

УДК 616.37-006.6-089.87:611.42:611.36+611.37

РОЛЬ МАТРИКСНИХ МЕТАЛОПРОТЕЇНАЗ ТА ЇХ ІНГІБІТОРІВ У ПАТОГЕНЕЗІ ПСЕВДОКІСТ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ

I. A. Криворучко, Н. М. Гончарова, С. А. Андреєщев

Харківський національний медичний університет МОЗ України

THE ROLE OF MATRIX METALLOPROTEINASES AND THEIR INHIBITORS IN PATHOGENESIS OF PANCREATIC PSEUDOCYSTS

I. A. Kryvoruchko, N. M. Goncharova, S. A. Andreyeshchev

Хронічний панкреатит (ХП) належить до групи хронічних захворювань ПЗ різної, переважно запальної природи, що характеризується фазово-прогресуючими вогнищевими, сегментарними або дифузними дегенеративними і деструктивними змінами її екзокринної частини, атрофією залозистих елементів (панкреацитів), заміщенням їх фіброзною тканиною; змінами в протоковій системі ПЗ; утворенням кіст і конкрементів; порушенням екзокринної та ендокринної функцій ПЗ різного ступеня. ХП — поліетіологічне захворювання ПЗ, яке виникає внаслідок атак гострого панкреатиту (ГП) чи травми ПЗ. Як свідчать дані літератури, частота виявлення ХП становить приблизно 30 на 100 000 хворих [1].

Пріоритетними напрямками сучасних досліджень в панкреатології є вивчення механізмів втрати функціонуючої тканини ПЗ і заміщення її сполучною тканиною. При пошкодженні ацинарних клітин ПЗ провідну роль відіграють складні процеси міжклітинної взаємодії, які активізуються під впливом імунних і неімунних чинників. Тобто, в основі фіброзних змін в ПЗ при ХП, як наслідок дії динамічного каскаду цитокінів, хемокінів, факторів росту та багатьох інших, лежить порушення балансу між процесами синтезу та розпаду протеїнів позаклітинного матриксу (ПКМ) з його накопиченням та деградацією [2]. Саме фіброз ПЗ у теперішній час вважають провідним патологічним механізмом ХП та його ускладнень, ключову роль при цьому відіграють PSCs—

Реферат

Дослідження проведене у 47 хворих, оперованих з приводу псевдокіст (ПК) підшлункової залози (ПЗ). Для оцінки факторів запалення, тяжкості гіпоксії та стану реконструкції тканини ПЗ визначали активність матриксних металопротеїназ (ММП—9) та вміст їх тканинного інгібітору (ТІМП—2) у сироватці крові. Відзначено високу активність ММП—9 та ТІМП—2 у хворих за наявності ПК ПЗ I і II типу, що, ймовірно, зумовлене компенсаторною реакцією, спрямованою на пригнічення деструкції системи колагену (переважно колагену IV типу) та попередження подальшої перебудови сполучної тканини ПЗ. При прогресуванні фіброзу ПЗ активність ММП—9 та рівень ТІМП—2 знижувались у порівнянні з цими показниками за його відсутності. При ПК ПЗ III типу активність ММП—9 була на 83,6% вище, ніж у контрольній групі, проте, на 51,4 і 35,1% нижче, ніж за ПК ПЗ I і II типу. В усіх хворих спостерігали ендотеліальну дисфункцію з пошкодженням ендотелію, про що свідчило значне підвищення вмісту у плазмі крові ендотеліального фактору росту (VEGF). Це створювало сприятливі умови для ремоделювання тканини ПЗ, при цьому дефект паренхіми заміщувався тканиною з нижчим рівнем організації, зокрема, рубцевою, за повторного ушкодження клітин відзначали ще більшу активацію панкреатичних зірчастих клітин (PSCs) і збільшення продукції компоненти позаклітинної матриці.

Ключові слова: псевдокісти підшлункової залози; патогенез; матриксні металопротеїнази.

Abstract

The investigation was conducted in 47 patients, operated on for pancreatic pseudocysts (PP). Activity of matrix metalloproteinases (MMP—9) and content of their tissue inhibitor (TIMP—2) were determined in the blood serum for estimation of inflammatory factors, hypoxia severity and state of the pancreatic tissue reconstruction. High activity of MMP—9 and TIMP—2 in presence of PP types I and II was noted in patients, what, probably, is caused by compensation reaction, directed towards inhibition of the collagen system destruction (predominantly of collagen type IV) and prevention of further reconstruction of pancreatic connective tissue. While progressing of pancreatic fibrosis the MMP—9 activity and the TIMP—2 level have lowered in comparison with these indices while its absence. In PP type III the MMP—9 activity was by 83.6% higher, than in a control group, but, by 51.4 and 35.1% lower, than in PP types I and II. In all the patients endothelial dysfunction with endothelial injury was observed, witnessed by significant rising of the VEGF content in the blood serum. It have created favorable conditions for pancreatic tissue remodeling while parenchymal defect have been constituted by tissue, owing lower level of organization, including a cicatricial one. In cases of cellular repeated affection more activation of pancreatic stellate cells and enhancement of production of extracellular matrix component were noted.

Key words: pancreatic pseudocyst; pathogenesis; matrix metalloproteinases.

міофібробластоподібні клітини, здатні змінюватися від спокійного до активованого фенотипу й назад, нагадуючи PSCs печінки [3, 4]. PSCs виявляють в ділянках екзокринної тканини ПЗ, а також при активації багатьма чинниками, зокрема, етанолом, при оксидантному стресі то-

що. Ці клітини здатні мігрувати до вогнищ ураження ПЗ, беруть участь в "усуненні" пошкодження, при цьому секретують компоненти ПКМ. Порушення функціонування PSCs може відігравати роль у патогенезі як панкреатиту, так і раку ПЗ, а саме: їх надмірна й повторна активація

може спричинити рак ПЗ на тлі ХП. Це відбувається під впливом профіброгенних медіаторів, продукованих пошкодженими клітинами ПЗ, а також клітинами, які беруть участь у запаленні: макрофагами, лімфоцитами тощо, які зумовлюють перехід PSCs в активний стан [5].

Значний вклад у виникнення захворювань ПЗ вносять ендотеліальні фактори, в тому числі VEGF. Слід зазначити, що деякі доступні в літературі дані щодо порушення функції ендотелію та впливу VEGF на процеси запалення, фіброзування ПЗ суперечливі, а відомості про вплив запалення (за рівнем інтерлейкіну—6 — ІЛ—6), гіпоксії (за рівнем VEGF), желатинази В (за активністю ММП—9) і ТІМП—2 у патогенезі ХП та його ускладнень нечисленні й неоднозначні [6].

Аналіз публікацій в пошуковій базі PubMed за назвою "Matrix metalloproteinase in diseases of pancreas", показав, що станом на 17.11.14 виявлено 450 джерел, в яких так чи інакше висвітлені питання щодо ролі різних ММП в патогенезі захворювань ПЗ, проте, більшість публікацій присвячені раку ПЗ. Тільки у двох дослідженнях вивчено роль ММП—9 в патогенезі ХП. В одному з них наведені дані, пов'язані з підвищенням у сироватці крові активності ММП—9 у пацієнтів при ХП [7]; в іншому відзначено, що активація ММП—9 сприяла виникненню цукрового діабету при ХП, що пов'язане з протеолітичною деградацією інсуліну, зумовленою цим ферментом [8].

Основою для проведення дослідження стала сформульована нами гіпотеза, що в умовах гіпоксії та ішемії ПЗ внаслідок її ушкодження під впливом ангіогенних чинників відбувається активація і проліферація ендотеліоцитів, що завершується процесами неоваскуляризації, а недостатня деградація ПКМ, що накопичується, є основною причиною прогресування фіброзу і ремоделювання тканини ПЗ, появи ускладнень, у тому числі внаслідок повторної дії екзогенних та ендогенних чинників. При цьому ми вважали, що ремоделювання тканини ПЗ — гетерогенний процес, що зумовлює

зміни у сполучній тканині, порушення структури і функції органа внаслідок динамічного процесу диференціювання, міграції, розвитку та дозрівання клітин.

Мета роботи: визначити профіброгенні медіатори, маркери ендотеліальної дисфункції і гемостазу у хворих за різних типів ускладнених ПК ПЗ.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дизайн дослідження схвалений Етичним комітетом. Обов'язковою умовою включення у дослідження було одержання поінформованої згоди учасників. Дослідження проведені у 47 хворих віком у середньому ($43,58 \pm 7,38$) року, співвідношення чоловіки /жінки 8,4 : 1.

Критерії включення: наявність ПК ПЗ. За класифікацією A. D'Egidio, M. Schein, до ПК I типу віднесені постнекротичні ПК ПЗ, що утворилися після епізоду ГП або травми ПЗ; до II типу — постнекротичні ПК ПЗ, що утворилися внаслідок атак ГП у хворих на ХП; до III типу — ретенційні кисти, що виникли при ХП внаслідок стриктури проток ПЗ [9].

У дослідження не включали пацієнтів, у яких діагностовані захворювання печінки (гепатит, цироз) та рак ПЗ.

Пацієнти розподілені на три групи: у 12 хворих (1—ша група) виявлена ПК ПЗ, ускладнена нагноєнням (у 12) та гострою кровотечею в порожнину (у 2); у 16 (2—га група) — ПК ПЗ II типу (у 12 — з нагноєнням, у 3 — кровотечею в порожнину кисти, в 1 — розрив кисти з кровотечею в черевну порожнину); у 17 (3—тя група) — ПК ПЗ III типу, причиною утворення якої був фіброзно—дегенеративний панкреатит, ускладнений вторинною порталною гіпертензією, обтураційною жовтяницею тощо. Групи хворих репрезентативні ($\chi^2=1,234$, $p>0,05$).

Клінічне обстеження включало оцінку скарг, аналіз даних анамнезу основного та супутніх захворювань, оцінку антропометричних показників (ріст, маса тіла, індекс маси тіла — ІМТ), ЕКГ, визначення основних клінічних та біохімічних пара-

метрів крові і сечі, УЗД, СКТ, МРТ, рентгенографію травного каналу (за показаннями). Фактори запалення, тяжкість гіпоксії та стан реконструкції тканини ПЗ визначали за рівнем ІЛ—6, VEGF, ММП—9, ТІМП—2 та їх співвідношення (ММП—9/ТІМП—2) у сироватці крові з застосуванням імуноферментного методу. ІЛ—6, ММП—9, ТІМП—2 досліджували з використанням комерційних діагностичних наборів фірм R&D Diagnostics Inc. (США): Human MMP—9 Quantikine ELISA Kit, кат. DMP900; Human TIMP—2 Quantikine ELISA Kit, кат. DTM200; Human IL—6 Quantikine ELISA Kit кат. D6050; Human TGF—beta 1 Quantikine ELISA Kit кат. DB100B. Вміст ІЛ—8 у системному (верхня порожниста вена — ВПВ) та спланхнічному (воротна вена — ВВ) кровотоку після канюляції пупкової вени визначали за імуноферментним методом з використанням комерційних наборів Human CXCL8/IL—8 Quantikine ELISA Kit кат. D8000C (США). Для визначення впливу як патологічного процесу, так і самої операції, оцінювали досліджувані показники в крові з систем ВВ і НПВ, отриманої до основного етапу операції і через 72 год після неї.

Для отримання сироватки венозну кров, взяту в суху чисту пробірку, залишали на 30 хв при кімнатній температурі для формування згустку, потім центрифугували протягом 30 хв зі швидкістю 5000 об./хв при кімнатній температурі. Надосадову фракцію розливали на аликвоти по 0,5 мл і зберігали при температурі -40°C для проведення імуноферментного аналізу. У контрольну групу включені 15 практично здорових донорів віком від 26 до 45 років.

Статистична обробка результатів проведена з використанням пакета програм "Біостатистика" (Росія). Для опису розподілу показника визначали середнє значення, стандартну помилку середнього і стандартне квадратичне відхилення, медіану, верхній та нижній квартилі — Me (25%; 75%). Для аналізу всієї вибірки використовували критерій χ^2 . Кореляційний аналіз застосовували для оцінки зв'язку двох різних кількіс-

них ознак за методом Спірмена та однофакторного дисперсійного аналізу.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Клінічні прояви у хворих та дані клініко—лабораторних досліджень наведені на *рис. 1* та у *табл. 1*. У 22 (46,8%) хворих спостерігали гіпертермію, у 16 (34%) — жовтяницю, у 9 (19,1%) — порушення прохідності дванадцятипалої кишки (ДПК), у 8 (17%) — кальцифікацію ПЗ, у 4 (8,5%) — вірсунголітіаз, у 14 (29,8%) — регіонарний порталний блок. Нагноєння ПК ПЗ виявлене в усіх хворих 1—ї групи, обтураційна жовтяниця — у 23,5% хворих 2—ї та у 57,1% 3—ї групи; порушення прохідності ДПК — у 7,1% хворих 2—ї та у 26,7% — 3—ї групи; кальцифікація ПЗ — у 24% хворих 3—ї групи; вірсунголітіаз — у 14,3% хворих 3—ї групи; регіонарний порталний блок — у 14,3% хворих 2—ї групи та у 21,4% — 3—ї групи; стискання судинних органів — у 42,9% хворих 2—ї групи; поєднання різних ускладнень — у 28,6% хворих 2—ї та 3—ї груп.

За даними раніше проведених нами досліджень, в усіх хворих на ХП відзначали достовірне підвищення середнього рівня глікозаміногліканів і еластази у плазмі крові при прогресуванні захворювання і виникненні ускладнень, що свідчило про збільшення інтенсивності деструктивних процесів у ПКМ та фіброзування ПЗ [10].

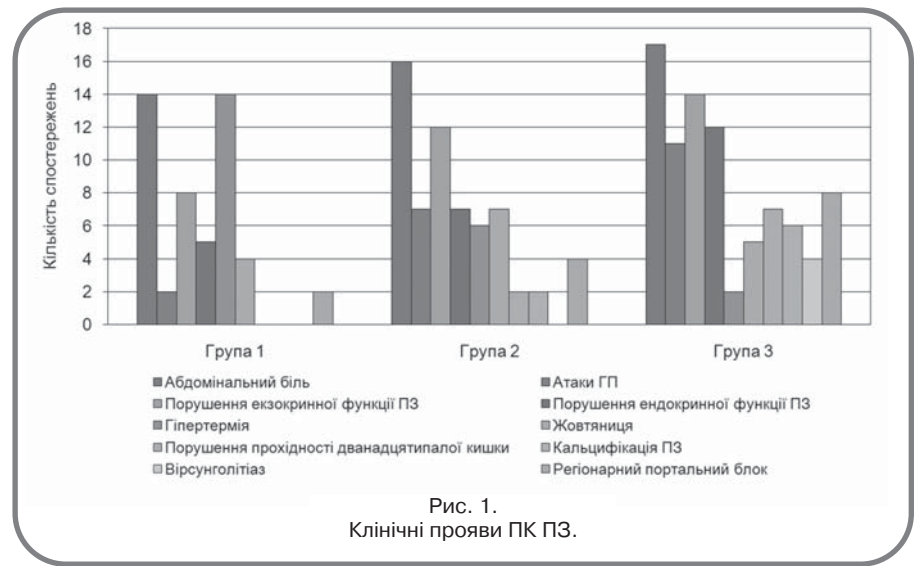


Рис. 1.
Клінічні прояви ПК ПЗ.

Концепція оптимального комплексного лікування хворих, яку ми використовуємо з 90—х років минулого століття, передбачає максимальне збереження функціонального резерву ПЗ на підставі чотирьох основних напрямків на всіх етапах: 1) контроль інтенсивності абдомінального болю; 2) лікування синдрому мальдігестії; 3) "управління" ускладненнями; 4) якомога більше збереження неураженої паренхіми під час прямих хірургічних втручань на ПЗ.

Всі хворі оперовані. Резекція вентральної частини головки ПЗ за Фреєм виконана в 11, субтотальна резекція головки ПЗ за Бернською методикою — у 3, дренажування порожнини ПК ПЗ — у 14 (у поєднанні з протоковою системою ПЗ — у 3),

пункційно—дренувальні втручання під контролем УЗД — у 10, відкриті оперативні втручання та зовнішнє дренажування порожнини ПК ПЗ — у 4. Помер один хворий від арозивної кровотечі.

За даними сучасних досліджень, панкреатит характеризується деструкцією ацинарних і дуктальних клітин, інтра— і перилюбулярним фіброзом і склерозом паренхіми ПЗ. На думку фахівців, некроз, апоптоз і фіброз є процесами динамічними, супроводжуються змінами вмісту поліпептидів, до яких належить трансформуючий фактор росту— $\beta 1$ (TGF— $\beta 1$), однією з його функцій є регулювання балансу негативних і позитивних процесів, що відбуваються в тканинах ПЗ [11]. За результатами експериментальних дослід-

Таблиця 1. Клініко—лабораторна характеристика хворих

Показник	Величина показника в групах хворих, $M \pm (Q_1 - Q_3)$		
	1-й (n=14)	2-й (n=16)	3-й (n=17)
Вік, років	43,6 (26 - 55)	45,4 (34 - 59)	44,2 (32 - 57)
Ч/Ж	12/2	10/4	11/3
ІМТ, кг/м ²	24 (21 - 28)	23 (21 - 26)	21 ± (20 - 26)
Лейкоцити крові, $\times 10^9$ в 1 л	14,8 (12,1 - 18,7)	9,7 (5,5 - 11,9)	8,2 (5,9 - 10,8)
Амілаза крові, г/(ч \times л)	64,6 (60,2 - 73,8)	48,7 (24,7 - 62,1)	24,8 (21,1 - 28,9)
Загальний білок, г/л	63,1 (60,2 - 67,8)	64,5 (63,3 - 69,4)	65,2 (60,7 - 73,2)
Загальний білірубін, мкмоль/л	22,4 (14,8 - 34,2)	27,2 (17,1 - 42,2)	44,8 (40,6 - 64,5)
АЛТ крові, нмоль/(с \times л)	42,4 (36,7 - 54,8)	45,2 (40,2 - 57,3)	44,8 (39,9 - 52,7)
АСТ крові, нмоль/(с \times л)	95,4 (87,8 - 102,1)	97,2 (91,2 - 112,3)	96,5 (92,4 - 105,6)
Глюкоза крові, ммоль/л	7,2 (5,6 - 12,4)	9,2 (8,7 - 14,3)	7,4 (7,1 - 12,3)
Креатинін крові, ммоль/л	0,065 (0,058 - 0,089)	0,068 (0,061 - 0,083)	0,069 (0,062 - 0,089)
Еластаза-1, мкг в 1 г калу	121,5 (108,6 - 156,7)	95,2 (78,4 - 112,8)	81,5 (61,2 - 97,6)

жень, гіперпродукція TGF- β 1 зумовлює виникнення у тварин панкреатиту і супутнього TGF- β —цукрового діабету [12]. TGF- β 1 активує PSCs і збільшення синтезу ними ПКМ, включаючи колаген I і III типу. Крім того, цей цитокін інгібує деградацію ПКМ внаслідок пригнічення активності специфічних металоферментів [13]. Вміст TGF- β 1, який є ключовим профібротичним цитокіном, був значно збільшений у хворих усіх груп — відповідно на 1807,5, 521,9 та 412,2% у порівнянні з таким у контрольній групі, що, очевидно, свідчило про його провідну роль у формуванні інтра- і перилобулярного фіброзу, незалежно від тригерного механізму панкреатиту та його ускладнень. Максимальне підвищення рівня TGF- β 1 спостерігали у хворих за наявності гострих ПК ПЗ, що утворилися через 4 — 6 тиж від початку ГП (рис. 2). Визначення рівня циркулюючого TGF- β 1 може відображати різні стадії перебігу панкреатиту та тяжкість ускладнень, що виникають у різні строки від початку захворювання. Отримані дані узгоджуються з думкою авторів [14 — 17], які довели, що TGF- β 1 є предиктором, що впливає на процеси проліферації фібробластів, синтез компонентів ПКМ, кооперацию клітин запалення (насамперед, макрофагів). В експериментах на тваринах відзначена висока експресія TGF- β 1 в гостру фазу запалення і пізню стадію фіброзу, при впливі на імунну систему переважали ефекти TGF- β 1, що мають

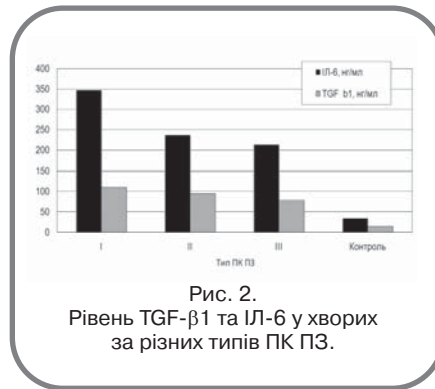


Рис. 2.
Рівень TGF- β 1 та ІЛ-6 у хворих за різних типів ПК ПЗ.

функції інгібування. TGF- β 1 як фіброгенний цитокін стимулює зміни структури ПЗ, ремоделювання її тканини, відіграє важливу роль у фіброзуванні і потенціюванні апоптозу клітин ПЗ. Ця морфологічна перебудова може бути основою патогенезу панкреатиту.

ІЛ-6 є одним з найбільш активних цитокінів, що бере участь у запальній реакції. За даними проведених нами досліджень, рівень ІЛ-6 був значно підвищений у хворих усіх груп у порівнянні з таким у контролі. Підвищення рівня ІЛ-6 було максимальним у хворих при ПК ПЗ I типу, що узгоджується з результатами досліджень, в яких вивчали стан цього цитокіну як біомаркера ішемії [18].

За всіх типів ПК ПЗ відзначали збільшення активності желатинази В у порівнянні з такою у контролі (рис. 3). У хворих при ПК ПЗ I типу активність ММП-9 підвищена на 73,5%, II типу — на 64,7% III типу — на 45,5% ($p < 0,001$). Концентрація ТІМП-2 у хворих при ПК ПЗ I типу

була у середньому на 51,6% більша, ніж у контрольній групі ($p < 0,001$); при ПК ПЗ II типу різниця показників невірогідна; при ПК ПЗ III типу — рівень ТІМП-2 був у середньому на 9,6% нижчим, ніж у контролі ($p < 0,05$) (рис. 4).

Співвідношення ММП-9/ТІМП-2 (коефіцієнт інгібування по ММП-9) при ПК ПЗ I і II типу становило відповідно 6,3 і 7,1, у контрольній групі — 2,45 ($p < 0,001$). При ПК ПЗ III типу цей коефіцієнт був меншим, ніж в інших групах, проте, на 109,8% перевищував такий у контрольній групі ($p < 0,001$). Співвідношення ММП-9/ТІМП-2 у хворих 2-ї групи на 189,8% перевищувало таке у контрольній групі, на 12,7% — у 1-й групі, на 38,1% — у 3-й групі ($p < 0,05$) (рис. 5).

Під час формування ПК ПЗ в ранній період (перші 4 — 6 тиж від початку панкреатиту) відзначають такі стадії: 1) чітко передбачуване прогресування запального інфільтрату; 2) гостре скупчення рідини; 3) утворення інкапсульованого скупчення рідини, багатого на амілазу, обмежене фіброзною тканиною очеревини та/або ретроперитонеального простору і серозною оболонкою прилеглих органів. Відсутність епітелію дозволяє диференціювати ПК від кістозних новоутворень. Основними компонентами, що утворюють активовані PSCs, є колаген I типу та, в меншій кількості колагени III і IV типу, а також фібронектин, ламінін, гіалуронова кислота тощо. За розпад ПКМ відповідають мат-

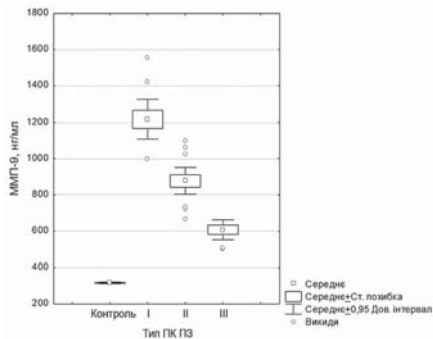


Рис. 3.
Вміст ММП-9 у сироватці крові хворих за різних типів ПК ПЗ.

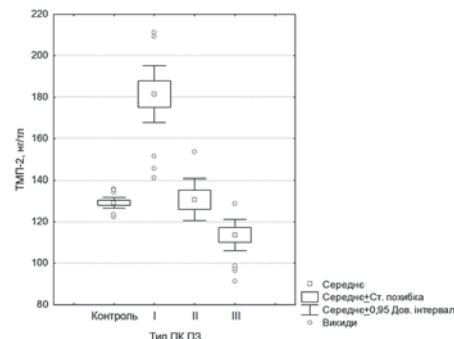


Рис. 4.
Вміст ТІМП-2 у сироватці крові хворих за різних типів ПК ПЗ.

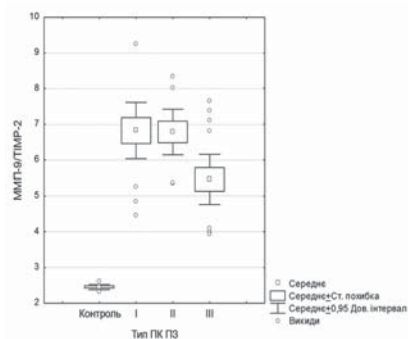


Рис. 5.
Коефіцієнт інгібування по ММП-9 у хворих за різних типів ПК ПЗ.

ричні металопротеїнази (ММП) — група ендопептидаз, які продукують PSCs, їх протеолітична активність регулюється тканинними інгібіторами — групою білків, які також продукують PSCs. Регуляція експресії металопротеїназ відбувається на трьох рівнях: геномному, шляхом активації проензимів та інгібіції активності ферментів за участю тканинних інгібіторів. Активність ММП залежить, зокрема, від експресії їх генів і балансу активаторів та інгібіторів. Модуляторами експресії ММП є TNF- α IL-1 β , IL-8, IL-17, епідермальний фактор росту (EGF), трансформуючий фактор росту (TGF) тощо. Всі вони спричиняють стійкі порушення функцій імуннокомпетентних клітин різного типу [19]. Експресію ММП інгібують остеокальцитонін, доксициклін, ретиноїди, глікозаміноглікани.

Експресія ММП, що є компонентами клітинних мембран, дуже схожа з експресією класичних білків гострої фази і факторів гуморального вродженого імунітету та регулюється протизапальними цитокінами, а також бактеріальними ліпополісахаридами. Експресію ММП вважають найважливішим чинником деградації ПКМ, "критичним кроком" у його ремоделюванні, маркером активності запалення, фіброзу й склерозу ПЗ. Гіалуронова кислота, тканинні інгібітори ММП (ТІМП—1, ТІМП—2), ламінін, лептин, колаген IV типу та ін. використовують як показники, що відображають кількість сполучної тканини [4]. Активність ферментів залежить як від експресії їх генів, так і наявності активаторів та інгібіторів. ММП в основному належать до "індукованих" ферментів, транскрипція яких підпорядковується багатьом чинникам: стероїдним і тиреоїдним гормонам, цитокінам, факторам росту, хімічним агентам тощо. Винятком є ММП—2, експресія якої відбувається за конституціональним типом, а регуляція активності ферментів на посттрансляційному рівні здійснюється шляхом активації зимогенів або взаємодії з тканинними інгібіторами ММП [20, 21].

Вклад PSCs у пошкодження ПЗ не обмежується надмірною продук-

цією сполучної тканини, вони також стимулюють фактори росту, зокрема, трансформуючий фактор (TGF- β), тромбоцитарний (PDGF) та ін. Крім того, активації фіброзування у ПЗ сприяють бактеріальна інфекція та внутрішньоклітинна продукція кисневих радикалів [10]. Проліферація PSCs зумовлює формування нових кровоносних судин. Ці процеси є наслідком гіпоксії тканин ПЗ та дії вазоактивних медіаторів і цитокінів: оксиду азоту та інших [22]. Процес ангиогенезу необхідний для тривалої адаптації тканин в умовах ушкодження, а основним механізмом його регуляції є вивільнення ангиогенних факторів, джерелами яких є ендотеліальні клітини, тканинні базофіли, макрофаги тощо. Під впливом ангиогенних факторів відбувається активація проліферації ендотеліоцитів (переважно в посткапілярних венулах), яка завершується ремоделюванням судин, після чого сформована судина стає стабільною. Припускають, що в механізмі міграції ендотеліоцитів важливе значення має активація експресії ендотеліальних молекул адгезії, наприклад, E-селектину. У стабільному стані ендотеліоцити не здатні до проліферації і лише рідко (1 раз на 7 — 10 років) діляться. Ангиогенез може бути індукований при підвищенні концентрації стимуляторів і зниженні рівня інгібіторів або при поєднанні цих процесів. Таким чином, процес ангиогенезу передбачає, що після розширення судин і збільшення проникності їх стінки виникає констрикція ендотеліальних клітин, зменшується щільність міжклітинних контактів. Внаслідок цього базальна мембрана руйнується деякими протеазами, в тому числі ММП. Пул ендотеліальних клітин крізь зруйновану базальну мембрану мігрує в паренхіму під впливом ангиогенних факторів, формуються нові незрілі капілярні петлі. У свою чергу, при прогресуванні фіброзу може збільшуватися резистентність ендотелію судин ПЗ, що зумовлює ще більше порушення її функціональних можливостей і сприяє прогресуванню фіброзу. Фіброз паренхіми ПЗ, що прогресує при ХП, зумовлює підвищення в ній

тиску, порушення екзокринної та ендокринної функцій органа, а обструкція проток II і III порядку — зменшення кількості функціонуючих ацинарних клітин.

При патологічних процесах відзначають активацію ангиогенезу, що може впливати на процеси в ПКМ [11]. VEGF — потенційний мітоген для епітеліальних клітин судин. Він справляє значний вплив на проникність стінки судин, є потужним ангиогенним білком, бере участь в процесах неоваскуляризації в різних патологічних ситуаціях, в тому числі при ХП.

Таким чином, агресивний і тяжкий перебіг ПК ПЗ (8 балів і більше за шкалою SOFA) асоціюється з більш високою активністю ММП—9, а прогресування фіброзу і виникнення ускладнень у хворих при ПК ПЗ III типу — з меншим вмістом ТІМП—2. При цьому, середній рівень показника був не тільки меншим, ніж у пацієнтів 1—ї та 2—ї груп, а й на 9,3% менше такого у контрольній групі ($p < 0,05$). Отже, за різних типів ускладнених ПК ПЗ виявляють порушення балансу ММП та їх інгібіторів, що має важливе значення для швидкості протеолізу ПКМ з переважанням процесів їх утворення та накопичення.

Нами визначені внутрішньогрупові кореляційні зв'язки між вмістом VEGF (показник гіпоксії та пошкодження ендотелію), активністю ММП—9 та рівнем ТІМП—2 у крові хворих за наявності ПК ПЗ (табл. 2). При всіх типах ПК ПЗ встановлений позитивний зв'язок тільки між активністю ММП—9 та рівнем VEGF: при ПК ПЗ I типу він становив 0,57 ($p < 0,05$), II типу — 0,76 ($p < 0,05$), III типу — 0,68 ($p < 0,01$). Результати дослідження свідчать, що в усіх хворих спостерігали ендотеліальну дисфункцію з пошкодженням ендотелію, про що свідчило значне підвищення у плазмі крові рівня VEGF на 176,4% (у 1—ї групі), 129,2% (у 2—ї групі) та 54,2% (у 3—ї групі) у порівнянні з таким у контролі ($p < 0,05$).

Таким чином, з використанням однофакторного дисперсійного аналізу можна оцінити відмінності між середніми значеннями показ-

Таблиця 2. Внутрішньогрупові кореляційні зв'язки між рівнем VEGF, активністю ММП–9 і вмістом ТІМП–2 у хворих за наявності ПК ПЗ

ПК ПЗ I типу			
	VEGF	ММП–9	ТІМП–2
VEGF	1,0000	0,57, p<0,05	0,09, p>0,05
ММП–9	0,57, p<0,05	1,0000	–0,23, p>0,05
ТІМП–2	–0,23, p>0,05	0,09, p>0,05	1,0000
ПК ПЗ II типу			
	VEGF	ММП–9	ТІМП–2
VEGF	1,0000	0,76, p<0,05	0,25, p>0,05
ММП–9	0,76, p<0,05	1,0000	0,24, p>0,05
ТІМП–2	0,25, p>0,05	0,24, p>0,05	1,0000
ПК ПЗ III типу			
	VEGF	ММП–9	ТІМП–2
VEGF	1,0000	0,68, p<0,01	0,07, p>0,05
ММП–9	0,68, p<0,01	1,0000	0,3, p>0,05
ТІМП–2	0,07, p>0,05	0,24, p>0,05	1,0000

ників у чотирьох групах. За довірчої ймовірності 0,95% ($p < 0,05$) показник ММП–9 значимо різнився в усіх чотирьох групах; ТІМП–2 — тільки у 1–й і 3–й групах, як між групами, так і в порівнянні з контролем і в 2–й групі. У середньому співвідношення ММП–9 / ТІМП–2 вірогідно різнилося тільки у 3–й групі у порівнянні з контрольною та 1–ю і 2–ю групами. Висока активність ММП–9 та рівень ТІМП–2 у хворих при ПК ПЗ I і II типу, можливо, зумовлені компенсаторною реакцією, спрямованою на пригнічення деструкції системи колагену (переважно колагену IV типу) та попередження подальшої перебудови сполучної тканини ПЗ. При прогресуванні фіброзу ПЗ (у хворих 3–ї групи) активність ММП–9 та рівень ТІМП–2

знижувались у порівнянні з такими у хворих 1–ї та 2–ї груп. При ПК ПЗ III типу активність желатинази В була на 83,6% вище, ніж у контрольній групі, проте, на 51,4 і 35,1% нижче, ніж у хворих при ПК ПЗ I і II типу. При цьому рівень ТІМП–2 у хворих 3–ї групи був у середньому відповідно на 40,4 і 11% ($p < 0,05$) нижчим, ніж в 1–й і 2–й групах. ММП–9 відіграє важливу роль при хронічних фазах різних хвороб [8]. Крім того, регресія ПКМ також відбувається завдяки апоптозу PSCs. У подальшому все залежить від впливу шкідливого чинника (вірусів, аутоантитіл, токсинів тощо). Якщо вплив патогенного чинника припиняється, на тлі триваючої активності ММП та апоптозу відбувається деградація колагену. Цей варіант сприятливий,

подібні спостереження описані у пацієнтів при синдромі перевантаження залізом і міддю, алкогольіндукованому ураженні печінки, хронічному вірусному гепатиті після видалення вірусу, неалкогольному стеатогепатиті, аутоімунному гепатиті тощо [11]. Результати цих досліджень дозволяють припустити, що в умовах гіпоксії і ішемії тканини ПЗ внаслідок її uszkodження під впливом ангіогенних факторів відбуваються активація і проліферація ендотеліоцитів, що завершується ремоделюванням судин та процесами неоваскуляризації. Внаслідок порушення стійкого балансу між швидкістю утворення білків та їх розпадом змінюється структура панкреатитів. Уповільнення процесів утилізації компонентів ПКМ, що накопичуються в зоні пошкодження ПЗ, веде до уповільнення процесів репарації та може бути основною причиною прогресування фіброзу, появою ХП та його ускладнень, у тому числі внаслідок повторного впливу екзогенних та ендогенних чинників, активації PSCs, про що свідчить збільшення концентрації ТІМП–2 і коефіцієнту інгібування ММП–9 при ПК ПЗ всіх типів. Відповідно, це створює сприятливі умови для ремоделювання тканини ПЗ, коли дефект паренхіми органа замщується тканиною з нижчим рівнем організації, наприклад, рубцевою, при повторному uszkodженні клітин зумовлює ще більшу активацію PSCs, зміни геометрії органа, появу ХП та його ускладнень.

ЛІТЕРАТУРА

- Genetic risk for alcoholic chronic pancreatitis / M. Z. da Costa, D. R. Guarita, S. K. Ono—Nita [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Publ. Health.* — 2011. — N 8. — P. 2747 — 2757.
- 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.
- Хирургическое лечение хронического панкреатита на основании классификации М. Buchler и соавторов / И. А. Криворучко, В. В. Бойко, Н. Н. Гончарова, С. А. Андреещев // *Клін. хірургія.* — 2011. — № 8. — С. 17 — 24.
- The pancreatic stellate cell: a star on the rise in pancreatic diseases / M. B. Omary, A. Lugea, A. W. Lowe, S. J. Pandol // *J. Clin. Invest.* — 2007. — Vol. 117, N 1. — P. 50 — 59.
- Jaster R. Molecular regulation of pancreatic stellate cell function / R. Jaster // *Mol. Cancer.* — 2004. — Vol. 3, N 26. — P. 1476 — 4598.
- Tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 (TIMP1) controls adipogenesis in obesity in mice and in humans / B. Meissburger, L. Stachorski, E. Roder [et al.] // *Diabetologia.* — 2011. — Vol. 54, N 6. — P. 1468 — 1479.
- Akhmedov V. A. The matrix metalloproteinase 9 (MMP–9) and TIMP–1 activities in patients with chronic and recurrent pancreatitis / V. A. Akhmedov, A. V. Budygin, V. T. Dolgikh // *Eksp. Klin. Gastroenterol.* — 2010. — Vol. 6. — P. 11 — 13.
- Gelatinase B is diabetogenic in acute and chronic pancreatitis by cleaving insulin / F. J. Descamps, P. E. Van den Steen, E. Martens [et al.] // *G. FASEB J.* — 2003. — Vol. 17 — P. 887 — 889.
- D'Egidio A. Pancreatic pseudocysts: a proposed classification and its management implications / A. D'Egidio, M. Schein // *Br. J. Surg.* — 1991. — Vol. 78, N 8. — P. 981 — 984.
- Ингибирование активированных панкреатических звездчатых клеток витаминами А и Е для предупреждения фиброза поджелудочной железы в модели хронического алкогольного панкреатита / М. Е. Ничитайло, Д. А. Кравченко, Е. Б. Медведский [и др.] // *Морфология.* — 2012. — Т. 6, № 2. — С. 34 — 42.
- Stetter—Stevenson W. G. Matrix metalloproteinases in angiogenesis: a moving target for therapeutic intervention / W. G. Stetter—Stevenson // *J. Clin. Invest.* — 1999. — Vol. 103, N 9. — P. 1237 — 1241.
- Differential expression of reg–I and reg–II genes during aging in

- normal mouse / R. Perfitti, J. M. Egan, M. E. Zenilmen, A. R. Shuldiner // *J. Gerontol.* — 1996. — Vol. 51. — P. 308 — 315.
13. Rat pancreatic stellate cells secrete matrix metalloproteinases: implications for extracellular matrix turnover / P. A. Phillips, J. A. McCarroll, S. Park [et al.] // *Gut.*—2003. — Vol. 52, N 10. — P. 275 — 282.
 14. Alcohol modulates circulating levels of interleukin—6 and monocyte chemoattractant protein—1 in chronic pancreatitis / N. Pedersen, S. Larsen, J. B. Seidelin, O. H. Nielsen // *Scand. J. Gastroenterol.* — 2004. — Vol. 39. — P. 277 — 280.
 15. Su S. B. Expression of transforming growth factor—beta in spontaneous chronic pancreatitis in the WBN / S. B. Su, Y. Motoo, M. J. Xie Kob // *Rat. Dig. Dis. Sci.* — 2000. — Vol. 4. — P. 151 — 159.
 16. Wynn T. A. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis / T. A. Wynn // *J. Pathol.* — 2008. — Vol. 214. — P. 199 — 210.
 17. Amelioration of pancreatic fibrosis in mice with defective TGF—beta signaling / B. M. Yoo, M. Yeo, T. Y. Oh [et al.] // *Pancreas.* — 2005. — Vol. 30. — P. 27 — 29.
 18. Visse R. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, function, and biochemistry / R. Visse, H. Nagase // *Circ. Res.* — 2003. — N 2. — P. 827 — 839.
 19. A proposal for a new clinical classification of chronic pancreatitis / M. Buchler, M. Martignoni, H. Friess, P. Malfertheiner // *BMC. Gastroenterol.* — 2009. — Vol. 9. — P. 93 — 101.
 20. Назаров П. Г. Реактанты острой фазы воспаления / П. Г. Назаров. — СПб.: Наука, 2001. — 423 с.
 21. Epidemiology, risk factors, and the promotion of pancreatic cancer: role of the stellate cell / S. Pandol, A. Gukovskaya, M. Edderkaoui [et al.] // *J. Gastroenterol. Hepatol.* — 2012. — Vol. 27, suppl. 2. — P. 127 — 134.
 22. Increased expression of matrix metalloproteinases—21 and —26 and TIMP—4 in pancreatic adenocarcinoma / V. Bister, T. Skoog, S. Virolainen [et al.] // *Mod. Pathol.* — 2007. — Vol. 20, N 11. — P. 1128 — 1140.

