

doi: 10.33249/2663-2144-2019-82-9-88-94

UDK 619:616-091.8

**HISTOLOGICAL RESEARCH OF CANINE PANCREAS IN
ACUTE DESTRUCTIVE PANCREATITIS****A. Milastnaia, B. Borisevich, V. Dukhnickiy, V. Lisova***e-mail: a.milastnaia@gmail.com, bbv60@ukr.net, dukhnytskyi_vb@nubip.edu.ua*

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine

16, Potehin Str., Kyiv, 03127, Ukraine

The article presents the results of a histological examination of the pancreas of dogs suffering from acute destructive pancreatitis. During postmortem autopsy, histological examinations took pieces from different parts of the pancreas (at least 4 pieces from each gland). The selected pieces were fixed in a 10 % neutral aqueous formalin solution, dehydrated in ethanol of increasing concentration and poured into paraffin through chloroform. Sections 7–10 μ m thick were obtained using a sled microscope. The resulting sections were stained with hematoxylin Carazzi and eosin. When conducting histological studies of the pancreas of dogs with destructive pancreatitis, we found that the microscopic changes in all the animals studied by us were similar. With destructive pancreatitis, as well as with its edematous form, pancreatic gland reveals dystrophic changes and destruction of all types of cells of pancreatic islets, which should lead to an imbalance of many enzymatic systems of the body that regulate the function of many organs.

In the excretory ducts of the pancreas with destructive pancreatitis, edema of their walls, granular dystrophy, and destruction of part of the cells of these walls were detected. It was found that with destructive pancreatitis, microscopic changes in pancreaticocytes were more severe than with the edematous form of the disease. In the exocrine part of the pancreas with destructive pancreatitis, edema, disorder of the acini, dystrophic changes, destruction and necrosis of pancreaticocytes were recorded. The presence of necrotic changes in part of pancreaticocytes in destructive pancreatitis indicates that this form of the disease can turn into necrotic pancreatitis.

Thus, with destructive pancreatitis, the microscopic changes in pancreaticocytes are more severe than with the edematous form of the disease. In the exocrine part of the pancreas, edema, disorganization of the acini, dystrophic changes, destruction and necrosis of pancreaticocytes are recorded. The presence of necrotic changes in part of the pancreaticocytes with destructive pancreatitis indicates that this form of the disease can turn into necrotic pancreatitis.

Key words: dogs, pancreas, acute destructive pancreatitis, pancreaticocytes, histological examination. Prospects for follow-up research: subsequent histological research of dogs pancreas are planned for various forms of acute pancreatitis.

**ГІСТОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ СОБАК
ЗА ГОСТРОГО ДЕСТРУКТИВНОГО ПАНКРЕАТИТУ****А. Г. Міластная, Б. В. Борисевич, В. Б. Духницький, В. В. Лісова***e-mail: a.milastnaia@gmail.com, bbv60@ukr.net, dukhnytskyi_vb@nubip.edu.ua*

Національний університет біоресурсів та природокористування України

вул. Полковника Потехіна, 16, м. Київ, 03041, Україна

У статті наведено результати гістологічного дослідження підшлункової залози собак, хворих на гострий деструктивний панкреатит. При проведенні патологоанатомічного розтину для гістологічних досліджень відбирали шматочки з різних ділянок підшлункової залози (з кожної залози – не менше 4 шматочків). Відібрані шматочки фіксували в 10 %-ому нейтральному водному розчині формаліну, зневоднювали в етанолах зростаючої концентрації і через хлороформ заливали в парафін. Зрізи товщиною 7–10 мкм одержували за допомогою санного мікроскопу. Одержані зрізи

зафарбовували гематоксилином Караці та еозином. При проведенні гістологічних досліджень підшлункової залози собак за деструктивного панкреатиту нами було встановлено, що мікроскопічні зміни в усіх досліджених нами тварин були подібними. За деструктивного панкреатиту, як і за набрякової його форми, в підшлунковій залозі виявляються дистрофічні зміни та руйнування усіх типів клітин панкреатичних ostrivciv, що має призводити до дисбалансу багатьох ферментативних систем організму, які регулюють функцію багатьох органів.

У вивідних протоках підшлункової залози за деструктивного панкреатиту було виявлено набряк їх стінок та зернисту дистрофію й руйнування частини клітин цих стінок. Встановлено, що, за деструктивного панкреатиту мікроскопічні зміни панкреатоцитів були більш тяжкими, ніж за набрякової форми хвороби. В екзокринній частині підшлункової залози за деструктивного панкреатиту реєструвались набряк, дезорганізація ацинусів, дистрофічні зміни, руйнування та некроз панкреатоцитів. Наявність некротичних змін частини панкреатоцитів за деструктивного панкреатиту свідчить, що ця форма хвороби може переходити в некротичний панкреатит.

Таким чином, за деструктивного панкреатиту мікроскопічні зміни панкреатоцитів більш тяжкі, ніж за набрякової форми хвороби. В екзокринній частині підшлункової залози реєструються набряк, дезорганізація ацинусів, дистрофічні зміни, руйнування та некроз панкреатоцитів. Наявність некротичних змін частини панкреатоцитів за деструктивного панкреатиту свідчить, що ця форма хвороби може переходити в некротичний панкреатит.

Перспективи подальших досліджень: планується подальше проведення гістологічних досліджень підшлункової залози собак за різних форм гострого панкреатиту.

Ключові слова: собаки, підшлункова залоза, гострий деструктивний панкреатит, панкреатоцити, гістологічне дослідження.

Вступ

Гострий панкреатит досить часто трапляється у собак, однак його патогенез є недостатньо вивченим. Неускладнений панкреатит, який характеризується, зокрема, відсутністю апетиту, болем черевної стінки, блюванням та апатією, як правило закінчується повним видужанням за відповідного лікування. Однак, за ускладнених форм, гострий деструктивний панкреатит і панкреонекроз призводять до системних ускладнень, таких як синдром системної запальної відповіді, синдром поліорганної недостатності та/або синдром дисемінованого внутрішньосудинного згортання (Trivedi et al., 2011; McCord et al., 2012; Fabrès et al., 2019).

Наразі діагностика гострого панкреатиту і оцінка важкості стану тварини залишаються складними і далекими від вирішення питань. Нещодавно розроблені діагностичні тести і системи дозволяють покращити діагностику, однак їх сукупна чутливість і специфічність є недостатніми, а діагноз, зазвичай, встановлюють на основі анамнестичних даних, результатів клінічного, лабораторного та інструментального досліджень. Дотепер відсутні специфічні тести для диференціації форм гострого панкреатиту у собак (Steiner, 2003; Mofidi et al., 2006).

Не зважаючи на досягнення у ветеринарній

медицині, рівень летальності серед собак, хворих на гострий панкреатит залишається високим, коливаючись, згідно з літературними джерелами від 27 до 58 % (Cook et al., 1990; Charles et al., 2007). Тому визначення форми захворювання і подальшого призначення адекватного лікування та зниження рівня летальності є актуальною проблемою ветеринарної медицини.

На сучасному етапі у ветеринарній медицині було запропоновано декілька систем оцінки важкості гострого панкреатиту у собак. Одну з них було засновано на оцінці дисфункції системи органів (Ruau, 1998). В даному дослідженні діагноз на гострий панкреатит встановлювали на підставі високої активності амілази і ліпази в сироватці крові, однак, оскільки дослідження проводили задовго до того як специфічні ліпазні імунологічні тести та ультразвукове дослідження стали доступними, в даному випадку був відсутній багатофакторний аналіз. Інше дослідження базувалося на взаємозв'язку трьох систем організму (серцево-судинної, дихальної, системи органів травлення), проте жоден із зв'язків не був достовірно підтверджений наприкінці дослідження (Mansfield et al., 2008). Оцінку важкості перебігу гострого панкреатиту у собак (Fabrès et al., 2019) було розроблено лише для прогнозування летальності та виявлення факторів, що сприяють

розвитку ускладнень, і, вочевидь, не мало на меті встановлення форми захворювання.

Нині не існує достатньої кількості публікацій, що стосуються дослідження клінічних форм панкреатиту, що створює потребу у вивченні гістологічної будови підшлункової залози за різних його клінічних форм. У ветеринарній медицині не існує єдиного погляду на класифікацію панкреатиту у собак, окрім поділу на гострий і хронічний за характером перебігу, тому публікації щодо вивчення гістологічної будови підшлункової залози собак за панкреатиту присвячені саме гострому і хронічному перебігу захворювання (Goralskij *et al.*, 2011; 2016).

Метою нашого дослідження було вивчення гістологічної будови підшлункової залози собак за гострого деструктивного панкреатиту.

Матеріали та методи

Робота виконувалася на базі приватної клініки ветеринарної медицини м. Києва та кафедри анатомії, гістології і патоморфології тварин ім. акад. В. Г. Касьяненка факультету ветеринарної медицини НУБіП України. Патологоанатомічний розтин трупів собак різних порід і віку з гострим деструктивним панкреатитом проводили в спинному положенні методом часткової евісцератії в загальноприйнятій послідовності. При проведенні патологоанатомічного розтину для гістологічних досліджень відбирали шматочки з різних ділянок підшлункової залози (з кожної залози – не менше 4 шматочків). Відібрані шматочки фіксували в 10 %-ому нейтральному (рН 7,2) водному розчині формаліну, зневоднювали в етанолх зростаючої концентрації (60°, 70°, 80°, 96°, 100°) і через хлороформ заливали в парафін. Зрізи товщиною 7 – 10 мкм одержували за допомогою санняго мікроскопу. Одержані зрізи зафарбовували гематоксиліном Караці та еозином. Одержані гістопрепарати вивчали під мікроскопом MC 100 LED (виробництво фірми «Micros», Австрія) і фотографували фотоапаратом Canon 550 D через фотонасадку NDPL – 2 (2х).

Результати досліджень та обговорення

При проведенні гістологічних досліджень підшлункової залози собак за деструктивного панкреатиту нами було встановлено, що мікроскопічні зміни в усіх досліджених нами тварин були подібними. Всі капіляри, венули та вени органу були виразно розширені, переповнені кров'ю, а еритроцити в просвіті кровоносних

судин усіх типів були гіпохромними і склеєними між собою (рис. 1). Гематокрит також був порушений: на плазму крові в кровоносних судинах припадало лише від 4,3 до 8,7 % площі просвіту.

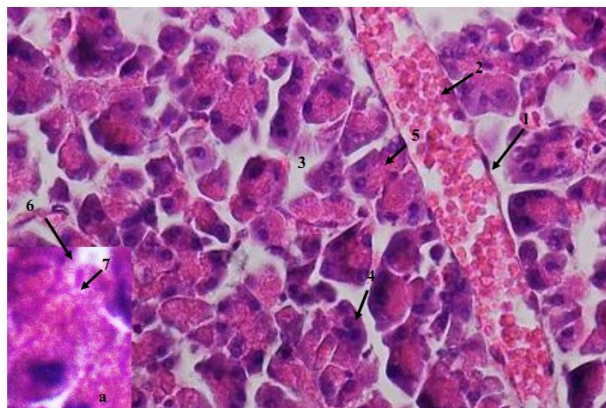


Рис. 1. Підшлункова залоза собаки за деструктивного панкреатиту:

- 1 – розширений, переповнений кров'ю кровоносний капіляр; 2 – склеєні гіпохромні еритроцити;
- 3 – набряк всередині часточки залози;
- 4 – дезорганізація ацинуса; 5 – нерівномірно зафарбована цитоплазма зимогенного полюса панкреатоцита; 6 – руйнування апікальної частини цитоплазми зимогенного полюса панкреатоцита;
- 7 – виразно еозинофільна гранула в апікальній цитоплазмі панкреатоцита.

Гематоксилін Караці та еозин, х 400

В частині клітин ендотелію артерій, артеріол, венул і вен реєструвались ознаки зернистої дистрофії, гладкі м'язові клітини медії перебували в стані зернистої дистрофії.

Сполучнотканинна строма підшлункової залози між її часточками та всередині часточок була виразно набрякла. Майже всі ацинуси були повністю дезорганізовані – на їх місці виявлялися лише поодинокі виразно змінені панкреатоцити та їх невеликі групки (див. Рис. 1). Тільки зрідка у підшлунковій залозі виявлялися поодинокі лише частково зруйновані ацинуси. І, тільки подекуди виявлялися залишки базальної мембрани ацинусів у вигляді їх невеликих фрагментів. Ці фрагменти були набряклими, нерівномірно зафарбованими і мали нечіткі контури, що свідчило про їх лізис (Рис. 2).

В усіх панкреатоцитах реєструвались значні мікроскопічні зміни, ступінь виразності яких був набагато більшим, ніж за набрякового панкреатиту.

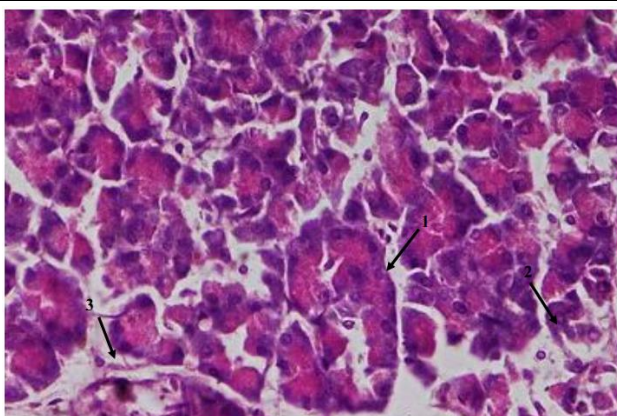


Рис. 2. Підшлункова залоза собаки за деструктивного панкреатиту:

- 1 – лише частково зруйнований ацинус;
2 – руйнування панкреатоцитів; 3 – залишок базальної мембрани ацинуса.

Гематоксилін Караці та еозин, х 400

Лише в частині панкреатоцитів диференціювалися гомогенний і зимогенний полюси цитоплазми. У цьому випадку цитоплазма гомогенного полюса була тільки слабобазофільною (рис. 3), що свідчило про значне зменшення кількості рибосом у цій ділянці клітини з відповідним значним зменшенням інтенсивності синтезу білкових речовин.

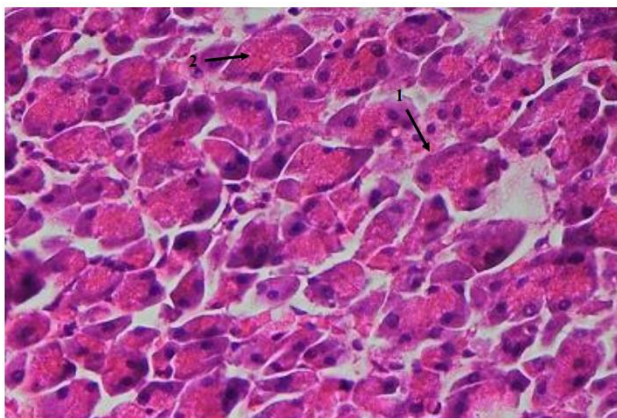


Рис. 3. Підшлункова залоза собаки за деструктивного панкреатиту:

- 1 – слабобазофільна цитоплазма гомогенного полюса панкреатоцита; 2 – нерівномірно зафарбована цитоплазма зимогенного полюса панкреатоцита.
Гематоксилін Караці та еозин, х 400

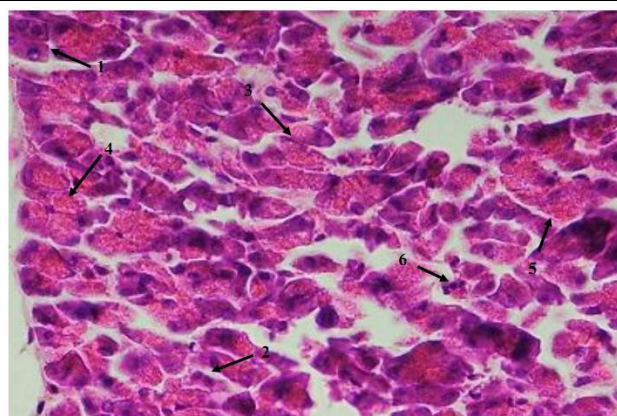


Рис. 4. Підшлункова залоза собаки за деструктивного панкреатиту:

- 1 – панкреатоцити кубічної форми; 2 – подібні до клітин плоского епітелію панкреатоцити;
3 – панкреатоцити овальної форми;
4 – панкреатоцити без гомогенного полюсу цитоплазми; 5 – нерівномірно зафарбована цитоплазма зимогенного полюса панкреатоцита зі слабодиференційованим гомогенним полюсом;
6 – руйнування панкреатоцитів.

Гематоксилін Караці та еозин, х 400

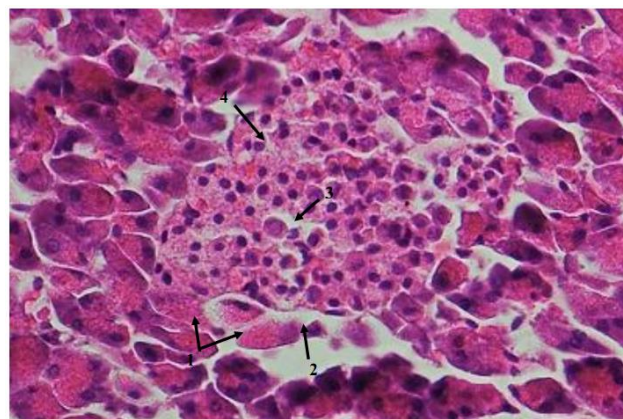


Рис. 5. Підшлункова залоза собаки за деструктивного панкреатиту:

- 1 – зерниста дистрофія панкреатоцитів;
2 – набряк навколо панкреатичного острівця;
3 – незначний набряк всередині панкреатичного острівця; 4 – частковий плазмолізис клітин панкреатичного острівця.

Гематоксилін Караці та еозин, х 400

Поряд з цим, цитоплазма зимогенного полюсу більшості панкреатоцитів зафарбовувалася нерівномірно – в ній виявлялися численні ділянки менш інтенсивного зафарбовування і більш еозинофільні гранули

(див. рис. 1, 3). На нашу думку, це також свідчило про зменшення синтезу цими клітинами травних ферментів. У частини таких панкреатоцитів реєструвалися руйнування апікальної частини клітинної оболонки та апікальної частини цитоплазми (див. рис. 1).

Частина панкреатоцитів змінювала свою форму. Серед них виявлялися клітини кубічної форми, клітини, подібні до клітин плоского епітелію, та клітини овальної форми. У цьому випадку в панкреатоцитах кубічної форми вся цитоплазма була однорідною – без поділу на гомогенний і зимогенний полюси (рис. 4).

Частина панкреатоцитів перебувала в стані зернистої дистрофії (рис. 5).

У багатьох панкреатоцитах реєструвалося не тільки руйнування апікальної частини цитоплазми, але й різні стадії повного руйнування клітини (див. рис. 2, 4). Внаслідок розвитку гідропічної дистрофії, яка проявлялась виразними літичними змінами, виявлялися частковий лізис цитоплазми та хроматину ядер панкреатоцитів, частковий лізис цитоплазми та пікноз ядра панкреатоцита, а також ядра в стані пікнозу і повна відсутність цитоплазми (рис. 6). Також було виявлено некроз частини панкреатоцитів (рис. 7).

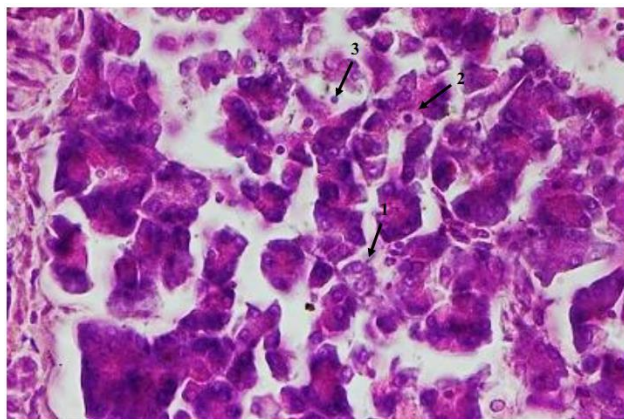


Рис. 6. Підшлункова залоза собаки за деструктивного панкреатиту:

1 – частковий лізис цитоплазми та хроматину ядер панкреатоцитів; 2 – частковий лізис цитоплазми та пікноз ядра панкреатоцита; 3 – каріопікноз і відсутність цитоплазми панкреатоцита. Гематоксилін Караці та еозин, х 400

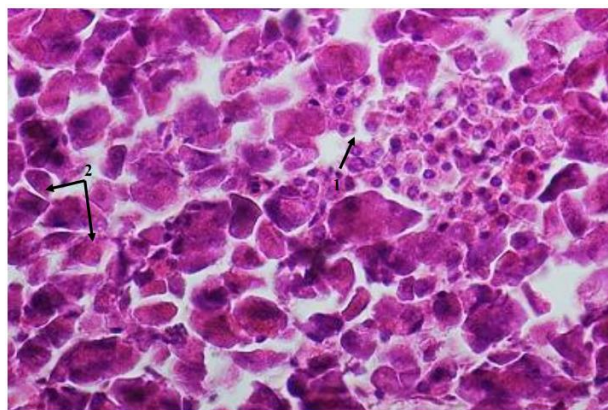


Рис. 7. Підшлункова залоза собаки за деструктивного панкреатиту:

1 – помірна дезорганізація панкреатичного острівця; 2 – некроз панкреатоцитів. Гематоксилін Караці та еозин, х 400

Таким чином, за деструктивного панкреатиту мікроскопічні зміни панкреатоцитів були більш тяжкими, ніж за набрякової форми хвороби. В екзокринній частині підшлункової залози за деструктивного панкреатиту реєструвалися набряк, дезорганізація ацинусів, дистрофічні зміни, руйнування та некроз панкреатоцитів. Наявність некротичних змін частини панкреатоцитів за деструктивного панкреатиту свідчить, що ця форма хвороби може переходити в некротичний панкреатит.

В усіх панкреатичних острівцях за деструктивного панкреатиту нами також було встановлено наявність виразних мікроскопічних змін. Навколо багатьох таких острівців і в самих острівцях, як і за набрякового панкреатиту, виникав нерівномірний помірний набряк (див. рис. 5). У цьому випадку набряк всередині панкреатичних острівців був нерівномірним. Внаслідок такого набряку відбувалася дезорганізація панкреатичних острівців (див. рис. 7). У клітинах усіх типів реєструвалися зерниста й гідропічна дистрофії. Місцями виявлявся частковий плазмолізис клітин панкреатичного острівця. Частина дистрофічно змінених клітин руйнувалася (див. рис. 5).

Таким чином, за деструктивного панкреатиту, як і за набрякової його форми, в підшлунковій залозі виявляються дистрофічні зміни та руйнування усіх типів клітин панкреатичних острівців, що має призводити до дисбалансу багатьох ферментативних систем організму, які регулюють функцію багатьох органів.

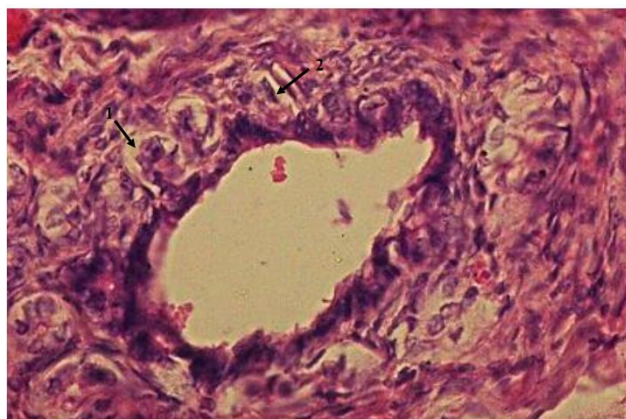


Рис. 8. Підшлункова залоза собаки за деструктивного панкреатиту:

1 – набряк стінки протоки; 2 – зерниста дистрофія й руйнування клітин стінки протоки.

Гематоксилін Караці та еозин, х 400

У вивідних протоках підшлункової залози за деструктивного панкреатиту було виявлено набряк їх стінок та зернисту дистрофію й руйнування частини клітин цих стінок (рис. 8).

Отже, нами було встановлено, що за деструктивного панкреатиту мікроскопічні зміни панкреатоцитів були більш тяжкими, ніж за набрякової форми хвороби. В екзокринній частині підшлункової залози за деструктивного панкреатиту реєструвалися набряк, дезорганізація ацинусів, дистрофічні зміни, руйнування та некроз панкреатоцитів. Наявність некротичних змін частини панкреатоцитів за деструктивного панкреатиту свідчить, що ця форма хвороби може переходити в некротичний панкреатит.

Висновки

1. За деструктивного панкреатиту мікроскопічні зміни панкреатоцитів більш тяжкі, ніж за набрякової форми хвороби. В екзокринній частині підшлункової залози реєструються набряк, дезорганізація ацинусів, дистрофічні зміни, руйнування та некроз панкреатоцитів.

2. Наявність некротичних змін частини панкреатоцитів за деструктивного панкреатиту свідчить, що ця форма хвороби може переходити в некротичний панкреатит.

Reference

Charles, J. (2007). Pancreas. In Grand Maxie, M. (Ed.). *Jubb, Kennedy, and Palmer's Pathology of Domestic Animals* (5th ed.) (pp. 389–423). Edinburgh : Saunders Elsevier.

Cook, A. K., Breitschwerdt, E. B., Levine, J. F., Bunch, S. E., Linn, L. O. (1990). Risk factors associated with acute pancreatitis in dogs: 101 cases (1985–1990). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 203, 673–679.

Fabrès, V., Dossin, O., Reif, C., Campos, M., Freiche, V., Maurey, C. & Bencheikroun, G. (2019). Development and validation of a novel clinical scoring system for short-term prediction of death in dogs with acute pancreatitis. *Journal of veterinary internal medicine*, 33 (2), 499–507. doi: 10.1111/jvim.15421.

Horalskyi, L. P., Dubich, I. M., Burlaka, V. A. & Zaika, S. S. (2011). Histoarchitektohika pidshlunkovoi zalozy sobak za hostroho ta khronichnoho perebihu pankreatytu [Histoarchitectomics of the pancreas of dogs in acute and chronic pancreatitis]. *Visnyk Sumskoho natsionalnoho ahrarnoho universytetu. Ser. Veterynarna medytsyna*, 1, 18–22 [in Ukrainian].

Horalskyi, L. P., Sokulskij, I. M. & Demus, N. V. (2016). Patomorfologhiia pidshlunkovoi zalozy sobak za khronichnoho pankreatytu [Pathomorphology of the pancreas of dogs in chronic pancreatitis]. *Naukovyi visnyk Lvivskoho natsionalnoho universytetu veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S. Z. Gzhytskoho. Ser. Veterynarni nauky*, 18 (3), 40–43 [in Ukrainian].

Mansfield, C. S., James, F. E. & Robertson, I. D. (2008). Development of a clinical severity index for dogs with acute pancreatitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 233, 936–944. doi:10.2460/javma.233.6.936.

McCord, K., Morley, P. S., Armstrong, J., Simpson, K., Rishniw, M., Forman, M. A. ... Twedt, D. (2012). A multi-institutional study evaluating the diagnostic utility of the spec cPL™ and SNAP® cPL™ in clinical acute pancreatitis in 84 dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 26, 888–896. doi: 10.1111/j.1939-1676.2012.00951.x.

Mofidi, R., Duff, M. D., Wigmore, S. J., Madhavan, K. K., Garden, O. J., Parks, R. W. (2006). Association between early systemic inflammatory response, severity of multiorgan dysfunction and death in acute pancreatitis. *The British journal of surgery*, 93, 738–744. doi.org/10.1002/bjs.5290.

Ruau, C. G. & Atwell, C. G. (1998). A severity score for spontaneous canine acute pancreatitis. *Australian Veterinary Journal*, 76, 804–808.

doi:/10.1111/j.1751-0813.1998.tb12331.x.

Steiner, J. M. (2003). Diagnosis of pancreatitis. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 33, 1181–1195.

Trivedi, S., Marks, S. L., Kass, P.H., Luff J. A., Keller S. M., Johnson E. G. & Murphy, B. (2011). Sensitivity and specificity of canine pancreas-specific

lipase (cPL) and other markers for pancreatitis in 70 dogs with and without histopathologic evidence of pancreatitis. *Journal of veterinary internal medicine*, 25 (6), 1241–1247. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.00793.x.