

О. А. Куделич¹, А. Д. Карман¹, П. Д. Городецкий²

**ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТРОМАЛЬНЫХ
КЛЕТОК, ИХ МИКРОВЕЗИКУЛ И ПЛАЗМЫ, ОБОГАЩЕННОЙ
РАСТВОРИМЫМИ ФАКТОРАМИ ТРОМБОЦИТОВ, НА ТЕЧЕНИЕ
ОСТРОГО ПАНКРЕАТИТА**

¹ *Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск;*

² *10-я городская клиническая больница, г. Минск, Беларусь*

Ключевые слова: острый панкреатит, мезенхимальные стромальные клетки, плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов.

O. A. Kudelich¹, A. D. Karman¹, P. D. Gorodetsky²

**EVALUATION OF THE INFLUENCE OF MESENCHYMAL STROMAL
CELLS, THEIR MICROVESICLES AND PLASMA ENRICHED
WITH SOLUBLE PLATELET FACTORS ON THE COURSE
OF ACUTE PANCREATITIS**

¹ *Belarusian State Medical University, Minsk;*

² *10th City Clinical Hospital, Minsk, Belarus*

Keywords: acute pancreatitis, mesenchymal stromal cells, plasma enriched with soluble platelet factors.

Актуальность проблемы острого панкреатита обусловлена высокой летальностью, связанной с ростом тяжелых форм панкреатита, что приводит к смерти пациентов в 40 % случаев [2]. Это связано с развитием выраженной эндогенной интоксикации, приводящей к развитию необратимой полиорганной недостаточности [1, 2]. Тяжелые формы острого панкреатита приводят к утрате трудоспособности у более половины больных, что подчеркивает социальную значимость данной проблемы. Полиорганная дисфункция является непосредственной причиной гибели больных с тяжелыми формами острого панкреатита.

Консервативное лечение при остром панкреатите должно быть целенаправленным и патогенетически обоснованным. Возникает потребность в усовершенствовании методов диагностики, лечения и видов хирургического вмешательства [3, 4]. Актуальным является проведение экспериментальных исследований применения биопродуктов клеточного происхождения (мезенхимальных стромальных клеток (МСК), их дериватов в виде микровезикул (МВ), а также плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ) для лечения острого панкреатита (ОП).

Цель: при экспериментальном остром панкреатите обосновать возможность коррекции, возникающих патологических системных изменений с помощью применения мезенхимальных стромальных клеток, их микровезикул и плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов.

Материалы и методы исследования. При остром экспериментальном панкреатите изучено влияние МСК, микровезикул МСК и ПОРФТ на биохимические и гематологические показатели крови. Данное исследование проведено на 54 половозрелых крысах-самцах линии Wistar весом 275–380 г, во время которого животные были разделены на 5 групп: I группа (n = 6) — интактные, II группа (контрольная) (n = 12) — крысы с ОП без лечения, III группа (n = 12) — крысы с ОП, лечение: обезболивание + инфузии 0,9 % раствора натрия хлорида + регионарное введение ПОРФТ, IV группа (n = 12) — крысы с ОП, получавшие лечение: обезболивание + инфузии 0,9 % раствора натрия хлорида + регионарное введение МСК, V группа (n = 12) — крысы с ОП, получавшие лечение: обезболивание + инфузии 0,9 % раствора натрия хлорида + регионарное введение микровезикул МСК. Модель острого панкреатита создавалась введением 0,3 мл 5 % неионного детергента полиэтиленгликоль-октилфенолового эфира в поджелудочную железу крыс. Животным III, IV и V групп после завершения этапа моделирования ОП через контрапертуру на передней брюшной стенке в левом нижнем квадранте в брюшную полость к поджелудочной железе подводили катетер по разработанной нами методике. Лечение начинали через 24 часа после моделирования заболевания для оценки влияния на системные изменения при ОП.

На 3-и и 7-е сутки оценивали гематологические показатели (количество эритроцитов, гемоглобин, гематокрит, количество тромбоцитов, количество лейкоцитов), маркеры системного проявления патологического процесса (альфа-амилаза, глюкоза, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), маркеры системного воспалительного ответа (ФНО- α , ИЛ-6, С-реактивный белок), маркеры эндогенной интоксикации (активность перекисного окисления липидов, уровень оксида азота — NO).

Результаты. В эксперименте установлено, что на 3-и сутки в крови животных II группы количество тромбоцитов было достоверно меньше, чем в крови интактных животных ($p = 0,042$). Применение ПОРФТ также не предотвращало снижение уровня тромбоцитов, на 3-и сутки этот показатель статистически значимо не отличался от данного показателя у интактных животных ($p = 0,054$). У животных IV и V групп уровень содержания тромбоцитов на 3-и сутки был наиболее высокий и не отличался от данного показателя у интактных животных ($p > 0,05$). После применения МСК у животных IV группы уровень тромбоцитов оказался наиболее высоким ($1034,5 (972,50; 1227,25) \times 10^9/\text{л}$) и статистически значимо отличался от значений в других группах животных ($p < 0,05$).

На 3-и сутки от начала моделирования ОП во II группе животных отмечалась наиболее высокая активность α -амилазы, которая статистически значимо отличалась от данного показателя у интактных животных ($904,0 (845,0; 1339,50)$ и $819,0 (499,75; 980,0)$ ед/мл соответственно; $p = 0,047$). В III группе активность α -амилазы была наименьшей — $771,0 (694,5; 832,5)$ ед/мл и статистически значимо отличалась от значений во II группе

животных ($p = 0,018$). В дальнейшем, через 7 суток наблюдения, во II группе животных активность α -амилазы не менялась. В IV группе к концу эксперимента активность α -амилазы была наименьшей и статистически значимо отличалась от таковой у интактных животных (677,0 (603,75; 816,25) и 819,0 (499,75; 980,0) ед/мл соответственно; $p = 0,039$). В V группе на 7-е сутки отмечалось некоторое повышение данного показателя без значимых различий между группами.

На 3-и сутки после моделирования ОП во II и III группах отмечалось повышение уровня глюкозы крови по сравнению с интактными животными. Применение ПОРФТ не снижало уровень гликемии, и к концу эксперимента только в III группе животных этот показатель был выше интактных значений (10,0 (8,75; 10,0) и 8,0 (6,75; 8,25) ммоль/л соответственно; $p = 0,013$). В IV группе животных на 3-и сутки эксперимента уровень глюкозы был статистически значимо меньше значений данного показателя у интактных животных (5,75 (4,89; 6,47) и 8,0 (6,75; 8,25) ммоль/л соответственно; $p = 0,016$). К 7-м суткам эксперимента в этой группе наблюдалось повышение уровня глюкозы крови с 5,79 (5,70; 5,90) до 7,59 (7,11; 8,63) ммоль/л ($p = 0,046$), и данный показатель практически не отличался от такового у интактной группы животных ($p = 0,936$).

Установлено, что на 3-и сутки у животных II и IV групп уровень АСТ в сыворотке крови был выше, чем у интактных животных ($p > 0,05$). В III группе в эти сроки значения АСТ не отличались от нормы (128,5 (108,0; 218,5) и 124,5 (96,25; 156,0) ед/л соответственно; $p = 0,522$). У животных V группы, где для лечения применялись микровезикулы МСК, на 3-и сутки значения АСТ были ниже нормы (99,15 (84,55; 125,53) ед/л; $p = 0,20$). В дальнейшем на протяжении всего эксперимента отмечено повышение этого показателя у животных II, III и IV групп, что не наблюдалось у животных V группы. В V группе животных на 7-е сутки АСТ оказался наиболее низкий (96,7 (92,55; 115,13) ед/л) и достоверно был ниже значений данного показателя у животных сравниваемых групп ($p < 0,05$). В IV группе животных, где применялись МСК, напротив, показатель АСТ в этот же период оказался наиболее высокий и превышал интактные значения в 1,7 раза (215,50 (167,0; 265,50) и 124,50 (96,25; 156,0) ед/л соответственно; $p = 0,016$).

Отмечено, что в IV группе животных на 7-е сутки уровень АЛТ был наиболее высокий, хотя статистически значимо не отличался от нормальных значений (74,50 (55,0; 117,25) и 55,0 (44,50; 63,50) ед/л соответственно; $p = 0,172$).

По современным представлениям, ключевым патогенетическим звеном ОП является «цитокиновый шторм» с развитием синдрома системного воспалительного ответа (ССВО). Установлено, что во II группе животных отмечался самый значительный рост концентрации ФНО- α , на 3-и сутки этот показатель были достоверно выше, чем в группе интактных животных (1,73 (1,47; 1,87) и 1,45 (1,32; 1,77) пг/мл соответственно; $p = 0,048$). Применение

ПОРФТ и МВ МСК не способствовало снижению концентрации ФНО- α в группах, в эти же сроки данный показатель был выше, чем у интактных животных ($p > 0,05$), однако оставался меньше в сравнении с животными II группы ($p > 0,05$). В IV группе на 3-и сутки эксперимента концентрация ФНО- α была ниже, чем у интактных животных на 42 % (1,02 (0,85; 1,24 и 1,45 (1,32; 1,77) пг/мл соответственно; $p = 0,011$), чем у животных II группы на 70 % (1,73 (1,47; 1,87) пг/мл; $p = 0,011$), чем у животных III группы на 59 % (1,61 (1,56; 1,67) пг/мл; $p = 0,011$) и чем у животных V группы на 50 % (1,53 (1,08; 1,95) пг/мл; $p = 0,055$). На 7-е сутки у животных II группы концентрация ФНО- α снизилась и статистически значимо не отличалась от значений у интактных животных (1,50 (1,16; 1,76) и 1,45 (1,32; 1,77) пг/мл соответственно; $p = 1,0$).

В IV и V группе животных на 3-и сутки концентрация ИЛ-6 была достоверно ниже по сравнению с данным показателем у животных II и III групп и в 2,6–3 раза ниже значений интактных животных (88,0 (71,65; 155,95), 98,2 (71,30; 102,75) и 258,30 (209,30; 333,25) пг/мл соответственно; $p = 0,011$). В дальнейшем отмечалось повышение этого показателя без достоверных различий между группами.

Через 3-е суток после моделирования ОП у животных II группы отмечался значительный рост уровня СРБ (в 2 раза) по сравнению с нормой (0,40 (0,30; 0,55) и 0,20 (0,20; 0,30) пг/мл соответственно; $p = 0,004$). При исследовании уровня СРБ в сыворотке крови животных III группы на 3-и сутки от начала моделирования ОП также отмечено достоверное повышение этого показателя по сравнению с интактными животными (0,35 (0,30; 0,40) и 0,20 (0,20; 0,30) пг/мл соответственно; $p = 0,005$). В дальнейшем во II и III группах наблюдалось снижение СРБ до 0,30 (0,0; 0,30) пг/мл, однако на 7-е сутки он оставался выше, чем в группе интактных животных ($p = 0,005$). Напротив, в IV группе животных уровень СРБ на протяжении всего эксперимента статистически значимо не отличался от значений интактных животных (0,20 (0,20; 0,30) и 0,20 (0,20; 0,30) пг/мл соответственно; $p = 0,523$) и был достоверно ниже значений в II и III группах ($p < 0,05$).

Согласно полученным данным, на 3-и сутки после моделирования ОП концентрация NO в сыворотке крови животных II группы статистически значимо (на 81 %) превышала значения у интактных животных (29,22 (19,42; 35,48) и 16,04 (14,31; 23,54) мкмоль/мл соответственно; $p = 0,004$). Применение для лечения ПОРФТ на 3-и сутки не препятствовало росту концентрации NO в сыворотке крови у животных III группы до 20,1 (17,70; 25,79) мкмоль/мл. Напротив, применение МСК и их микровезикул способствовало тому, что содержание NO в сыворотке крови животных этих групп через трое суток от начала эксперимента было наименьшим по сравнению с интактными животными (14,20 (11,35; 16,05), 13,90 (11,8; 15,65) и 16,04 (14,31; 23,54) мкмоль/мл соответственно; $p = 0,201$) и статистически значимо было меньше данного показателя у животных II группы ($p = 0,011$).

Заключение. Применение МСК и их микровезикул на ранней стадии острого панкреатита положительно влияет на количество тромбоцитов в периферической крови экспериментальных животных. В то же время МСК предотвращали гипергликемию. Использование МСК и ПОРФТ способствует нормализации активности α -амилазы в сыворотке крови, опосредованной через цитопротекторное действие в отношении экзокринных клеточных структур поджелудочной железы. Использование ПОРФТ, МСК и МВ МСК при остром экспериментальном панкреатите уменьшает системный воспалительный ответ, что продемонстрировала динамика значений ФНО- α , ИЛ-6 и уровня СРБ. Использование МСК подавляет рост уровня оксида азота и малонового диальдегида в сыворотке крови экспериментальных животных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Saveliev, V. S. Pancreonecrosis / V. S. Saveliev, M. I. Filimonov, S. Z. Burnevich. – М. : М.И.А, 2008. – 264 p.
2. Petrov, M. S. Global epidemiology and holistic prevention of pancreatitis / M. S. Petrov, D. Yadav // Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. – 2019. – Vol. 16 (3). – P. 175–184.
3. Acute Pancreatitis Classification Working Group. Classification of acute pancreatitis – 2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus / P. A. Banks, T. L. Bollen, C. Dervenis // Gut. – 2013. – Vol. 62 (1). – P. 102–111.
4. Working Group IAP/APA Acute Pancreatitis Guidelines. IAP/APA evidence-based guidelines for the management of acute pancreatitis // Pancreatology. – 2013. – Vol. 13 (4 Suppl. 2). – e1–15.