



Н. Б. Губергриц¹, Н. В. Беляева¹, А. Е. Ключков¹,
П. Г. Фоменко¹, Л. А. Ярошенко¹, В. С. Рахметова²

¹Донецкий национальный медицинский университет, Лиман

²Медицинский университет Астана, Республика Казахстан

Фиброгенез в поджелудочной железе: современные представления

Сильное желание чему-то научиться — это уже 50% успеха.

Дейл Карнеги

Панкреатические звездчатые клетки представляют собой плюрипотентные клетки, расположенные между дольками поджелудочной железы и окружающими их синусами. В состоянии покоя (неактивном состоянии) панкреатические звездчатые клетки содержат в цитоплазме запас витаминов А (ретиноидов), промежуточные ферменты, десмин, глиофибрилярный кислый белок, нестин, нейроэктодермальные белки, молекулы адгезии нервных клеток и факторы роста нервов. После активации панкреатические звездчатые клетки могут трансформироваться в миофибробластоподобные клетки. Они утративают липидные капли с витамином А, в них уменьшается содержание виментина, десмина. Повышается пролиферация, миграция, возрастает синтез внутриклеточного матрикса. Данные свидетельствуют о том, что активированные панкреатические звездчатые клетки являются основным источником накопления белков внеклеточного матрикса при патологических состояниях, которые приводят к фиброзу поджелудочной железы при хроническом панкреатите и ретроперitoneальной поджелудочной железе. Проведены современные данные литературы о механизмах фиброза поджелудочной железы, роли звездчатых клеток в фиброгенезе. Приведены результаты исследований функций панкреатических звездчатых клеток в норме и при патологии (остром и хроническом панкреатите, ретроперitoneальной железе). Описаны варианты фиброза поджелудочной железы, механизмы его развития при старении. Обобщены результаты недавних исследований биологических свойств панкреатических звездчатых клеток, включая их участие в синтезе экзосом, процесс клеточного старения, эпителиальной мезенхимальной трансформации, метастазирования. Особое значение имеет ретроперitoneальной фибротической терапии на основе теоретических знаний и результатов экспериментальных исследований.

Ключевые слова: поджелудочная железа, звездчатые клетки, фиброз, внеклеточный матрикс, сигнальные пути, перспективы ретроперitoneальной терапии.

Фиброгенез представляет собой увеличение объема уже имеющейся или образование новой фиброзной ткани. В здоровой поджелудочной железе (ПЖ) фиброгенез — это хорошо контролируемый регулируемый процесс, необходимый для обеспечения обмена (синтез — деградация) внеклеточного матрикса (ВКМ) в панкреатическом, поддерживающего нормальную структуру ПЖ. Однако при патологии нарушается баланс между развитием и разрушением фиброзной ткани, что приводит к избыточному накоплению белков ВКМ в органе. В конечном итоге это приводит к патологическому фиброзу [102].

Клеточные и молекулярные механизмы, участвующие в фиброгенезе ПЖ, стали объектом изучения только в 1998 г., когда были разработаны методы выделения из ПЖ грызунов и человека и культивирования панкреатических звездчатых клеток (ПЗК), которые в настоящее время признаны ключевыми клетками в процессе фиброгенеза (рис. 1) [8, 14, 109]. Интересно, что о наличии этих клеток в ПЖ было впервые сообщено японскими исследователями N. Watari и соавт. [114] на полтора десятилетия раньше (1982) и подтверждено N. Ikejiri [46] в 1990 г. Однако в то время о функции ПЗК было известно мало. Разработкой методов выделения жизнеспособных ПЗК из ПЖ *in vitro* для ученых инструментом, позволивший исследовать функции

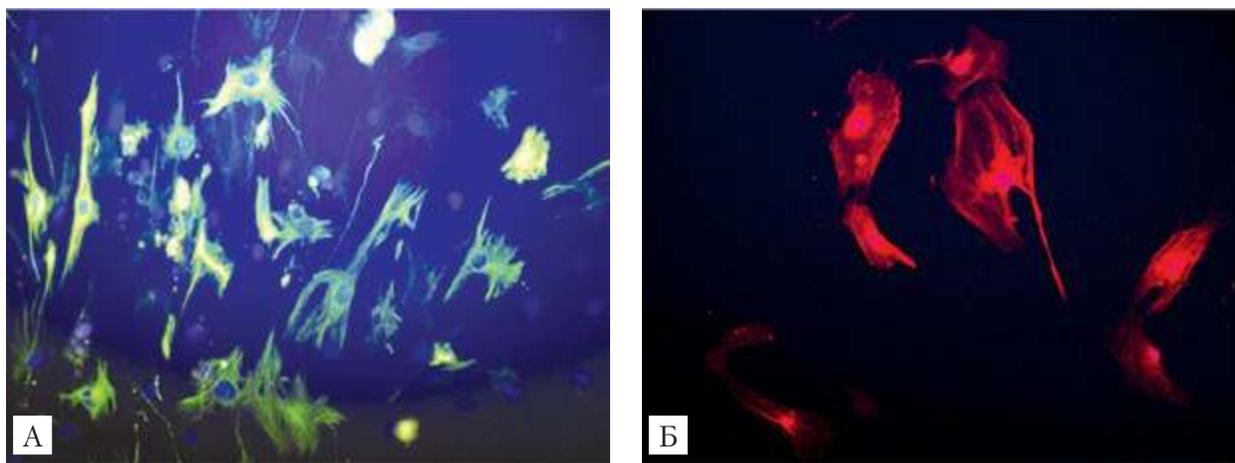


Рис. 1. П панкре тические звездч тые клетки (по R. Хие и со вт. [120]): А — в состоянии покоя, содержит десмин; Б — активированные клетки, содержат α -ктин гладких мышц. Окраска по Hoechst 33258 и Alexa Fluor 488 не содержит десмин (А) и по Hoechst 33258 и Alexa Fluor 594 не содержит α -ктин гладких мышц (Б). $\times 200$

этих клеток как в нормальном состоянии, так и при заболеваниях ПЖ [102].

Панкреатические звездчатые клетки у здоровых лиц

ПЗК представляют собой резидентные клетки ПЖ, расположенные вокруг билиарной системы циноцитов (рис. 2А), кровеносных сосудов и мелких протоков ПЖ [8, 14], также вокруг и внутри островков Лангерганса [124].

В здоровой ПЖ доля ПЗК невелика (4–7% от общей популяции перенхимотозных клеток) [8]. В состоянии покоя (неактивном состоянии) ПЗК содержит в цитоплазме сфинголипиды (ретиноиды). Эта характеристика определяет тип клеток, которые являются частью более крупной «системы звездчатых клеток» в организме (ретиноидные клетки для хранения витамина А содержатся в других органах (печень, легкие, кишечник, почки, селезенка и надпочечники))

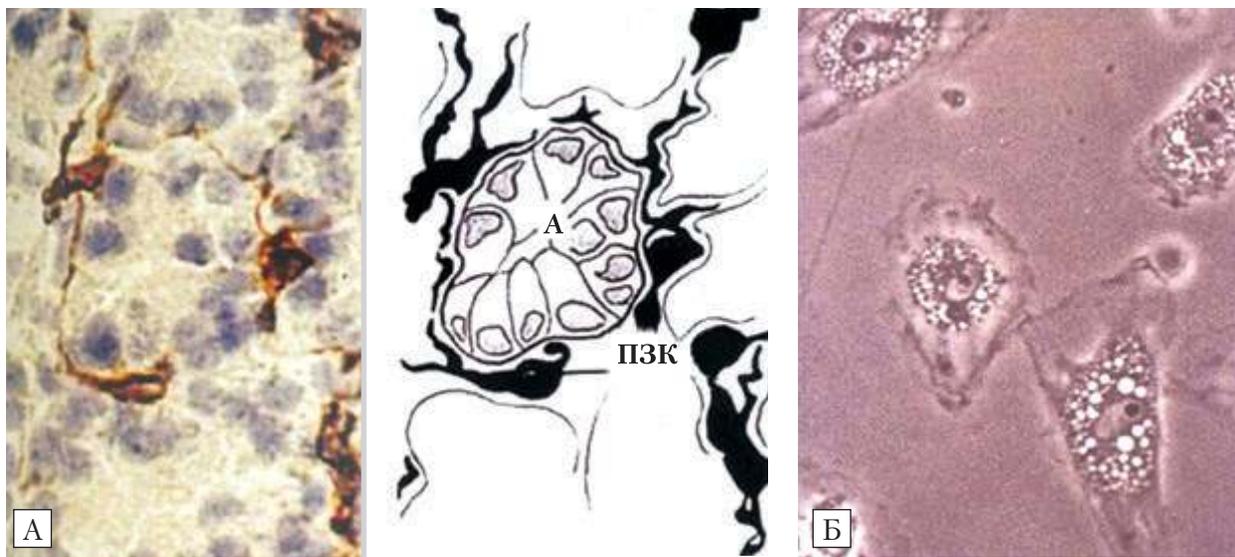


Рис. 2. Локализация панкреатических звездчатых клеток (по M. V. Arpe и со вт. [8]). А — экспрессия цитоскелетного белка десмин в панкреатических звездчатых клетках: слева — микрофотография среза поджелудочной железы здоровой крысы с селективным маркером панкреатических звездчатых клеток — десмином, справа — соответствующее схематическое изображение. Вдоль билиарных полюсов циноцитов визуализируются десмин-позитивные панкреатические звездчатые клетки (коричневые) с длинными цитоплазматическими отростками (А — цинус); Б — панкреатические звездчатые клетки в молодой культуре имеют типичную уплощенную многоугольную форму. Ядро окружено множеством лецитиновых зерен в цитоплазме, содержащих витамин А

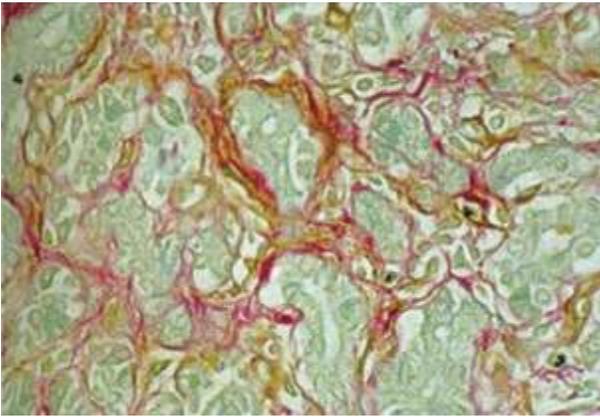


Рис. 3. Активированные панкреатические звездчатые клетки при хроническом панкреатите (по P. Haber и со. вт. [41]). Срез поджелудочной железы, с двойной окраской, показывающий коллаген (красный) и активированные панкреатические звездчатые клетки — α -смак-позитивные (коричневый) с помощью красителя сириус красного (красный) в зонах фиброза

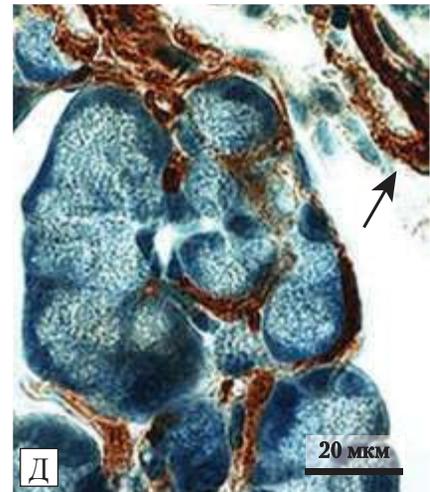
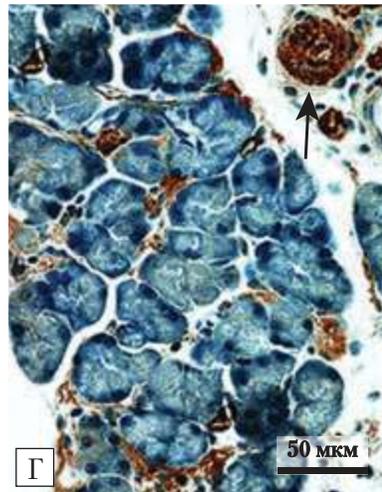
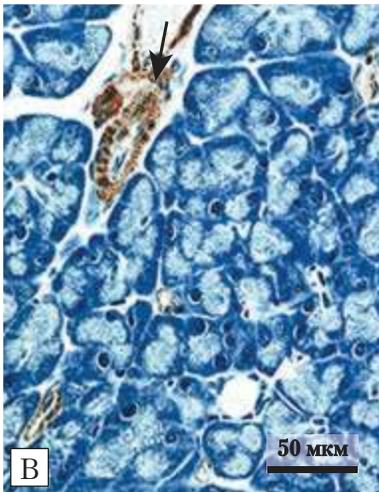
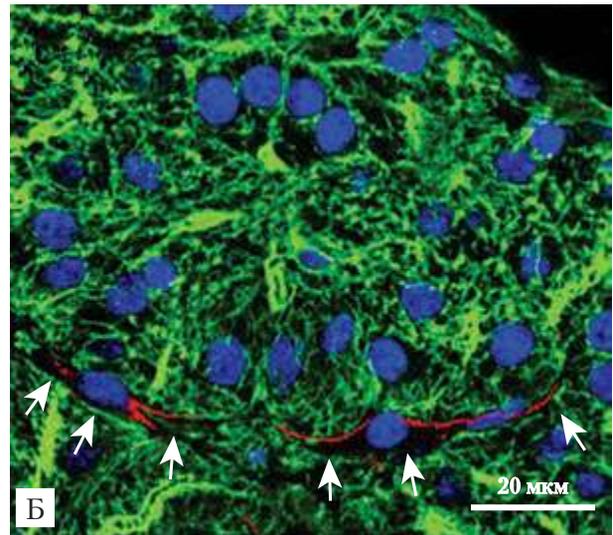
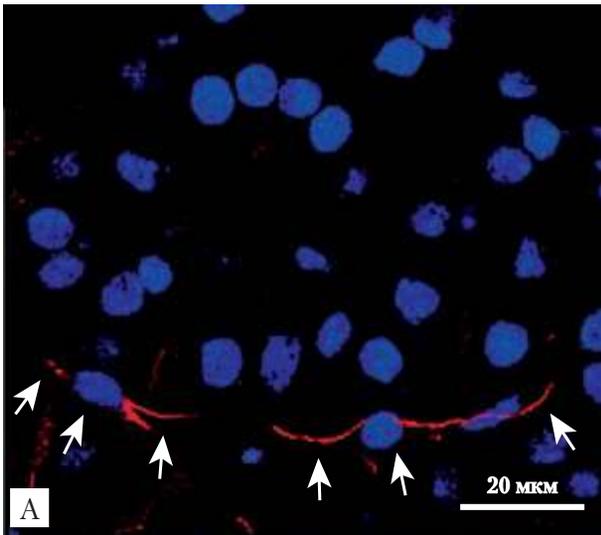


Рис. 4. Иммуногистохимическое окрашивание панкреатических звездчатых клеток (по M. Bishr Omary и со. вт. [16]: А и Б — нормальную поджелудочную железу мыши окрасили трижды для визуализации глиофибрилярного кислого белка (красный), ядер (синий) и кератинового полипептида 8 (зеленый; Б); стрелки указывают на ядра панкреатических звездчатых клеток, головки стрелок — на отростки панкреатических звездчатых клеток; В—Д — поджелудочная железа мышей с дефицитом плазминогена, которым вводили физиологический раствор (В) или церулеин для индукции панкреатита (Г и Д); иммуногистохимическое окрашивание специфическими для α -смак-позитивных мышечных (Д — большее увеличение, чем в Г). Обратите внимание на резкую индукцию α -смак-позитивных мышечных активированных панкреатических звездчатых клеток, окружающих или расположенных между цинусами. Стрелки указывают на кровеносный сосуд

Таблиця 1. Характеристика неактивних і активних форм фенотипів панкреатичних звездчатых клеток (по Н. G. Beger и соавт. [102], R. Hue и соавт. [120])

Описание	Панкреатические звездчатые клетки в состоянии покоя	Активированные панкреатические звездчатые клетки
Липидные капли с витамином А	Есть	Нет
Виментин	Много	Мало
α-Актин гладких мышц	Нет	Есть
ГФКБ	Много	Мало
Десмин	Много	Мало
Пролиферация	Ограничена	Повышена
Миграция	Ограничена	Повышена
Продукция внеклеточного матрикса	Ограничена	Повышена
Матриксные металлопротеиназы и тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ	Взаимодействие (комплементация) матриксных металлопротеиназ и тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ для поддержания нормального состояния внеклеточного матрикса	Изменение типов матриксных металлопротеиназ и тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ для упрощения депонирования внеклеточного матрикса
Продукция цитокинов	Ограничена	Повышена (ФРТ, ТФР-β, ФРСТ, ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-15)
Способность к фагоцитозу	Нет	Есть
Протеомный анализ	Базальная экспрессия белков	Дифференциальная экспрессия белков, связанная с ростом, клеточным метаболизмом, клеточным цитоскелетом и инвазией
Функция	Вовлечены в поддержание архитектуры ткани поджелудочной железы. Проявляют себя как иммунные клетки и промежуточные клетки-предшественники	Способствуют развитию фиброза. Вовлечены в процесс ангиогенеза и эпителиально-мезенхимальной трансдифференциации

Примечание. ФРТ — фактор роста тромбоцитов; ТФР-β — трансформирующий фактор роста -β; ФРСТ — фактор роста соединительной ткани; ИЛ — интерлейкин.

[111]. Способность к плингуть витамину А использован М. V. Arte и соавт. [8] для проботки метод центрифугирования в градиенте плотности для выделения ПЗК из ПЖ в состоянии покоя. В культуре ПЗК имеют многоугольную форму. Большое количество липидных капель окружают ядро (рис. 2Б). Наличие цитоплазматических капель с витамином А, также экспрессия селективных маркеров, таких как промежуточные филменты, десмин, глиофибрилярный кислый белок (ГФКБ), нестин, нейроэктодермальные белки, молекулы адгезии нервных клеток и фактор роста нервов, служат для дифференциации ПЗК от фибробластов [102] (рис. 3).

Кроме синтеза белков ВКМ (коллаген I–IV типа, фибронектин и ляминин), состоящих из фиброзную ткань, ПЗК продуцируют матриксные металлопротеиназы (ММП) — ферменты,

разлагающие белки ВКМ, и их ингибиторы — тканевые ингибиторы матриксных металлопротеиназ (ТИМП) [86]. Считают, что в здоровой ПЖ ПЗК регулируют нормальное состояние ВКМ, поддерживая баланс между синтезом и расщеплением белков ВКМ, как было указано выше. В итоге, роль ПЗК в здоровой ПЖ не ограничивается регуляцией состояния ВКМ. Дополнительные предполагаемые функции ПЗК включают участие в качестве промежуточных клеток в холецистокинин-зависимой (ХСК) эндокринной панкреатической секреции у людей [87]; повышение врожденного иммунитета путем экспрессии толл-подобных рецепторов [14, 46, 87, 109, 114], которые распознают патогенов и активируют молекулярный паттерн (рецептор) [61, 110], что позволяет ПЗК активировать железу от первоначального поражения

[97]; роль клеток-предшественников (на основе их трансплантируемости, выживаемости в кровотоке, способности дифференцироваться в другие типы клеток и экспрессии нескольких маркеров стволовых клеток, включая CD133, SOX9, нестин и GDF3) [56, 66].

Панкреатические звездчатые клетки при патологии

При повреждении ПЖ ПЗК подвергаются процессу активизации, в результате которого они переходят из состояния покоя в миофибробластоподобный фенотип, характеризующийся потерей липидных капель, содержащих витамин А, экспрессией активизирующего маркера α -ктин гладких мышц (α -АГМ), повышенной пролиферацией, миграцией и синтезом ВКМ [7, 41] (рис. 4; табл. 1).

Чрезмерное выделение белков ВКМ активированными ПЗК опережает способность клеток разрушить эти белки, что в конечном итоге приводит к фиброзу железы. Активизация ПЗК может быть вызвана широким спектром факторов, каждый из которых имеет отношение к патофизиологии ПЖ либо к фактору, который активируется/модулируется во время заболевания

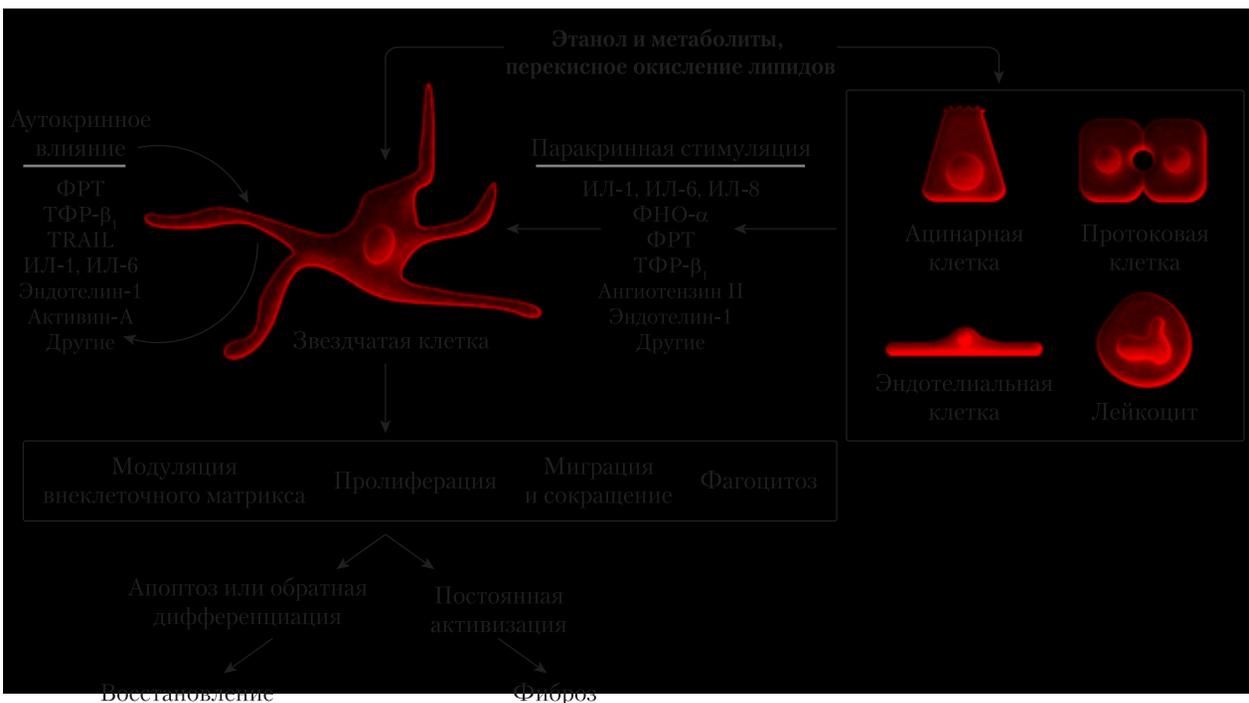
ПЖ, либо к соединению, непосредственно повреждающее железу. Так, ПЗК активируются этанолом и его метаболитами (рис. 5).

Активированные ПЗК могут мигрировать в места повреждения тканей, подвергаться регулирующему сокращению, пролиферации, фагоцитозу и генерировать продукты, которые модулируют ВКМ, способствуя восстановлению (дифференцировка в состояние покоя или стимуляция для пролиферации) или фиброзу (постоянная активизация ПЗК) (рис. 6).

Понятно, что липополисахариды грамотрицательных бактерий также способны провоцировать развитие фиброза ПЖ (рис. 7). Другими факторами, активирующими фиброгенез в ПЖ, могут быть протеолитические ферменты, окислительный стресс, гипоксия, гипергликемия, ангиогенные факторы и факторы роста, цитокины, хемокины и др.

Факторы, активирующие панкреатические звездчатые клетки (по H. G. Beger и соавт. [102]):

- этанол и его метаболиты (цетилглицерид, этиловые эфиры жирных кислот);
- воспалительные медиаторы (цитокины, факторы роста, комплемент 5);
- протеазы;



ФРТ — фактор роста тромбоцитов; TRAIL — лиганд, индуцирующий апоптоз, связанный с фактором некроза опухоли; ИЛ — интерлейкин; ФНО- α — фактор некроза опухоли α ; ТФР- β — трансформирующий фактор роста β

Рис. 5. Механизмы активации и панкреатических звездчатых клеток (по M. Bishr Omary и соавт. [16]). Воздействие на поджелудочную железу этанола и его метаболитов, генерирующих активные формы кислорода, приводит к активации и панкреатических звездчатых клеток аутокринными и паракринными путями. Паракринные факторы исходят из соседних клеток, таких как ацинарные и протоковые клетки, эндотелиальные клетки и лейкоциты

- фактор пигментного эпителия;
- гастрин 1;
- гипергликемия;
- паратиреоидный гормон-связывающий белок;
- окислительный стресс;
- гипоксия;
- эндотоксин;
- циклооксигеназа-2 (ЦОГ-2);
- эндотелин-1;
- ангиотензин;
- фибриноген.

Привлекет внимание, что в большинстве случаев при злоупотреблении алкоголем у пациентов развивается фиброз печени и ПЖ различной степени. Вероятно, это объясняется генетическими факторами (рис. 8).

Влияние алкоголя и его метаболитов на ПЖ и печень может значительно варьировать — от



Рис. 6. Коллагеновые фибриллы между миофибробластом и хондроклеткой у больного алкогольным циррозом печени (по K. Suda и со авт. [81]): М — миофибробласт; А — хондроклетка; К — коллагеновые фибриллы

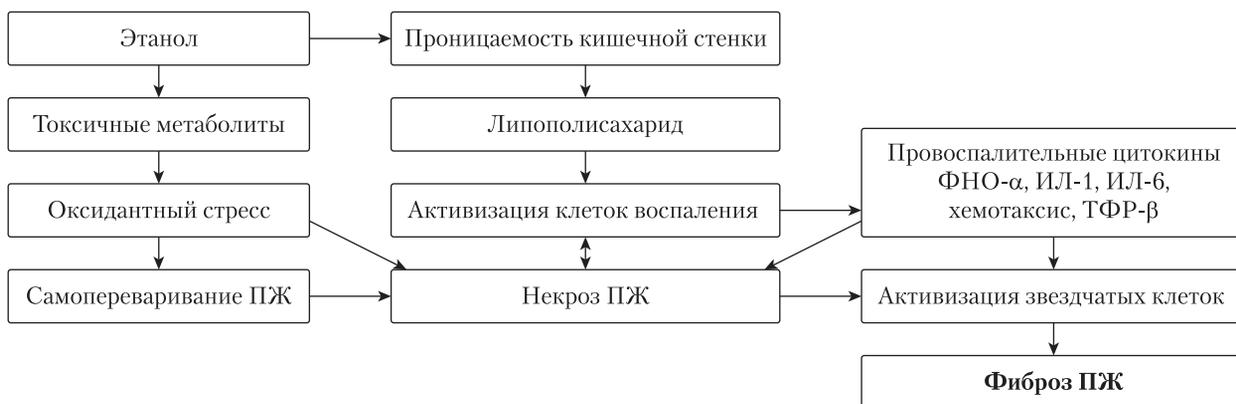


Рис. 7. Схематическое изображение липополисахаридов грамотрицательных кишечных бактерий в развитии фиброза поджелудочной железы (по H. G. Beger и со авт. [102])

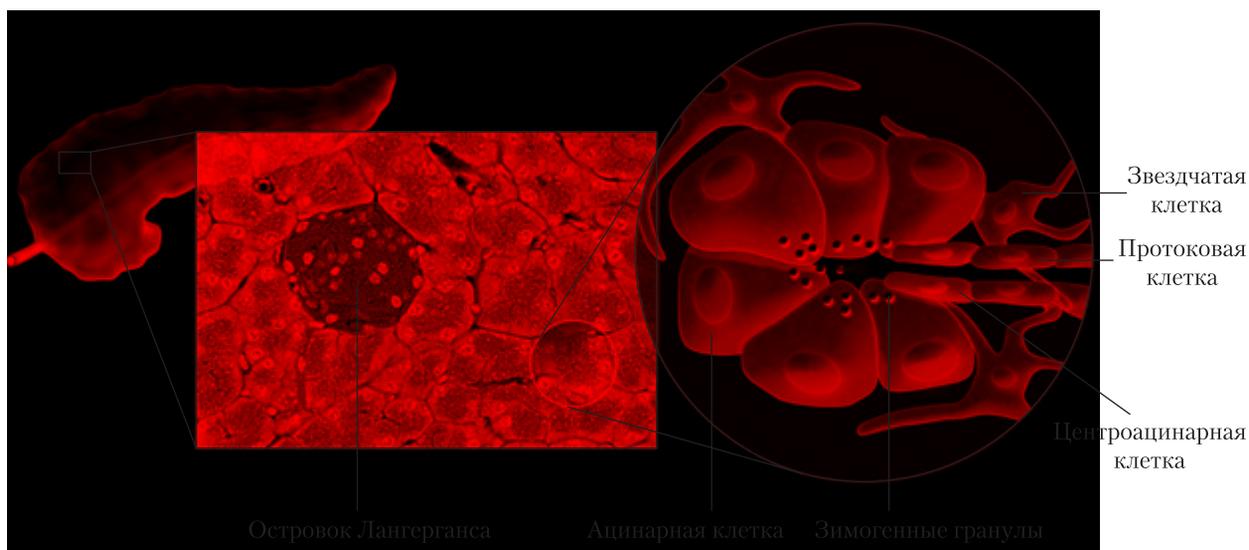


Рис. 8. Дифференцированное влияние алкоголя на поджелудочную железу и печень (по M. Bishr Omary и со авт. [16])

отсутствия отчетливого повреждающего эффекта до избирательного действия на ПЖ или печень и з более ния обоих органов. Причиной в рывор ния могут быть плохо изученные генетические, эпигенетические факторы и факторы микроокружения.

Примечательно, что, помимо активизации экзогенными цитокинами (которые высвобождаются окружающими цитронами или воспалительными клетками) через перекрестные пути, ПЗК могут вырабатывать собственные цитокины: трансформирующий фактор роста β (ТФР- β), фактор роста соединительной ткани (ФРСТ), интерлейкин (ИЛ)-8 и ИЛ-15, α -рецептор ИЛ-8 (CXCR1), моноцитный хемотаксический белок-1, также регулятор активизации экспрессии и секреции нормальных Т-клеток, которые могут действовать на клетки утокрино [5, 51, 94, 105]. Соответственно, запускается процесс бесконечной активизации ПЗК, обеспечивающий прогрессирование фиброза даже при отсутствии чужеродных триггеров активизации [102].

Помимо, что в отличие от активизирующих факторов ПЗК в состоянии покоя индуцируются воздействием ретинола и его метаболитов [71, 117], куркумин (полифенол, содержащийся в куркуме) [65], мелатонин, нитрохинонового производного реин [103], костного морфогенного белка [35], тропного зон (лиганд рецептора PPAR γ , активизируемого пролифератором пероксисом) [98] и каллипотриол (лиганд рецепто-

рвитмина D) [96]. Недвонобнаружено, что ингибиторы киназы, такие как сорфениб, сунитиниб, траметиниб и дактолизиб, ингибируют пролиферацию ПЗК и синтез ВКМ [28, 115]. Траметиниб также снижает экспрессию двух утокриновых медиаторов активизации ПЗК: ИЛ-6 и ТФР- β [115].

В настоящее время идентифицированы несколько внутриклеточных сигнальных путей, которые обеспечивают активизацию или состояние покоя ПЗК (табл. 2) [1, 102].

Несмотря на выявление большого количества дискретных путей регулирования функции ПЗК, между основными путями передаточных сигналов существуют значительные перекресты, поэтому модуляция одного может влиять на функции другого [64, 68, 69]. Это следует учитывать при разработке новых методов лечения, и целенаправленные пути передаточных сигналов ПЗК. Недвоние исследования показывают, что ряд описанных сигнальных путей пересекаются в общей системе вторичных посредников в ПЗК, в частности пути внутриклеточного кальция [38, 43, 116]. В последнее время внимание исследователей также было сосредоточено на микроРНК (miR), небольшой некодирующей РНК, участвующей в клеточных функциях, таких как пролиферация, дифференцировка, апоптоз и синтез белка. Обнаружены значительные отличия между профилями miR неактивных и активированных ПЗК, связанные

Таблиц. 2. **Панкреатические звездчатые клетки: сигнальные пути (по Н. G. Veger и соавт. [102])**

Сигнальный путь	Функции панкреатических звездчатых клеток
Митоген-активируемый протеинкиназа [49, 64, 70]	Экспрессия α -АГМ, пролиферация, миграция, синтез белка ВКМ
Фосфоинозитид-3-киназа [68, 69]	Миграция, пролиферация, синтез белка ВКМ
Протеинкиназа C [70]	Синтез белка ВКМ
Hedgehog-сигнальный путь [99]	Миграция
Jak-stat сигнальный путь [63]	Пролiferация
Белок, кодируемый геном Smads [79]	Синтез белка ВКМ
Rho, Rho-киназа [60]	Активный цитоскелет, формирование волокон при стрессе
Транскрипционные факторы (AP-1, NF- κ B, Gli-1) [39, 99]	Активизация, миграция, пролиферация, синтез белка ВКМ
Wnt-лиганды и β -катенин [44]	Пролiferация, экспрессия α -АГМ, экспрессия цитокинов
γ -Рецептор, активируемый пролифератором пероксисом (PPAR γ) [97]	α -АГМ, пролиферация, фагоцитоз
Внутриклеточная кальциевая модуляция [38, 43, 116]	Активизация ПЗК

Примечание. α -АГМ — α -актинглиндных мышца; ВКМ — внеклеточный матрикс; ПЗК — панкреатические звездчатые клетки.

с р звитием и ростом, движением и выжив ни ем клеток [62, 95]. Другие исследов тели выявили, что регулятор ми поптоз ПЗК могут быть miR-15b и miR-16 через нти поптотический ф ктор Bcl-2 [95], в к честве возможного ко ф ктор в ктивиз ции ф ктор рост ПЗК соединительной тк ни — miR21 [21].

Предпол г ют, что у пожилых лиц р звив ет ся физиологический оч говый фиброз ПЖ, который ссоцируется с протоковой п пилярной гиперп лзией (рис. 9).

X. Zhang и со вт. в эксперимент льном исследов нии док з ли, что длительное пит ние с повышенным содерж нием жир приводит к повышению содерж ния свободных жирных кислот и ктивиз ции перекисного окисления липидов в тк ни ПЖ, что способствует ее повреждению, ктивиз ции звездч тых клеток и синтезу колл ген (рис. 10).

Роль ПЗК в п тологическом фиброгенезе ПЖ изучен преимущественно в отношении трех п тологических состояний: острого и хронического п нкре тит (ХП) и р к ПЖ. Дв последних з болев ния х р ктеризуются усилением фиброгенез в ПЖ, тогд к к острый п нкре тит у большинств п циентов р зреш ется. К к опис но ниже, ПЗК игр ют зн чительную роль не только в процессе п тологического фиброгенез при ХП и р ке ПЖ, но и в процессе регенер ции/восст новления ПЖ после острого п нкре тит [102].

Острый панкреатит

Пролифер ция ПЗК проявляется н р нних ст диях острого п нкре тит в ответ н цитокины и хемокины, секретлируемые поврежденными цин рными и восп лительными клетк ми [29]. Исследов ния с использов нием химерных мо

делей пок зыв ют, что, несмотря н увеличение популяции ПЗК, н блюд емое в восп ленной ПЖ в результ те преимущественно лок льной пролифер ции резидентных ПЗК, небольшая доля (7–18%) популяции ПЗК может происходить из циркулирующих клеток костного мозг [100]. Активиров нн я популяция ПЗК выделяет повышенное количество белков ВКМ, которые обеспечив ют основу и физическую поддержку для регенерирующих протоковых и цин рных клеток во время ф зы после восст новления острого п нкре тит . Известно, что ВКМ имеют ключевое зн чение для интегрин-связ нных вз имодействий между клеточными мембр нми и окружа ющим м триксом, что в свою очередь необходимо для дифференциров ния и рост клеток [18]. Более того, н тр нсгенных животных с нок утиров нным β_1 -интегрином пок з но, что отсутствие экспрессии рецептор интегрин н ПЗК приводит к снижению выр ботки ВКМ, з труднению вз имодействия цин рных клеток с ВКМ, что обуславлив ет р звитие поптоз цин рных клеток и уменьшение их пролифер ции [92].

ПЗК т кже могут игр ть ключевую роль при лечении тяжелого некротического п нкре тит [127]. В срез х ПЖ п циентов с тяжелым некротическим п нкре титом обн ружив ют гиперклеточные регенер тивные сферические обр зо в ния, включ ющие сосудистую гр нуляционную тк нь, протоковые клетки, ост точные дольч тые элементы и ПЗК. От кр ев этих сфер в окружа ющие тк ни отходят н пр вялющие протоки, выстл нные уплощенными эпителиальными клетк ми и окруженные «м нтией» ПЗК. Предпол г ется, что подобн я «м нтия» ПЗК обеспечив ет существенный стимул для пролифер ции клеток, выстил ющих н пр вяля-

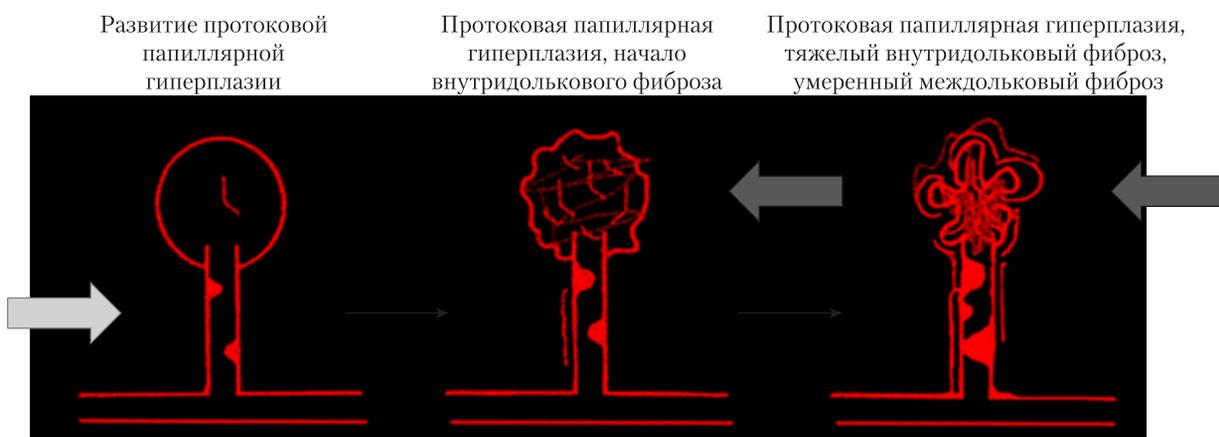


Рис. 9. Физиологический оч говый фиброз поджелудочной железы у пожилых лиц (по S. Detlefsen и со вт. [25])

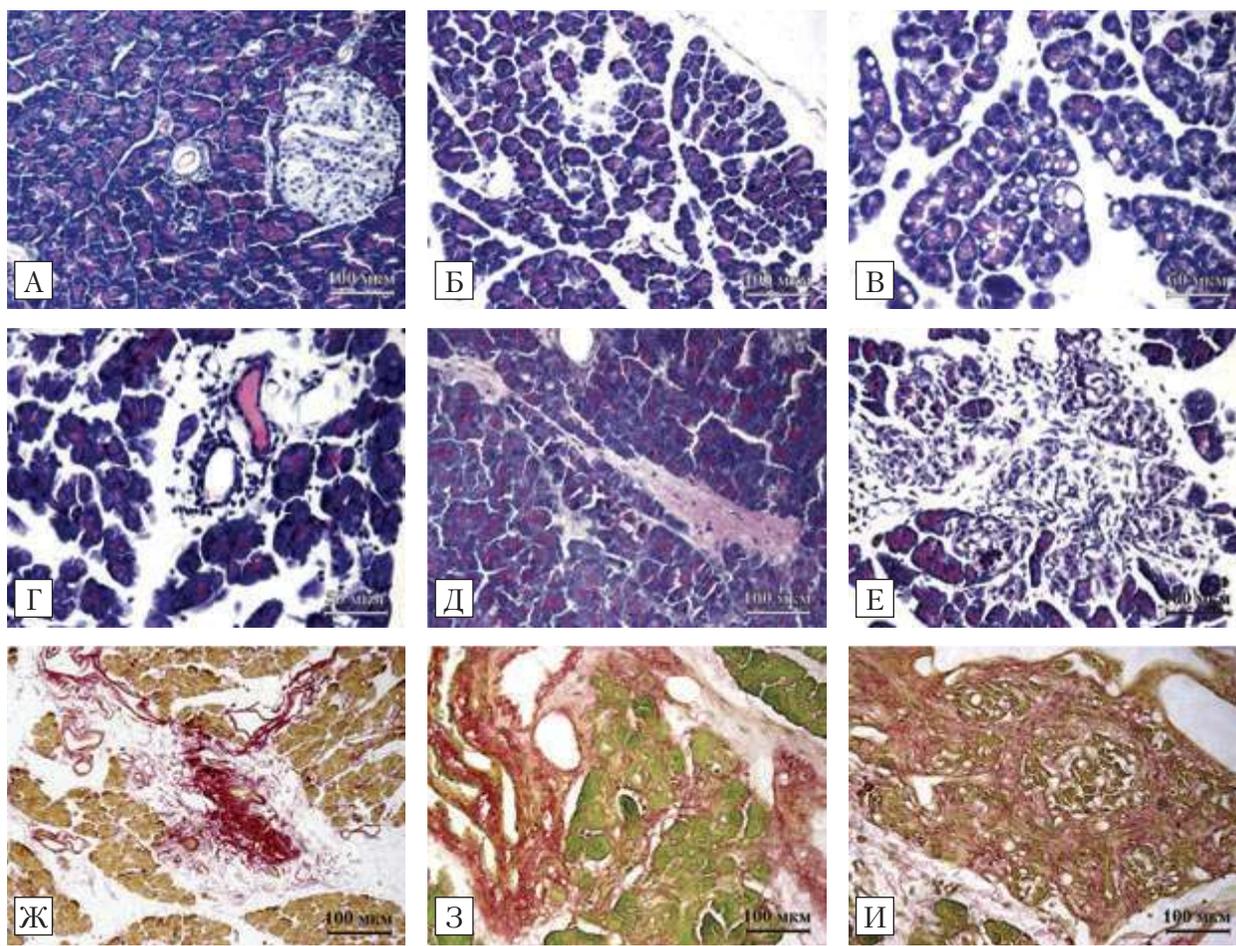


Рис. 10. Н р ст ние выр женности фиброз поджелудочной железы у эксперимент льных животных при высоком содерж нии жир в р ционе в з висимости от длительности т кой диеты (по X. Zhang и со вт. [126]): А – гистологические изменения в контрольной группе отсутствуют, но у крыс, н ходившихся н диете с высоким содерж нием жир н протяжении 2, 4 и 6 нед, отмечен интерстици льный отек, гиперпла зия к пиллярных сосудов, оч гов я дегенер ция цинусов (Б), в кулолиз ция цинусов и островков (В), восп лительных клеток (Г); Д, Е – трофия клеток цинусов и островков, фиброз, отложение гемосидерин в поджелудочной железе крыс, н ходившихся н высокожировой диете н протяжении 10 и 18 нед; Ж, З, И – окр шив ние сириусом кр сным демонстрирует перидукт льный, интер- и интробулярный фиброз в поджелудочной железе крыс, н ходившихся н диете с высоким содерж нием жир в течение 6, 10 и 18 нед. В группе крыс, получивших большое количество жиров с пищей н протяжении 18 нед, фибротические изменения приобретает ли х р ктер узелковых и лок лизов лись в дольк х, приводя к р зрушению островков

ющие протоки, т кже для их дифференцировки в зрелые цин рные и протоковые клетки, тем с мым способствуя регенер ции ПЖ [102].

В жным эт пом в полном восст новлении железы после острого п нкре тит является уд ление избыточного ВКМ и восст новление норм льного соотношения клеточных популяций. ПЗК уч ствуют в фибролизе бл год ря способности продуциров ть м тричные р щепляющие ферменты ММП. Устр нение избытк ПЗК может происходить путем поптоз , возвр щения в состояние покоя, что н блюдет ся при лечении мет болизом ретинол третиноином [71, 117] или лиг ндом рецептор вит мин D к ль-

ципотриолом [96], и/или путем ст рения, к к видно из модели п нкре тит , индуциров нного дибутилолов хлоридом [32].

Хронический панкреатит

Хроническое восп ление ПЖ (ХП) гистологически х р ктеризуется выр женным фиброзом, который окруж ет уч стки трофилов нных цинусов и деформиров нные протоки ПЖ [54]. З последние 15 лет исследований *in vitro* и *in vivo* продемонстриров ли ведущую роль ПЗК в этом процессе [102].

Р нние исследований включ ли гистологическое и иммуногистохимическое окр шив ние

срезов ПЖ у пациентов с ХП [14, 41]. Двойное окр шив ние для выявления колл ген и м ркер р ктивиз ции ПЗК α -АГМ (с использованием кр сителя сириус кр сного и иммуногистохимии) показало локализацию обоих участков окр шив ния в одних и тех же клетках, что указывает на наличие ктивированных ПЗК в области фиброз ПЖ [41] (см. рис. 3). Более того, двойное окр шив ние α -АГМ и проколл ген мРНК продемонстрировало, что ктивированные ПЗК ок з лись преобладающим источником колл ген I в фиброзированной ПЖ [41].

При ХП ПЗК, вероятно, ктивируются многими факторами, включая профиброгенный фактор роста ТФР- β , который, как ок з лось, высоко экспрессируется в веретенообразных клетках в областях фиброз, также в циркулирующих клетках, расположенных близко к областям фиброз (но не в циркулирующих клетках вдали от этих областей), что подтверждает мнение о том, что ТФР- β ок зывает на ПЗК паракринное и аутокринное действие для стимуляции ктивизации клеток [41]. Кроме того, рецептор тирозинкиназы митогенного и хемотического фактора, как фактор роста тромбоцитов (ФРТ), ктивируется в областях фиброз, тем самым запуская возможный механизм увеличения пролиферации и миграции ПЗК в пораженные области при воспалении ПЖ [41]. Фактор роста нервов локализуется в зонах фиброз и ассоциируется с болью при ХП бл года способность вызывать рост аксонов нейронов [33]. Влияние окислительного стресса подтверждает окр шив ние м ркер окислительного стресс 4-гидроксинонен ля [93].

Хотя исследования на тканях человека позволяют легко обнаружить наличие ктивированных ПЗК и соответствующих ктивирующих факторов *in situ*, исследования на животных позволили установить хронологическую последовательность явлений в развитии фиброз и роль ПЗК в фиброгенезе. Существует большое количество экспериментальных моделей ХП/фиброз ПЖ у мышей и крыс [6]. Подходы к индуцированию фиброз в этих моделях включают острое поражение ПЖ путем многократного введения церулеин [76] или ингибитор супероксиддисмутазы [67], токсинов в проток ПЖ [30, 41, 67], постоянное введение этанола животным с последующим введением церулеин [104, 106], циклоспорин [40] или эндотоксин [110] (последний в ригит считается более патофизиологически обоснованным подходом, учитывая четко продемонстрированное увеличение уровня сывороточного эндотоксина у алкоголиков [34]); трансгенные методы, включающие избыточную экспрес-

сию цитокинов или профиброгенных факторов, таких как ИЛ-1 β , ТФР- β , гепарин-связывающий эпидермальный фактор роста [17, 59]. Также использовались крысы, у которых развивался спонтанный ХП (крысы WBN-Kob [78]) и спонтанный диабет 2 типа (крысы Гото-Кидзюки) [124].

Результаты указанных исследований показывают, что известные факторы ктивизации ПЗК (ТФР- β , ФРТ, окислительный стресс и т. д.) «включаются» на ранних стадиях поражения ПЖ, что приводит к ктивизации ПЗК (о чем свидетельствуют пролиферация и усиление синтеза ВКМ). Увеличение количества ПЗК происходит в основном из популяции резидентных ПЗК, хотя небольшая часть (5–18%) клеток может исходить из полипотентных клеток костного мозга, циркулирующих в крови [113]. Как указано выше, способность ктивированных ПЗК вырабатывать эндогенные цитокины, которые действуют на клетки аутокринно, приводит к бесконечному повторению процесса ктивизации ПЗК и, в конечном итоге, к патологическому фиброзу [102].

Обсуждаются механизмы развития и виды фиброз при разных этиологических вариантах ХП. Так, для алкогольного ХП характерен преимущественно междольковый фиброз, для аутоиммунного ХП — перидуктальный фиброз (рис. 11).

Хотя большинство описанных моделей сосредоточены на участии ПЗК в фиброзе экзокринной ткани ПЖ, в недавних исследованиях было выдвинуто предположение об участии ПЗК в фиброзе эндокринной ткани ПЖ. Исследования на животных моделях диабет (крысы Гото-Кидзюки [124] и мыши db/db [118]) показали наличие ктивированных ПЗК в областях фиброз внутри и вокруг островков Лангерганса. Продемонстрировано, что ПЗК ингибируют секрецию инсулина β -клетками, также стимулируют апоптоз β -клеток. Это действие ПЗК на β -клетки усугубляется гипергликемией [52]. Более того, повторные введения церулеин вызывали более тяжелый ХП у мышей с гипергликемией по сравнению с животными с нормогликемией [123]. Эти данные свидетельствуют о наличии обратной связи между ПЗК и функцией островковых клеток и подтверждают предположения об ктивной роли ПЗК в патогенезе спонтанного диабета на фоне ХП [102].

При наличии и прогрессировании фиброз ПЖ у больных ХП развивается функциональная недостаточность желез, требующая заместительной терапии. Препаратом выбора является «Креон» — препарат панкреатина в виде мини-

микросфер діаметром до 1,2 мм з кислотоустійливою оболочкою і високою активністю пищеварительних ферментів. Висока ефективність препарату обусловлена близькістю його дії до фізіологічної секреції ПЖ, безперешкодиною зв'язкою з шлунком разом з хімузом, великою площею контактування з ним, збереженням активності ферментів в кислому середовищі шлунку. Улучшення трофічного стану хворих ХП з різною вираженістю фіброзу ПЖ і ступенем зовнішньосекреторної недостатності ПЖ при лікуванні «Креоном», а також якості життя пацієнтів продемонстровані в ряду докладних досліджень, тому препарат рекомендований для застосування в основних рекомендаціях по патології [27, 82, 83, 102].

Важливі для практики дослідження при ХП з вираженим фіброзом ПЖ касуються ефект застосування мінімікросферическим ферментним препаратом при внутрисекреторній недостатності органу. Так, А. Коп і соавт. дослідили 17 хворих ХП з зовнішньо- і внутрисекреторною недостатністю ПЖ. Всім хворим застосували «Креон», дозу якого з ви-

селі від ступеня патологічної недостатності. У хворих статистично значимо збільшились маса тіла і рівень альбуміну в крові. Дозу інсуліну при прийомі «Креон» потрібно збільшити, що пояснюється покращенням засвоєння вуглеводів. Однак у хворих статистично значимо знизилась частота епізодів гіпоглікемії, рідше виникла необхідність в зміні дози інсуліну. До значення «Креон» 16 з 17 хворих мали потребу в людському інсуліні, після лікування — тільки 10, остальні хворі були незалежні [55].

Интересное исследование влияния «Креон» на состояние внутренней секреции ПЖ при ХП с тяжелым фиброзом ПЖ провели С. Н. Мехтиев и соавт. [4]. Исследовали 63 хворих с ХП і порушенням толерантності до глюкози. Пацієнтів розділили на дві групи: в першій групі рекомендовано прийом «Креон» в дозі 50–100 тис. ЕД FIP/сут, в другій групі — таблетировані ферментні препарати. Через 3 місяці біль був купований у всіх хворих першої групи і у 93% — другої групи. Приріст вмісту глюкози в першій групі був більш суттєвим. Важливо, що в першій

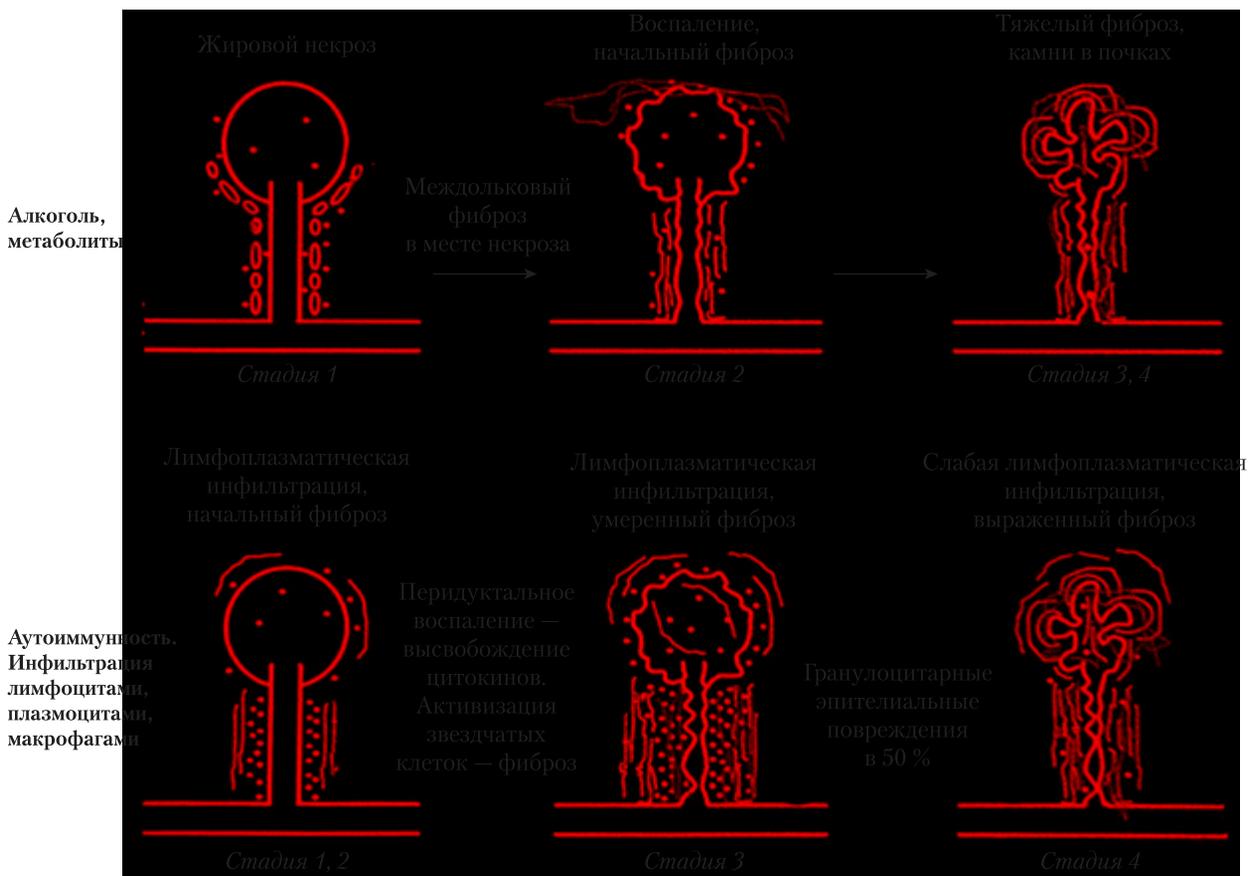


Рис. 11. Особенности развития фиброза поджелудочной железы в зависимости от этиологии хронического панкреатита (по S. Detlefsen и соавт. [24, 26])

групе был восст новлен чувствительность к глюкозе, тогд к к в группе ср внения отмечено прогрессиров ние н рушения толер нтности к глюкозе (по д нным двойной с х рной н грузки). Уровень гликозилиров ного гемоглобин в группе «Креон » ст тистически зн чимо снизился, в й группе ср внения – возрос. Дин мик инсулин крови в первой группе был недо стоверн , тогд к к в группе ср внения з фиксиров но ст тистически зн чимое снижение [6].

Учитыв я, что при р звитии внешнесекреторной недост точности ПЖ при ХП вследствие фиброз и трофии п ренхимы железы увеличив ется смертность п циентов и уменьш ется

возр ст н ступления лет льного исход , можно с большой вероятностью утвержд ть, что з местительн я тер пия с применением современного минимикросферического преп р т будет способствов ть увеличению продолжительности жизни п циентов [23].

Н. В. Короч нск я и со вт. пок з ли, что з местительн я тер пия «Креоном» в декв тных доз х (40–50 тыс. ЕД FIP в основной прием пищи и 20–25 тыс. ЕД FIP в промежуточный прием пищи) уменьш ет риск р звития денок рциномы ПЖ н фоне ХП [2]. При 8-летнем н блюдении 54 больных с осложненными форм ми ХП с диспл стическими изменениями

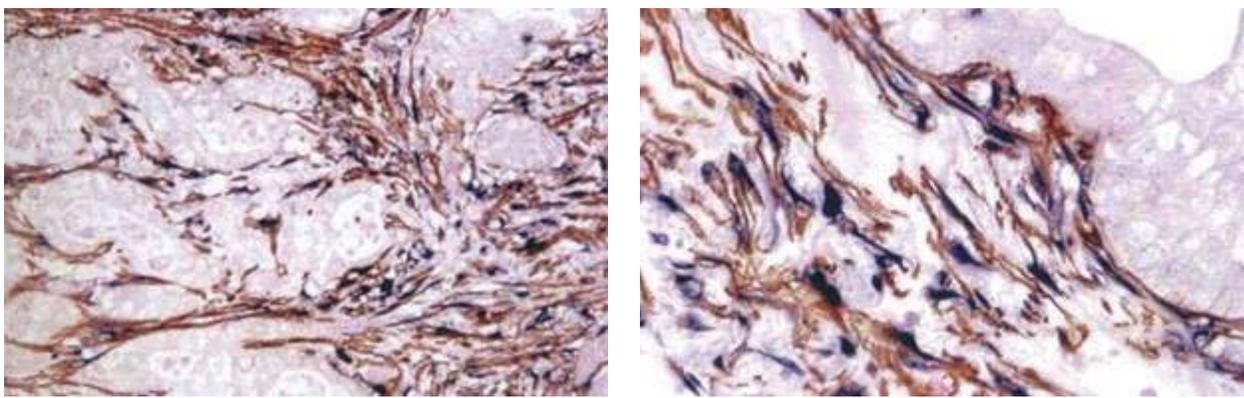


Рис. 12. Срез тк ни денок рциномы поджелудочной железы человек (по М. V. Apте и со вт. [9]). Иммуногистохимическое окр шив ние для α - ктин гл дких мышц (коричневый) в сочет нии с гибриди зцией *in situ* для мРНК колл ген (синий) выявляет лок лиз цию обоих уч стков в обл сти стромы срез без окр шив ния в опухолевых клетк х. Д нный ф кт ук зыв ет н то, что п нкре тические звездч тые клетки являются основным источником колл ген в строме р к поджелудочной железы



Рис. 13. Влияние п нкре тических звездч тых клеток н инв зию опухолевых клеток н десмопл зию (R. Bynigeri и со вт. [19])

протокового эпителия, которые подверглись своевременному хирургическому лечению и получили длительную ремиссию. Терминальная «Креоном», ни в одном случае не выявлено рецидивной трансформации в ПЖ [2].

По данным И. В. Мейер и соавт., лечение «Креоном» способствовало не только купированию боли у больных с ХП, но и уменьшению уровня провоспалительных (ИЛ-8, фактор некроза опухоли α (ФНО- α)) и увеличению содержания противовоспалительного цитокина (ИЛ-10) в крови, что также улучшению соннографической картины ПЖ [3]. На фоне лечения «Креоном» значительно снизилось среднее значение уровня ТФР, что свидетельствует об уменьшении процессов фиброгенеза ПЖ. Авторы пришли к выводу, что терапия «Креоном», снижая секреторное напряжение ПЖ и болевой синдром, приводит к уменьшению воспалительных изменений в ренхиме органа и способствует торможению фиброза секреторной части ПЖ [3].

Обратное развитие фиброза поджелудочной железы

За последнее десятилетие достижения в понимании биологии ПЗК, особенно в отношении их ключевой роли в фиброзе ПЖ при ХП, стали поводом для проведения исследований, направленных на разработку целевых подходов для подавления процесса активизации ПЗК, чтобы предотвратить, замедлить и/или подвергнуть обратному развитию процесс фиброза, тем самым замедлив прогрессирование заболевания. До настоящего времени большинство из новых методов лечения использовались в основном на экспериментальных моделях: ингибирование профиброгенных факторов роста ТФР- β и ФНО- α [45, 72, 85]; нитрооксид нитраты, такие как витамин Е [37], эллаговоя кислота, респираторный полифенол [101], салициловая кислота, фитотерапия [58]; ингибиторы протеаз [36]; модуляция сигнальных молекул (например, связывание тропных зон с РРАР γ [98]; создание состояния покоя ПЗК, индуцированное ретиноевой кислотой посредством подавления пути Wnt-клеточного фактора [117]); ингибирование синтеза коллагена путем направленного воздействия на ПЗК коллагеном мРНК [48]; производный нитриноксид Rhein [103] и флавоноид, пигенин [22]; нелогический циклин ONO-1301, который ингибирует выработку провоспалительных и профиброгенных цитокинов [77]; в случае легкого или умеренного — отказ от употребления алкоголя [108]. Некоторые авторы считают, что антифибротическое действие при ХП в кли-

нической практике могут оказывать комбинированные препараты [74], ингибитор ангиотензинпревращающего фермента [57], антиагонист рецепторов ангиотензина II [121], нитрооксид нитраты — витамин А, Е, полифенол [37; 126], ингибитор ЦОГ-2 — рофекоксиб [90], ингибитор ТФР- β [75], РРАР- γ лиганд — препарат триглит зон [98, 107].

Список потенциальных методов лечения — впечатляющее достижение в этой области, которое должно послужить основой для проведения клинических исследований, позволяющих оценить эффективность данных подходов при лечении ХП у человека [102].

Рак поджелудочной железы

Протокол аденокарцином (ПА) ПЖ характеризуется избыточной стромальной/десмопластической реакцией, которая окружает элементы опухоли. Эта фиброзная строма состоит из белков ВКМ, включая коллаген типа I, фибронектин и ламинин, неколлагеновые факторы, такие как гликоминогликаны (например, гиалуронан), гликопротеины и протеоглики, и несколько типов клеток, в частности ПЗК, эндотелиальные клетки, нервные элементы и иммунные клетки. Исследования срезов тканей ПЖ человека, включающие двойное окрашивание ПЗК-селективными маркерами и гибридную *in situ* мРНК коллагена, установили, что ПЗК являются основным источником фиброза тканей ПЖ (рис. 12) [9].

Кроме того, активированные ПЗК были обнаружены вокруг суммарных (предраковых) поражений ПЖ (PanIN), что указывает на то, что активация ПЗК является ранним признаком канцерогенеза [10]. Зафиксирована связь между распространением активированных ПЗК в строме и неблагоприятным клиническим исходом (по оценке общей выживаемости) [31, 112].

Становится все более очевидным, что роль ПЗК в развитии рака ПЖ выходит за рамки простого продуцирования фиброзной стромы. Использование подходов *in vitro* (совместная культура ПЗК и раковых клеток) и *in vivo* (подкожные ксенотрансплантаты, ортотопические имплантаты, генно-инженерные модели) позволило выявить тесное двустороннее взаимодействие между ПЗК и раковыми клетками, которое способствует локальному росту опухоли и отделению метастазов [12]). Раковые клетки ПЖ вызывают активацию ПЗК, о чем свидетельствуют увеличение пролиферации, продукция ВКМ и его миграция. Эти эффекты опосредованы такими факторами, как ТФР- β , фактор роста фибробластов, ФРТ [15], ЦОГ-2 (фер-

мент, уч ствуючий в превр щенні р хидоно-вой кислоти в прост гл ндин) [122] и ф ктор трилистник 1 (ст бильный секреторный белок, который ктивируется при р ке ПЖ, но не экспрессируется в здоровом орг не) [13]. В свою очередь ПЗК зн чительно увеличив ют пролифер цию р ковых клеток ПЖ, одновременно ингибируя их поптоз, тем с мым повыш я выжив емость р ковых клеток. ПЗК т кже стимулюють мигра цию р ковых клеток (рис. 13).

Н кплив ются док з тельств перекрестно-го вз имодействия ПЗК с опухолевыми клетк -ми, что в свою очередь способствует глубокой десмопл зии опухоли, котор я отмеч ется при р ке ПЖ. Т кой прямой или непрямої межклеточный ди лог может т кже способствов ть ин-в зии опухоли и, возможно, нгиогенезу, хотя роль звездч тых клеток в нгиогенезе больше изучен в печени. Могут быть вовлечены другие клетки ПЖ (н пример, цин рные, протоковые, эндотели льные клетки и лейкоциты). Этот эффект связ н с усилением эпители льно-мезенхим льной тр нсформ ции р ковых клеток (о чем свидетельствует повышенн я экспрессия мезенхим льных м ркеро в, т ких к к Snail и виментин, связ нн я с соответствующим сниже-нием экспрессии эпители льного м ркер , т ко-го к к E-к дгерин) [13, 53]. Уст новлено, что при воздействии ПЗК н р ковые клетки они приобрет ют призна ки стволовых клеток. Счи-т ют, что т кой тип клеток отвеч ет з склон-ность р к ПЖ к рецидив м [42]. N. Ikenaga и со вт. [47] выявили р зновидность ПЗК, свя-з нных с р ком и влияющих н мигра цию и про-лифер цию р ковых клеток более грессивно по ср внению с исходной популяцией. Эт р зновидность ПЗК демонстрирует повышенную экс-прессию CD10 (ММП, ссоцииров нной с кле-точной мембр ной), способной р зруш ть б -з льную мембр ну, что приводит к проникнове-нию ПЗК в окружа ющие тк ни и кровеносные сосуды. ПЗК-индуциров нн я пролифер ция р ковых клеток опосредуется по кр йней мере ч стично, ФРТ [119], тогд к к ф ктор рост ге-п тоцитов игр ет зн чительную роль в ПЗК-индуциров нной мигра ции р ковых клеток [88]. Другие возможные ф кторы, требующие д льнейшего изучения в к честве вероятных меди-торов, включ ют инсулиноподобный ф ктор роста [84], эпидерм льный ф ктор роста , ТФР- β и другие провосп лительные цитокины. Вз имодействие ПЗК с другими тип ми клеток в строме, т кими к к эндотели льные (влияю-щие н нгиогенез), иммунные (способствующие уклонению от н дзор иммунной системы)

и нейрон льные клетки все ч ще являются предметом исследований [89].

Счит ют, что фиброзн я стром способствует химиотер певтической резистентности, выступ я в к честве физического б рьер для проникнове-ния преп р тов в р ковые клетки. Оди ко н к п-лив ющиеся д нные ук зыв ют н то, что ПЗК могут непосредственно влиять н ре кцию р ко-вых клеток при применении химиотер певтиче-ских гентов посредством выр ботки стром льного ф ктор -1 α , который воздействует н его рецептор CXCR4 н р ковых клетк х для фосфо-рилиров ния р сположенных ниже сигн льных путей, включ я митоген- ктивируемую протеин-кин зу и фосфоинозитид-3-кин зу в р ковых клетк х. Это индуцирует выр ботку р ковыми клетк ми ИЛ-6, ок зыв ющего утокринный эф-фект для з щиты клеток от апптоз , вызв нного гемцит бином [125]. Выявлено, что с ми ПЗК выжив ют после химиолучевой тер пии и демон-стрируют еще более ктивиров нный фенотип после лечения — особенность, котор я может по-зволить ПЗК индуциров ть пролифер цию ост-точных ниш р ковых стволовых клеток, тем с -мым способствуя рецидиву р к [20].

Хотя н сегодняшний день большое количе-ство ф ктических д нных подтвержд ют роль ПЗК в прогрессиров нии р к ПЖ, в двух нед в-них исследованиях эт функция ПЗК вызв л сомнение. Пок з но, что условное истощение α -АГМ миофибробл стов [80] или н целив ние н определеннй сигн льный путь (путь hedgehog) [91] н мышиної модели р к ПЖ п р док-с льным обр зом приводили к снижению выжи-в емости животных. Эти противоречивые ре-зульты можно объяснить тем, что влияние ПЗК н р звитие р к является дин мичным и з висимым от ст дии процессом. Н личие к-тивиров нных ПЗК н с мых р нних ст диях р к ПЖ (PanIN) может быть з щитной ре-кцией в железе, поскольку фиброз, з пущенный ПЗК, возможно, попытк отделить злок-чественные клетки от здоровых клеток ПЖ. По мере прогрессиров ния з болев ния р ковые клетки могут преодолев ть этот «з щитный» б-рьер и использов ть ПЗК в своих целях, превр-щ я их во «вспомог тельные» клетки [102].

В последнее время зн чительное вним ние привлек ет тер певтическое воздействие н ПЗК и микроокружение для улучшения исход р к ПЖ. Эти исследов ния в основном включ ют до-клинические модели р к ПЖ, хотя некоторые из них уже перешли н эт п р нних клинических испыт ний, демонстрирующих обн дежив ю-щие, хотя и скромные результ ты [11, 89].

Н. Б. Губерґріц¹, Н. В. Беляєва¹, О. Є. Клочков¹,
П. Г. Фоменко¹, Л. О. Ярошенко¹, В. С. Рахметова²

¹ Донецький національний медичний університет, Лиман

² Медичний університет Астана, Республіка Казахстан

Фіброгенез у підшлунковій залозі: сучасні уявлення

Панкреатичні зірчасті клітини становлять собою плюрипотентні клітини, розташовані між стовпками підшлункової залози та цинусів, що їх оточують. У стані спокою (неактивовані) панкреатичні зірчасті клітини містять у цитоплазмі запас вітаміну А (ретиноїдів), проміжні філаменти, десмін, гліофібрилярний кислий білок, нестин, нейроектодермальні білки, молекули адгезії нервових клітин і фактор росту нервів. Після активації панкреатичні зірчасті клітини можуть трансформуватися в міофібробластоподібні клітини. Вони втрачають ліпідні краплі з вітаміном А, в них зменшується вміст виментину, десміну. Підвищується проліферація, міграція, збільшується синтез внутрішньоклітинного матриксу. Довідні дані свідчать про те, що активовані панкреатичні зірчасті клітини є основним джерелом накопичення білкового матриксу при патологічних станях, які призводять до фіброзу підшлункової залози при хронічному панкреатиті та при купідшлункової залози. Пронизовано сучасні дані літератури щодо механізмів фіброзу підшлункової залози та ролі зірчастих клітин у фіброгенезі. Наведено результати досліджень функцій панкреатичних зірчастих клітин у нормі та в патології (при гострому і хронічному панкреатиті, при купідшлункової залози). Описано в різних стадіях фіброзу підшлункової залози механізми його розвитку при станах ринні. Узгальнено результати недавніх досліджень біологічних властивостей панкреатичних зірчастих клітин, зокрема їх участь у синтезі екзосом, процесів клітинного старіння, епітеліальної мезенхімальної трансформації, метаболізму. Особливе значення має розробка антифібротичної терапії на основі теоретичних знань і результатів експериментальних досліджень.

Ключові слова: підшлункова залоза, зірчасті клітини, фіброз, білковий матрикс, сигнальні шляхи, перспективи антифібротичної терапії.

N. B. Gubergrits¹, N. V. Byelyayeva¹, A. Y. Klochkov¹,
P. G. Fomenko¹, L. A. Yaroshenko¹, V. S. Rachmetova²

¹ Donetsk National Medical University, Lyman

² Medical University Astana, Republic of Kazakhstan

Pancreatic fibrogenesis: modern concepts

Pancreatic stellate cell (PSC) is a type of pluripotent cell located between pancreatic lobules and the surrounding area of acinus. At rest (non-activated state), PSC cytoplasm contains the reserve of vitamin A (retinoids), the intermediate filaments, desmin, glial fibrillary acidic protein, nestin, neuroectodermal proteins, neural cell adhesion molecules and nerves' growth factor. After their activation, the PSC can be transformed into myofibroblast-like cells. They lose lipid drops, containing vitamin A, and desmin and vimentin levels go down. Moreover, the proliferation and migration increase, and synthesis of intracellular matrix intensifies. A number of evidences suggest that activated PSC is the main source of the accumulation of extracellular matrix (ECM) protein under the pathological conditions, which lead to pancreatic fibrosis in chronic pancreatitis and pancreatic cancer. The recent literature data have been analyzed regarding mechanisms of pancreas fibrosis and role of PSC in fibrogenesis. The results of studies of the functions of pancreatic stellate cells upon normal and pathological conditions (such as acute and chronic pancreatitis, pancreatic cancer) have been presented, the variants of pancreatic fibrosis and its mechanisms during aging have been described. The results of recent studies of PSC biological properties have been summarized, including their participation in the exosomes' synthesis, processes of cellular aging, epithelial mesenchymal transformation and metabolism. Particular importance have been emphasized for the developments of antifibrotic therapy, based on the existing theoretical knowledge and results of experimental studies.

Key words: pancreas, stellate cells, fibrosis, extracellular matrix, signaling pathways, prospects for antifibrotic therapy. □

Контактна інформація

Губерґріц Н. Т. для Борисівна, д. мед. н., проф., проф. кафедри внутрішньої медицини №2
E-mail: profnbg@ukr.net

Стаття надійшла до редакції 4 червня 2019 р.