербург: Наука; 1996. 254 с. [Novikov V.S., editor. Programmed cell death. St. Petersburg: Nauka; 1996. 254 p. (In Rus.)].
10. Yang S., Zhao X., Xu H., Chen F., Xu Y., Li Z. et al. AKT2 Blocks Nucleus Translocation of Apoptosis-Inducing Factor (AIF) and Endonuclease G (EndoG) While Promoting Caspase Activation during Cardiac Ischemia. Int. J. Mol. Sci. 2017;18:565. DOI: 10.3390/ijms18030565
11. Bateman A.C., Turner S.M., Thomas K.S., McCruden P.R., Fine D.R., Johnson P.A. et al. Apoptosis and proliferation of acinar and islet cells in chronic pancreatitis: evidence for differential cell loss mediating preservation of islet function. Gut. 2002;50(4):542–8.
12. Grabarek J., Amstad P., Darzynkiewicz Z. Use of fluorescently labeled caspase inhibitors as affinity labels to detect activated caspases. Hum Cell. 2002;15:1–12.
13. Robert L. Low Mitochondrial Endonuclease G function in apoptosis and mtDNA metabolism: a historical perspective. Mitochondrion. 2003;2(4):225–36. DOI: 10.1016/S1567-7249(02)00104-6
14. Wyllie A.H. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. Nature. 1980;284:555–6.
15. Stolte M. Chronische Pancreatitis. Verh. Dtsch. Ges. Path. 1987;71:175–86.
16. Енюков И.С. Методы, алгоритмы, программы многомерного статистического анализа. М.: Финансы и статистика; 1986:232 с. [Enyukov I.S. Methods, algorithms, programs for multivariate statistical analysis. M.: Finance and Statistics; 1986. 232 p. (In Rus.)].
17. Петри А., Сэбин К. Наглядная статистика в медицине. М.: GEOTAR-MED; 2003;143 с. [Petri A., Sabin K. Visual statistics in medicine. M.: GEOTAR-MED; 2003. 143 p. (In Rus.)].
18. Wang G.S., Rosenberg L., Scott T.W. Tubular complex as a source for islet neogenesis on the pancreas of diabetic-prone BB rats. Lab Invest. 2005;85(5):675–88. DOI: 10.1038/labinvest.3700259

Сведения об авторах

Губергриц Наталья Борисовна — доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры внутренней медицины № 2 Донецкого национального медицинского университета Министерства здравоохранения Украины.
Контактная информация: profnbg@mail.ru;
84404, г. Лиман, ул. Привокзальная, д. 27.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3655-9554>

Крылова Елена Александровна* — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, врач-эндоскопист ООО «Эндотехномед».
Контактная информация: lenkrlenkr@gmail.com;
49023, г. Днепр, ул. Байкальская, д. 7.

Гайдар Юрий Адольфович — доктор медицинских наук, старший научный сотрудник, заведующий лабораторией патоморфологии ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины».
Контактная информация: yuriiigaydar14@gmail.com;
49074, г. Днепр, пр-т Слобожанский, д. 96.

Information about the authors

Natalia B. Gubegriz — Dr. Sci. (Med.), Prof., Department of Internal Medicine No.2, Donetsk National Medical University.
Contact information: profnbg@mail.ru;
84404, Liman, Privokzalnaya str., 27.
ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3655-9554>

Elena A. Krylova* — Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Endoscopy Doctor, *Endotehnomed* Ltd.
Contact information: lenkrlenkr@gmail.com;
49023, Dnipro, Baykalskaya str., 7.

Yury A. Gaidar — Dr. Sci. (Med.), Senior Researcher, Laboratory Head, Laboratory of Pathomorphology, Institute of Gastroenterology, National Academy of Medical Sciences of Ukraine.
Contact information: yuriiigaydar14@gmail.com;
49074, Dnipro, Slobozhansky ave., 96.

Поступила: 14.03.2019 Принята после доработки: 29.04.2019 Опубликовано: 30.06.2019
Submitted: 14.03.2019 Revised: 29.04.2019 Published: 30.06.2019

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author