

Особенности гистоструктуры поджелудочной железы при аутоиммунном панкреатите I и II типов: связь с уровнем IgG4-положительных плазматических клеток

Ю. А. Гайдар, Н. Ю. Ошмянская, А. П. Галенко

Институт гастроэнтерологии НАМН Украины, Днепропетровск, Украина

Ключевые слова: панкреатит, IgG4, гистологические методы, гистоструктура поджелудочной железы, плазматические клетки

Введение. Концепция аутоиммунного панкреатита (АИП) предложена К. Yoshida et al. [2] в 1995 г. В настоящее время различают два подтипа АИП: тип I и тип II, которые имеют характерные четко очерченные патоморфологические признаки. Тип I (лимфоплазмочитарный склерозирующий панкреатит) чаще диагностируют в США, Великобритании, Японии и Корее. АИП этого типа отличает плотный перидуктальный инфильтрат, состоящий из лимфоцитов и плазматических клеток, в частности IgG4-положительных плазматических клеток (IgG4-ППК) (>30 клеток на большое поле зрения (БПЗ)), а также многоярусный фиброз вокруг главного панкреатического и междольковых протоков и перипанкреатической жировой ткани. Дольки поджелудочной железы (ПЖ) относительно хорошо сохранены, в части долек отмечают очаги некроза, замещающиеся фиброзной тканью. Пучки фиброзной ткани смешаны с клетками воспаления, часто обнаруживают эозинофильные и тучные клетки [4, 5]. Типичен также облитерирующий флебит, а в ряде случаев можно наблюдать и облитерирующий артериит. Первый тип АИП относят к IgG4-ассоциированным склерозирующим заболеваниям [6], он часто сочетается с синдромом Шегрена и/или ретроперитонеальным фиброзом [7].

Инфильтрация эпителия главного панкреатического протока и/или междольковых протоков нейтрофильными лейкоцитами — характерная черта АИП II типа (идиопатического протоково-центрического панкреатита) [5]. Считается, что при этом типе АИП уровень сывороточного и тканевого IgG4 не повышается [3, 7]. Однако описан случай атипичного АИП I типа, протекающего с лейкоцитарной инфильтрацией панкреатических протоков [1]. АИП II типа сочетается с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника: неспецифическим язвен-

ным колитом и болезнью Крона [5]. Для АИП II типа характерно острое течение.

Цель работы — изучение особенностей гистопатологии ПЖ при АИП I и II типа в связи с уровнем IgG4-положительных плазматических клеток в органе.

Материалы и методы исследования. Выполнен анализ операционного материала 54 больных с ХП, биоптаты из головки, тела и хвоста ПЖ и печени забирали с диагностической целью во время плановых оперативных вмешательств по поводу осложненных форм ХП в отделении хирургии ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины». Работа выполнена в рамках НИР «Вивчити механізми розвитку фібротичних процесів при хронічному панкреатиті та удосконалити технології їх хірургічної корекції», № госрегистрации 0111U001065.

Гистологическое исследование. Для гистологических исследований биоптаты фиксировали в 10,0% растворе нейтрального формалина, обезжировали в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Срезы толщиной 3–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином и по Маллори в мод. Слинченко. Стадии АИП определяли по G. Zamboni et al. (2004, табл. 1) [4].

Активность АИП оценивали как низкую и высокую.

При низкой активности редкие внутриэпителиальные гранулоциты отмечают в одном или нескольких панкреатических протоках, внутри долек наблюдают редкие гранулоциты. При высокой активности заметны повреждения одного или нескольких панкреатических протоков межэпителиальными гранулоцитами, в протоках образуются абсцессы, приводящие к их разрушению, обычно обнаруживают гранулоциты внутри долек и между ними.

Имуногистохимическое исследование. IgG-положительные плазматические клетки (IgG-ППК) выявляли с помощью овечьих антител к человеческому IgG, меченых ФИТЦ (Abeam, США); подкласс IgG4-положительных плазматических клеток (IgG4-ППК) — с помощью непрямой иммунопероксидазной реакции, используя кроличьи моноклональные антитела к IgG4 (Abeam, США). Звездчатые клетки обнаруживали с помощью специфических моноклональных антител (BTI-567, США), используя эпифлуоресцентную конфокальную микроскопию на микроскопе «Olympus-2500» (Япония).

Это окрашивание дало последовательные результаты, которые можно было легко интерпретировать. После

окрашивания производили идентификацию и количественное определение клеток в области их наибольшей концентрации, в 5 последовательных полях зрения при большом увеличении светового микроскопа (объектив $\times 40$,

окуляр $\times 10$) и с использованием флуоресцентного микроскопа ЛОМО («Микмед», Российская Федерация). Различали такие уровни IgG4-ППК на БПЗ: низкий (10–20 клеток), средний (20–30 клеток) и высокий (>30 IgG4-ППК).

Таблица 1

Стадии АИП по G. Zamboni et al. [4]

Стадия	Инфильтрация ткани ПЖ	Вовлечение протоков и/или сосудов	Распространенность	Характер фиброзирования
I	Рассеянные перидуктальные лимфоплазматические инфильтраты	Легкое сужение протоков	Почти нет вовлечения междольковых и внутридольковых пространств	Легкий вокругдольковый фиброз
II	Множественные перидуктальные лимфоплазматические инфильтраты	Сужение протоков, редкий венулит	Незначительное вовлечение междольковых и внутридольковых пространств	Очаговый многоярусный фиброз
III	Диффузная перидуктальная лимфоплазматическая инфильтрация, лимфатические фолликулы	Обструкция/разрушение протоков, облитерирующий флебит	Умеренное вовлечение междольковых и внутридольковых пространств	Вокругдольковый многоярусный фиброз
IV	Диффузная перидуктальная лимфоплазматическая инфильтрация, лимфатические фолликулы со светлым центром	Часто — венулит, редко — артериит	Выраженное вовлечение междольковых и внутридольковых пространств	Выраженный перидуктальный многоярусный фиброз и склероз

Результаты и их обсуждение. Из обследованных 54 больных с хроническим фиброзно-дегенеративным панкреатитом отобраны 15 случаев с АИП. АИП I и II типов, его стадию и активность определяли по характерным гистопатологическим изменениям ПЖ, согласно указанным критериям АИП.

В ходе исследования у каждого пациента была проанализирована гистоструктура трех топографических зон ПЖ: головки, тела и хвоста.

АИП I типа диагностирован у пяти больных мужчин, средний возраст — 45,0 лет; давность заболевания — от 1 до 4 лет. В гистологических препаратах ПЖ больных во всех гистотопографических зонах ПЖ отмечены III и IV стадии АИП с характерным плотным перидуктальным лимфоплазматическим инфильтратом (рис. 1, стр. 62), многоярусным фиброзом, клеточную основу которого составляли звездчатые клетки (рис. 2, стр. 62), и облитерирующим флебитом (рис. 3, стр. 62). В печени наблюдали легкий гепатит (рис. 4, стр. 62) с небольшим количеством IgG4-ППК (до 5 в БПЗ) в расширенных портальных трактах.

В паренхиме ПЖ всех больных с АИП I типа в плотном лимфоплазматическом инфильтрате вокруг магистральных и междольковых панкреатических протоков и лимфатических фолликулов отмечали компактные скопления IgG-ППК (рис. 5, стр. 62), среди которых диффузно располагались IgG4-ППК (>30 IgG4-ППК на БПЗ, рис. 6, стр. 62).

У обследованных больных диагностировали диффузное поражение ПЖ на III (3 случая) и IV (2 случая) стадиях АИП. Во всех случаях наблюдали осложненные

формы течения АИП: у 60% (3 человека) — хронический фиброзно-кистозный панкреатит, у 40% (2 человека) — хронический фиброзно-калькулезный панкреатит.

Известно, что обнаружение трех характерных гистологических признаков в пораженной ПЖ позволяет отнести АИП I типа к IgG4-ассоциированным склерозирующим заболеваниям: плотный лимфоплазматический инфильтрат вокруг магистральных протоков ПЖ, многоярусный фиброз, облитерирующий флебит [1, 3]. Эти признаки обнаружены во всех рассмотренных нами случаях. Важный факт — обнаружение у всех больных высокого уровня IgG4-ППК вокруг магистральных протоков ПЖ.

Гистотопографическое изучение АИП I типа позволило отметить диффузное поражение ПЖ. Как известно, чаще при АИП I типа в патологический процесс вовлекается вся железа. Однако возможны и очаговые формы АИП I типа с изолированным поражением преимущественно головки и/или хвоста [4]. Диффузное поражение ПЖ в наших случаях объясняем осложненным течением заболевания (кисты, калькулез). Полученные данные подтверждают, что наряду с характерной гистопатологией, высокий уровень тканевых IgG4-ППК (>30 IgG4-ППК на БПЗ) служит объективным диагностическим критерием АИП I типа.

АИП II типа установлен у 10 больных (1 женщина и 9 мужчин), средний возраст — 42,5 года. При гистологическом исследовании ПЖ у 2 пациентов этой группы отмечена диффузная, а у 8 — очаговая форма АИП. У одного больного с диффузной формой АИП диагностирована IV стадия, у второго — II стадия АИП. Активность АИП у этих больных была минимальной.

Очаговая форма АИП II типа с изолированным поражением тела ПЖ зарегистрирована у 3 больных (с II–III стадиями АИП), у 2 отмечено поражение хвоста (I и II стадии АИП), у 1 больной панкреатит ограничился головкой ПЖ (I стадия АИП); еще у 2 больных обнаружено одновременное поражение тела и хвоста ПЖ (II стадия АИП) с интактной головкой.

Как при диффузной, так и при очаговой форме АИП II типа в эпителии магистральных, собирательных и ацинарных протоков ПЖ регулярно определяли одиночные и множественные нейтрофильные лейкоциты, иногда образующие микроабсцессы. В протоках отмечены также участки десквамации эпителия, фигуры митоза эпителиоцитов (рис. 7, 8, стр. 63).

Такая высокая активность АИП II типа отмечена у половины больных. Лимфоплазмозитарная инфильтрация стромы охватывала не только протоки, но и дольки ПЖ (рис. 9, стр. 63). На III–IV стадиях АИП II типа в фиброзной ткани регулярно отмечали облитерирующий флебит (рис. 10, стр. 63). В перидуктальной фиброзной ткани и вокруг долек обнаруживали скопления IgG4-ППК. У всех больных наблюдали фокальные компактные скопления IgG4-ППК в перидуктальной и вокругдольковой фиброзной ткани. Уровень IgG4-ППК составлял 5–10 на БПЗ (рис. 11, стр. 63).

У одного больного этой группы с IV стадией АИП диагностирован панкреатогенный диабет, отличающийся наличием в ПЖ мелких и средних по размеру эндокринных островков с гипоплазией Р-клеток (рис. 12, стр. 63).

Таким образом, в наших исследованиях подтверждено существование двух четко очерченных гистологических типов АИП, которые различались как количеством, так и характером расположения IgG4-ППК в ПЖ. При АИП I типа наибольшая концентрация IgG4-ППК отмечена в лимфоплазмозитарных инфильтратах вокруг магистральных панкреатических протоков, а при АИП II типа обнаруживали только небольшое количество клеток (5–10 на БПЗ), расположенных в виде небольших фокальных скоплений вокруг протоков и в вокругдольковой фиброзной ткани.

Различная степень вовлечения IgG4 в этиопатогенез обоих типов АИП может свидетельствовать о различной молекулярной природе аутоантигенов, вызывающих иммуновоспалительный процесс в ПЖ. Например, карбоангидраза II типа, расположенная в эпителии панкреатических протоков, может быть мишенью аутоиммунных процессов при АИП II типа.

Выводы:

1. При АИП I типа обнаруживают плотный лимфо-плазматический перидуктальный инфильтрат, многоярусный фиброз, облитерирующий венулит и высокий уровень IgG4-ППК в ПЖ (>30 IgG4-ППК на БПЗ).

2. Для АИП II типа, кроме характерных патогистологических признаков АИП, типично лейкоцитарное повреждение эпителия панкреатических протоков и низкий уровень IgG4-ППК в ПЖ.

3. При АИП II типа в 80% случаев отмечают очаговые поражения ПЖ на I–III стадиях заболевания.

Перспективным направлением дальнейших исследований считаем разработку простой и доступной методики диагностики АИП I и II типов.

Литература:

1. Autoimmune pancreatitis with histologically proven lymphoplasmacytic sclerosing pancreatitis with granulocytic epithelial lesions / T. Ikeura, M. Takaoka, K. Uchida [et al.] // *International Medicine*. — 2012. — Vol. 51, No 7. — P. 733–737.
2. Chronic pancreatitis caused by an autoimmune abnormality. Proposal of the concept of autoimmune pancreatitis / K. Yoshida, F. Toki, T. Takeuchi [et al.] // *Dig. Dis. Sci.* — 1995. — Vol. 40, No 7. — P. 1561–1568.
3. Deshpande V. The pathology of IgG4-related disease: critical issues and challenges / V. Deshpande // *J. Semin. Diagn. Pathol.* — 2012. — Vol. 29, No 4. — P. 191–196.
4. Histopathological features of diagnostic and clinical relevance in autoimmune pancreatitis: a study on 53 resection specimens and 9 biopsy specimens / G. Zamboni, J. Liittges, P. Capelli [et al.] // *Virchows Arch.* — 2004. — Vol. 445, No 6. — P. 552–563.
5. Idiopathic chronic pancreatitis with periductal lymphoplasmacytic infiltration. Clinicopathologic features of 35 cases / K. Notohara, L. J. Burgart, D. Yadav [et al.] // *American Journal of Surg. Pathol.* — 2003. — Vol. 27. — P. 1119–1127.
6. IgG4-related disease: historical overview and pathology of hematological disorders / Y. Sato, K. Notohara, M. Kojima [et al.] // *Pathology International*. — 2010. — Vol. 60. — P. 247–258.
7. International consensus diagnostic criteria for autoimmune pancreatitis: guidelines of the International Association of Pancreatology / T. Shimosegawa, S. T. Chari, L. Frulloni [et al.] // *Pancreas*. — 2011. — Vol. 40. — P. 352–358.

УДК 616.37-002+ 611-018.1+611-018.54

RU Особенности гистоструктуры поджелудочной железы при аутоиммунном панкреатите I и II типов: связь с уровнем IgG4-положительных плазматических клеток

Ю. А. Гайдар, Н. Ю. Ошмянская, А. П. Галенко

Институт гастроэнтерологии НАМН Украины, Днепр, Украина

Ключевые слова: панкреатит, IgG4, гистологические методы, гистоструктура поджелудочной железы, плазматические клетки

Дифференциальная диагностика аутоиммунного панкреатита связана с различной степенью вовлеченности в патогенез иммуноглобулина G4 субкласса. С целью изучения двух форм аутоиммунного панкреатита и их связи с уровнем IgG4-позитивных плазматических клеток в поджелудочной железе с помощью гистологических и иммуногистохимических методов обследовали 54 больных с хроническим панкреатитом, из них отобрано 15 случаев с аутоиммунным панкреатитом. При аутоиммунном панкреатите I типа наблюдали плотный лимфо-плазмозитарный перидуктальный инфильтрат, много-

ярусный фиброз, облитерирующий венулит и высокий уровень IgG4-ППК в поджелудочной железе (>30 IgG4-ППК на большое поле зрения). Для аутоиммунного панкреатита II типа, кроме типичных пагогистологических признаков аутоиммунного панкреатита, свойственно лейкоцитарное повреждение эпителия панкреатических протоков, низкий уровень IgG4-ППК в поджелудочной железе и очаговые поражения на I–III стадиях заболевания (80% случаев).

УДК 616.37-002+ 611-018.1+611-018.54

UA **Особливості гістоструктури підшлункової залози при аутоімунному панкреатиті I і II типів: зв'язок із рівнем IgG4-позитивних плазматичних клітин**

Ю. А. Гайдар, Н. Ю. Ошмянська, О. П. Галенко
Інститут гастроентерології НАМН України, Дніпро, Україна

Ключові слова: панкреатит, IgG4, гістологічні методи, гістоструктура підшлункової залози, плазматичні клітини

Диференційна діагностика аутоімунного панкреатиту пов'язана з різним ступенем залученості в патогенез імуноглобуліну G4 субкласу. З метою вивчення двох форм аутоімунного панкреатиту та їх зв'язку з рівнем IgG4-позитивних плазматичних клітин у підшлунковій залозі за допомогою гістологічних та імуногістохімічних методів обстежили 54 хворі на хронічний панкреатит, із них відібрано 15 випадків з аутоімунним панкреатитом. При аутоімунному панкреатиті I типу спостерігали щільний лімфоцитозний перидуктальний інфільтрат, багаторусний фіброз, облітеруючий венулит і високий рівень IgG4-ППК у підшлунковій залозі (>30 IgG4-ППК на велике поле зору). Для аутоімунного панкреатиту II типу, крім типових патогістологічних ознак аутоімунного панкреатиту, властиві лейкоцитарне ушкодження епітелію панкреатичних проток, низький рівень IgG4-ППК у підшлунковій залозі й осередкові ураження на I–III стадіях захворювання (80% випадків).

EN **Histostructure of pancreas in patients with autoimmune pancreatitis type I and II: connection with the level of IgG4-positive plasma cells**

Y. A. Gaidar, N. Y. Oshmyanska, A. P. Halenko
Institute of Gastroenterology of the NAMS of Ukraine, Dnipro, Ukraine

Key words: pancreatitis, IgG4, histological techniques, histostructure of pancreas, plasma cells

Differential diagnosis of autoimmune pancreatitis apart from everything else is based on specifics of immunoglobulin G4 involvement into the pathogenesis. Aim is to analyze two forms of autoimmune pancreatitis and their relation to the level of IgG4-positive plasma cells. Methods and results. The present study was conducted on 54 patients with chronic pancreatitis, from which 15 cases with autoimmune pancreatitis were selected by using morphological and immunohistochemical methods. Conclusion. It has been established that for autoimmune pancreatitis type I dense lymphocytic periductal infiltrate, multilevel fibrosis, obliterating venulitis and high IgG4-positive plasma cells in the pancreas (>30 per high power field) were typical. In the cases of autoimmune pancreatitis type II, besides the specific histopathological signs of AIP, significantly epithelial damage of pancreatic ducts by leukocytes, low levels of IgG4-PPC in the pancreas and focal lesions on stages I–III of disease (80%) were observed.