

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ РАСТВОРИМЫМИ ФАКТОРАМИ ТРОМБОЦИТОВ, ПРИ ЛЕЧЕНИИ ТЯЖЕЛОГО ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*Куделич О.А.¹, Кондратенко Г.Г.¹, Потаннев М.П.², Рыженкова О.В.²,
Неверов П.С.¹, Карман А.Д.¹, Пландовский А.В.¹*

¹УО «Белорусский государственный медицинский университет»,

²ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и
медицинских биотехнологий»,
г. Минск, Республика Беларусь

Введение. Острый панкреатит (ОП) является одним из самых распространенных заболеваний органов брюшной полости, и в тяжелых случаях представляет реальную опасность летального исхода. Лечение таких форм ОП до настоящего времени является сложной клинической задачей.

Одним из современных подходов к лечению различных заболеваний является применение биопродуктов клеточного происхождения. Плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ), при региональном применении оказывает антиапоптотическое, иммуномодулирующее и регенеративное действие на поврежденные органы и ткани. Имеется ограниченный опыт применения ПОРФТ после операций на поджелудочной железе (ПЖ), а также при лечении стрептозотоцин-индуцированного сахарного диабета в эксперименте. Эффективность ПОРФТ при лечении тяжелого ОП ранее не изучалось.

Цель исследования – определить влияние ПОРФТ на динамику гематологических и биохимических показателей, маркеров перекисного окисления липидов (ПОЛ) и системной воспалительной реакции на ранней стадии тяжелого острого экспериментального панкреатита (ТОЭП).

Материал и методы. Моделирование ТОЭП произведено у 36 крыс-самцов линии Wistar весом 275-380 г. Дополнительно 6 интактных животных отобраны для оценки нормальных показателей (группа I). Остальные крысы разделены на группы: II группа (контрольная) (n=12) – ТОЭП без лечения; III группа (n=12) – ТОЭП, обезбоживание+0,9% раствор NaCl 6мл/кг 1 раз в сутки внутривенно, IV группа (n=12) – ТОЭП, обезбоживание+инфузия+регионарное введение ПОРФТ. Лечение начинали через 24 часа после моделирования ОП. Животных выводили из эксперимента на 3 и 7 сутки после моделирования, производили забор крови и органов. Протокол исследования одобрен этической комиссией. *Моделирование тяжелого ОП у крыс.* После лапаротомии в рану выводили желудочно-селезеночную часть ПЖ, иглой 30G в паренхиму вводили 0,3 мл 5% раствора неионного детергента «Тритон X100». *Гематологические исследования* выполнены на ветеринарном автоматическом анализаторе, определялись количество эритроцитов, гемоглобин (Hb), гематокрит (HCT), количество тромбоцитов, объем тромбоцитов (MPV), количество лейкоцитов.

Биохимические исследования выполнялись для определения уровня альфа-амилазы, креатинина, мочевины, глюкозы, С-реактивного белка (СРБ), аспаратаминотрансферазы (АсАТ), аланинаминотрансферазы (АлАТ). Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали по уровню накопления малонового диальдегида (МДА). *Методом иммуноферментного анализа (ИФА)* в сыворотке крови определяли концентрацию интерлейкина-6 (Ил-6), уровень фактора некроза опухоли- α (ФНО- α) и содержание оксида азота (NO). ПОРФТ получали модифицированным методом Yamaguchi R. из крови здоровых животных – крыс-самок массой 250-300г.

Способ регионарного (локального) введения ПОРФТ при лечении ОЭП. Животным IV группы после моделирования ОП через контрапертуру в брюшную полость между желудочно-селезеночной частью ПЖ и селезенкой вводили катетер Ch6 с боковым отверстием, направленным в сторону ПЖ. Катетер фиксировали к желудку погружным швом. Брюшную стенку ушивали наглухо (заявка на изобретение а20202312 от 08.12.2022г). Регионарное введение ПОРФТ производилось через катетер в 1-е сутки после моделирования в объеме 150мкл двукратно с интервалом 6 часов (заявка на изобретение а20230042 от 09.02.2023г).

Статистическая обработка результатов исследования производилась с помощью программы IBM SPSS Statistics 23. Количественные признаки представлены как среднее арифметическое и его стандартная ошибка ($M \pm m$) при нормальном распределении или медиана и интерквартильный размах ($Me[Q25;Q75]$) при распределении, отличном от нормального. Различия считали статистически значимыми при вероятности ошибки $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. После моделирования у всех животных развивалась картина ТОЭП. Не отмечено достоверных изменений количества эритроцитов и лейкоцитов, уровней Hb и HCT по сравнению с контрольными значениями (Mann-Whitney U Test, $p > 0,5$). На 3-е сутки во всех группах развивалась тромбоцитопения, наименее выраженная у животных IV группы (ПОРФТ) по сравнению с интактными животными ($412,0[359,50;446,50]$ и $553,0[428,25;751,0] \times 10^9$ /л.; U Test, $p = 0,054$). На 7-е сутки уровень тромбоцитов достоверно не отличался от нормальных значений во всех группах ($p > 0,05$). На 3-и сутки у всех животных после моделирования отмечалось увеличение объема тромбоцитов (MPV) на 0,9%-4,4% по сравнению с нормой без достоверных различий между группами ($p > 0,05$). К 7 суткам этот показатель также нормализовался, однако в IV группе наблюдалось более интенсивное уменьшение MPV. Так как тромбоцитопения и рост MPV отражают тяжесть течения ОП, можно судить о положительном влиянии ПОРФТ на динамику ТОЭП.

У животных после моделирования ОП уровень амилазы в сыворотке крови был достоверно выше показателей интактных животных ($1422,0[1373,0;1764,50]$ ед./мл), на 3-е сутки он нормализовался в III ($1703,0[1507,0;2333,25]$ ед./мл; U Test, $p = 0,150$) и в IV ($1633,50[1393,75;1750,0]$ ед./мл; U Test, $p = 0,748$) группах животных. На 7 сутки только во II группе

животных отмечалось превышение нормы по этому показателю в 1,4 раза (U Test, $p=0,025$). У животных IV группы на 7-е сутки активность амилазы сыворотки крови была наиболее низкой (1528,0[1433,0;1648,75] ед./мл).

Маркеры цитолиза гепатоцитов (АсАТ и АлАТ): на 3-е сутки у животных II и III групп уровень АсАТ в сыворотке крови был выше, чем у интактных животных ($p>0,05$). У животных IV группы в этот период значения АсАТ не отличались от нормы (128,50[108,0;218,50] и 124,50[96,25;156,0] ед./л соответственно; U Test, $p=0,522$). К 7 суткам эксперимента отмечено повышение этого показателя у всех животных II и III групп по сравнению с нормой (U Test, $p>0,05$). В IV группе показатель АсАТ оказался наиболее низким и достоверно не отличался от исходных значений (148,50[127,25;163,25] ед./л; U Test, $p=0,337$). Этот факт свидетельствует о цитопротекторном действии ПОРФТ. Активность АлАТ в сыворотке крови животных II и IV групп достоверно не отличалась от контрольных показателей (U Test, $p>0,05$).

Продукты ПОЛ, которые выделяет повреждённая ацинарная клетка ПЖ, способны потенцировать развитие синдрома системного воспалительного ответа (ССВО) и усугублять расстройства микроциркуляции. На 3-е сутки после моделирования ТОЭП уровень МДА во II группе (21,60[19,40;22,45] мкмоль/мл) и в III группе (19,95[18,10;21,80] мкмоль/мл) животных был несколько выше, чем в группе интактных животных (18,65[16,50;19,53] мкмоль/мл; $p>0,05$). Далее в этих группах также отмечалось накопление МДА. В IV группе количество МДА на 3 и 7 сутки также достоверно не отличалось от значений у интактных животных (U Test, $p>0,05$). В результате избыточного образования NO и его взаимодействия с супероксидными анионами образуется цитотоксичный пероксинитрит. На 3 сутки после моделирования концентрация NO в сыворотке крови животных II (41,21[40,30;41,79] мкмоль/мл; U Test, $p=0,004$) и III (32,53[25,59;41,05] мкмоль/мл, U Test, $p=0,01$) групп достоверно превышала исходные значения (28,71[21,70;30,98] мкмоль/мл). Регионарное применение ПОРФТ препятствовало накоплению NO в сыворотке крови к 3-м (24,82[20,89;30,11] мкмоль/мл) и 7-м суткам до 34,95[21,47;50,21] мкмоль/мл по сравнению с нормой (соответственно $p=0,423$ и $p=0,249$), что указывает на уменьшении интенсивности ПОЛ.

Уровень СРБ в сыворотке крови всех животных на 3-е сутки после моделирования достоверно превышал исходный уровень 0,20[4,0;6,25] мг/мл (U Test; $p<0,05$) и оставался высоким на протяжении 7 суток без значимых различий между группами (0,30[0,0;0,30] - 0,35[0,30;0,40] мг/мл). Уровни ФНО- α и ИЛ-6 достоверно повышались через сутки после введения детергента, но на 3 и 7 сутки не отличались от контрольных значений (U Test; $p>0,05$).

Выводы. Плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов, при раннем использовании благоприятно влияет на изменения количества и размеров тромбоцитов, способствует снижению содержания продуктов

свободнорадикального окисления, ферментемии и элементов эндогенной интоксикации, которые являются ключевыми звеньями патогенеза тяжелого острого панкреатита, а также способствует предупреждению цитолиза при тяжелом остром панкреатите.