

Влияние мезенхимальных стромальных клеток, их микровезикул и плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, на патологические изменения в ткани поджелудочной железы при остром некротизирующем панкреатите у крыс

О.А. Куделич^{✉1}, Г.Г. Кондратенко¹, Т.А. Летковская¹, О.А. Степура¹,
М.П. Потапнев², А.М. Неровня¹

¹ УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
220083, Беларусь, Минск, пр-т Дзержинского, д. 83;

² ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий» МЗ РБ,
220053, Беларусь, Минск, Долгиновский тракт, д. 160

✉ Автор, ответственный за переписку: Олег Аркадьевич Куделич, канд. мед. наук, доцент кафедры хирургии и трансплантологии Белорусского государственного медицинского университета, kudelichsurg@gmail.com

Аннотация

Актуальность. Улучшение результатов лечения острого некротизирующего панкреатита (ОНП) остается наиболее сложной и нерешенной проблемой для хирургов и специалистов интенсивной терапии.

Цель. Оценить влияние мезенхимальных стромальных клеток (МСК), их микровезикул (МВ) и плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов (ПОРФТ), на морфологическую и иммуногистохимическую характеристику поджелудочной железы при ОНП у крыс в зависимости от пути и времени введения, а также раздельного и сочетанного применения.

Материал и методы. Изучено влияние МСК, МВ МСК и ПОРФТ на морфологическую и иммуногистохимическую характеристику поджелудочной железы (ПЖ) при ОНП у крыс в зависимости от пути (региональный/внутривенный) и времени введения (6 и 24 часа от начала моделирования заболевания), а также их раздельного или сочетанного применения (ПОРФТ и МСК, ПОРФТ и МВ МСК). Исследование проведено на 72 половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Модель острого некротизирующего панкреатита создавали стандартно введением 0,3 мл 5% неионного детергента полиэтиленгликоль-октилфенолового эфира в хвостовую часть ПЖ крыс. Забор органов и тканей производили на 3-и сутки от начала моделирования заболевания. Гистологические изменения в тканях ПЖ изучались путем окрашивания препаратов гематоксилином и эозином. Иммуногистохимическое окрашивание ткани ПЖ выполняли первичными моноклональными антителами к TGF- β 1 и SCARD1 с последующим анализом характера их экспрессии.

Результаты. Было установлено, что более выраженные процессы регенерации и неоангиогенеза наблюдались при внутривенном способе доставки МСК и МВ МСК независимо от времени введения (6 или 24 часов). Полученные данные указывают на иммуномодулирующий и прорегенераторный эффект МСК и МВ МСК путем потенцирования поляризации и от воспалительных макрофагов M1 к противовоспалительным M2, о чем свидетельствует выраженная иммуногистохимическая реакция к TGF- β 1, который секретируется преимущественно макрофагами фенотипа M2.

Заключение. Применение в эксперименте МСК и МВ МСК для лечения ОНП на ранних стадиях заболевания обеспечивает более выраженные процессы репарации и неоангиогенеза в патологически измененной ткани ПЖ.

Ключевые слова: микровезикулы, мезенхимальные стромальные клетки, острый панкреатит, иммуногистохимия, поджелудочная железа, внутривенное введение, внутрибрюшинное введение

Конфликт интересов Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Финансирование Исследование выполнено благодаря финансовой поддержке Министерства здравоохранения Республики Беларусь (государственная регистрация № 2020363)

Одобрение комитета по этике Исследование одобрено этическим комитетом УО «Белорусский государственный медицинский университет» (протокол № 8 от 01.02.2022)

Для цитирования: Куделич О.А., Кондратенко Г.Г., Летковская Т.А., Степура О.А., Потапнев М.П., Неровня А.М. Влияние мезенхимальных стромальных клеток, их микровезикул и плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, на патологические изменения в ткани поджелудочной железы при остром некротизирующем панкреатите у крыс. *Трансплантология*. 2025;17(2):167–183. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2025-17-2-167-183>

The effect of mesenchymal stromal cells, their microvesicles and platelet-rich plasma on pathological changes in pancreatic tissue in acute necrotizing pancreatitis in rats

O.A. Kudelich^{✉1}, G.G. Kondratenko¹, T.A. Letkovskaya¹, O.A. Stepuro¹,
M.P. Potapnev², A.M. Nerovnya¹

¹ Belarusian State Medical University,
83 Dzerzhinsky Ave., Minsk 220083 Belarus;

² Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies,
160 Dolginovsky Tract, Minsk 220053 Belarus

✉Corresponding author: Oleg A. Kudelich, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Surgery and Transplantology, Belarusian State Medical University, kudelichsurg@gmail.com

Abstract

Background. Improving treatment outcomes for acute necrotizing pancreatitis (ANP) remains the most difficult and unresolved problem for surgeons and intensive care specialists.

Objective. To evaluate the effect of mesenchymal stromal cells (MSCs), MSC-derived microvesicles (MSC MVs) and platelet-rich plasma (PRP) on morphological and immunohistochemical characteristics of the pancreas in ANP in rats with regard to the route and timing of PRP administration, as well as separate and combined application.

Material and methods. The effects of MSCs, MSC MVs and PRP on the morphological and immunohistochemical characteristics of the pancreas in ANP in rats were studied, taking into the account the route (intraperitoneal/ intravenous) and time of administration (6 and 24 hours from the start of disease modeling), as well as their separate or combined use (PRP and MSCs, PRP and MSC MVs). The study was conducted on 72 adults Wistar rats. Acute pancreatitis was induced by the administration of a 0.3 ml of 5% solution of non-ionic polyethylene glycol octylphenol ether detergent into the caudal part of the rat pancreas. Organ and tissue sampling was performed on the 3rd day from the beginning of the disease modeling. Histological changes in pancreatic tissues were studied by hematoxylin and eosin staining the preparations. Immunohistochemical staining of pancreatic tissue with anti-TGF- β 1 and anti-SCARD1 primary monoclonal antibodies was performed followed by studying the nature of their expression.

Results. A comparative assessment of the effects of MSCs, MSC MVs and PRP on the histomorphological and immunohistochemical changes in pancreatic tissue in ANP in rats, found that more pronounced regeneration and neoangiogenesis processes were observed with the intravenous delivery of MSCs and MSC MVs, regardless of the timing of administration (6 or 24 hours from the onset of the disease). The obtained data suggested the immunomodulatory and pro-regenerative effects of MSC and MSC MVs produced by potentiating the polarization from inflammatory M1 macrophages to anti-inflammatory M2, as evidenced by a pronounced immunohistochemical reaction to TGF- β 1, which is secreted predominantly by macrophages of the M2 phenotype.

Conclusion. The experimental use of MSCs and MSC MVs to treat ANP at early stages of the disease provides more pronounced processes of repair and neoangiogenesis in pathologically altered pancreatic tissue.

Keywords: microvesicles, mesenchymal stem cells, acute pancreatitis, immunohistochemistry, pancreas, intravenous, intraperitoneal

CONFLICT OF INTERESTS Authors declare no conflict of interest

FINANCING The study was carried out thanks to the financial support of the Ministry of Health of the Republic of Belarus (state registration No. 2020363)

ETHICS COMMITTEE The study was approved by the ethics committee of the Belarusian State Medical University

APPROVAL (protocol No. 8 of 02.01.2022)

For citation: Kudelich OA, Kondratenko GG, Letkovskaya TA, Stepuro OA, Potapnev MP, Nerovnya AM. The effect of mesenchymal stromal cells, their microvesicles and platelet-rich plasma on pathological changes in pancreatic tissue in acute necrotizing pancreatitis in rats. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2025;17(2):167–183. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2025-17-2-167-183>

ИГХ – иммуногистохимия
 МВ – микровезикулы
 МСК – мезенхимальные стромальные клетки
 МФ – макрофаги
 ОНП – острый некротизирующий панкреатит
 ОП – острый панкреатит
 ПЖ – поджелудочная железа
 ПОРФТ – плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов/ platelet rich plasma

ФСБ – фосфатно-солевой буфер
 ЭТС – эмбриональная телячья сыворотка
 CD/КД – differentiation cluster/кластер дифференцировки
 DAB/ДАБ – diaminobenzidine/диаминобензидин
 SCARD1 – Scavenger Receptor Class D Member 1
 TGF-β1 – transforming growth factor beta-1/трансформирующий ростовой фактор-бета1

Введение

В настоящее время клеточную терапию рассматривают как одно из средств лечения острого некротизирующего панкреатита (ОНП) [1]. Терапевтическое действие биопродуктов клеточного происхождения происходит по трем направлениям: дифференцировка и замещение клеток поврежденных тканей, продукция биологически активных молекул, а также осуществление взаимодействия с иммунными клетками [1–3].

На ранней стадии ОНП макрофаги (МФ) проникают в поджелудочную железу (ПЖ), активируются и дифференцируются в провоспалительный фенотип M1, секретируя воспалительные цитокины и медиаторы, вызывая локальное воспаление и некроз в ПЖ [4]. В зависимости от функционального фенотипа на МФ появляются макромолекулы-маркеры, которые получили название кластер дифференцировки (CD).

CD68 (кластер дифференцировки 68, макросалин, SCARD1) – лизоцим ассоциированный мембранный протеин, экспрессируется на поверхности моноцитов и МФ и является общим маркером для выявления МФ в тканях крыс и мышей [5, 6]. CD68 играет роль в фагоцитарной активности тканевых МФ как во внутриклеточном лизосомальном метаболизме, так и во внеклеточных взаимодействиях клетка-клетка и клетка-патоген. Считается, что наличие у данного маркера ферментной активности препятствует повреждению мембран лизосомальными энзимами вследствие их дегградации [5].

Трансформирующий ростовой фактор-бета1 (TGF-β1) принадлежит к семейству димерных полипептидов, который широко представлен в тканях. Источниками TGF-β1 являются преимущественно моноциты и МФ, содержащие его постоянно [7]. Секретируется данный полипептид преимущественно активированными МФ фенотипа M2, он контролирует регенеративные и неопластические процессы, развитие фиброза, а также выполняет функцию стимуляции и регуляции ангиогенеза в процессе заживления [4, 8]. Показано, что TGF-β1 участвует в восстановлении и регенерации печени крыс [9], ПЖ при

остром панкреатите (ОП) [10–12], сосудов [13], сердца [14], также играет роль в восстановлении хряща [15] и способствуют процессу заживления нервных тканей [16].

Возможность мезенхимальных стромальных клеток (МСК) и их микровезикул (МВ МСК) взаимодействовать с иммунными клетками позволяет рассматривать варианты их использования в качестве перспективного направления для лечения ОНП в эксперименте. Анализ данных научной литературы свидетельствует об активном исследовательском поиске оптимальных сроков, дозировок и путей доставки биопродуктов клеточного происхождения при различной патологии. В целом результаты исследований и мнения разных авторов по этому вопросу далеко неоднозначны и порой противоречивы, поэтому разностороннее изучение терапевтического потенциала биопродуктов клеточного происхождения при ОНП остается актуальным.

Цель. Оценить влияние мезенхимальных стромальных клеток, их микровезикул и плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, на морфологическую и иммуногистохимическую характеристику поджелудочной железы при остром некротизирующем панкреатите у крыс в зависимости от пути и времени введения, а также отдельного и сочетанного применения.

Материал и методы

На базе вивария Белорусского государственного медицинского университета были выполнены экспериментальные исследования, которые проводились в соответствии с международными правилами и принципами «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и с другой научной целью» (Страсбург, 18.03.1986), а также в соответствии с «Положением о порядке использования экспериментальных животных в научно-исследовательских работах и учебном процессе в Белорусском государственном медицинском университете». Животных выдерживали в выделенном боксе в течение одной недели для адаптации к новым условиям, перед исследованием всех животных

взвешивали, осматривали на наличие признаков болезней.

Дизайн эксперимента

Экспериментальное исследование проведено на 72 половозрелых крысах-самцах линии Wistar весом 275–380 г. Характер проведенных экспериментальных исследований представлен в табл. 1.

Таблица 1. Экспериментальные исследования на животных

Table 1. Experimental studies on animals

Характеристика групп животных (крысы)	Количество животных
Интактные животные	6
Контрольная группа животных	
К. Острый экспериментальный панкреатит без лечения	6
Опытные группы животных	
О ₁ . Острый экспериментальный панкреатит, лечение внутривенно физиологическим раствором	6
О ₂ . Острый экспериментальный панкреатит, лечение регионально ПОРФТ через 24 часа после моделирования	6
О ₃ . Острый экспериментальный панкреатит, лечение регионально МСК через 24 часа после моделирования	6
О ₄ . Острый экспериментальный панкреатит, лечение регионально МВ МСК через 24 часа после моделирования	6
О ₅ . Острый экспериментальный панкреатит, лечение внутривенно МСК через 24 часа после моделирования	6
О ₆ . Острый экспериментальный панкреатит, лечение внутривенно МВ МСК через 24 часа после моделирования	6
О ₇ . Острый экспериментальный панкреатит, лечение внутривенно МСК через 6 часов после моделирования	6
О ₈ . Острый экспериментальный панкреатит, лечение внутривенно МВ МСК через 6 часов после моделирования	6
О ₉ . Острый экспериментальный панкреатит, лечение регионально ПОРФТ во время моделирования и внутривенно МСК через 6 часов после моделирования	6
О ₁₀ . Острый экспериментальный панкреатит, лечение регионально ПОРФТ во время моделирования и внутривенно МВ МСК через 6 часов после моделирования	6

Моделирование

острого некротизирующего панкреатита

Для выполнения манипуляций животных подвергали анестезии тиопенталом натрия (произ-

водитель ОАО «Синтез», Курган, Российская Федерация) из расчета 45 мг/кг массы животного. С целью моделирования некротизирующей формы ОП стандартно всем животным выполняли лапаротомию и в хвостовую (желудочно-селезеночную) часть ПЖ инсулиновым шприцем вводили 0,3 мл 5% неионного детергента полиэтиленгликоль-октилфенолового эфира (третон X-100, производитель Carl Roth GmbH & Co. KG, Германия).

Методика получения

биопродуктов клеточного происхождения

МСК костного мозга получали из бедренной кости крыс путем перфузии питательной средой DMEM/F12 (Elabscience, Китай) с 5% эмбриональной телячьей сывороткой (ЭТС). Собранную клеточную взвесь отмывали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 20 минут. МСК рассевали в питательной среде DMEM/F12 с 10% ЭТС в культуральных флаконах T25 (Sarstedt, Германия). После формирования на дне пластиковых флаконов крупных колоний МСК под контролем инвертированного микроскопа Leica DM2500 (LEICA Microsystems, Германия) при увеличении x25 раз клетки снимали 0,25% трипсин-ЭДТА (Elabscience, Китай), отмывали центрифугированием и пересевали в новые культуральные флаконы в концентрации 3000/см². В исследовании использовали МСК 2–3 пассажей. Клеточную массу МСК наращивали до 80% конфлюентного роста в питательной среде DMEM/F12 с добавлением 10% ЭТС и раствора антибиотиков (стрептомицин/пенициллин, Sigma, США). МСК доводили до концентрации 200 тыс./мл и использовали в экспериментах *in vitro*.

Внеклеточные МВ МСК получали методом дифференциального центрифугирования с подбором различных скоростных режимов центрифугирования, времени и фильтрации раствором [17]. На первом этапе МСК высевали в культуральный флакон T75 (Sarstedt, Германия) в концентрации 3000/см² в полную питательную среду DMEM/F12 с 10% ЭТС. Клетки культивировали в CO₂-инкубаторе (Esco, Сингапур) при +37°C и 5% CO₂ до достижения конфлюентности на ростовой поверхности более 90%. На втором этапе для обогащения культуральной среды МВ культуру клеток промывали фосфатно-солевым буфером (ФСБ, Elabscience, Китай) и переводили культуру на бессывороточную среду DMEM/F12. Культивирование продолжали в течение 48 часов для создания условий легкого клеточного стресса,

не вызывающего некротической гибели клеток и способствующего выделению высокомолекулярных веществ. Третий этап представлял собой непосредственно получение фракции МВ из культуральной жидкости МСК. Полученную кондиционную среду центрифугировали в течение 20 минут при 3000 об/мин при $+4^{\circ}\text{C}$ для удаления крупных частиц, клеток и клеточного дебриса. Супернатант, содержащий МВ, собирали и осаждали путем центрифугирования в пробирках типа Эппендорф объемом 1,5 мл при 14 500 g в течение 30 минут при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ (микрцентрифуга MicroCL 21R, Thermo Scientific, США). Удаляли 2/3 супернатанта, нижнюю треть объема объединяли из двух пробирок. Взвесь МВ доводили ФСБ, предварительно профильтрованным через шприцевой мембранный фильтр 0,2 мкм до объема 1,5 мл и центрифугировали при 14 500 g в течение 30 минут при температуре $+4^{\circ}\text{C}$. Удаляли супернатант, оставляя в пробирке по 250 мкл осадка, объединяли в одну пробирку, доводили ФСБ до 1,5 мл и центрифугировали в том же режиме. Полученный осадок МВ ресуспендировали в 1 мл ФСБ (из исходного объема культуры клеток 10 мл) и использовали в экспериментах.

Получение аллогенной ПОРФТ проводили модифицированным методом R. Yamaguchi et al. [18].

Способ регионального (внутрибрюшинного) введения биопродуктов клеточного происхождения при лечении острого некротизирующего панкреатита у крыс

Животным групп O_2 , O_3 и O_4 после завершения этапа моделирования ОП через контрапертуру на передней брюшной стенке в левом нижнем квадранте в брюшную полость к ПЖ подвели катетер из прозрачного термопластичного имплантационно-нетоксичного поливинилхлорида по разработанной нами методике (патент на изобретение ВУ 24210 от 28.12.2023). Хирургические процедуры выполняли в стерильных условиях, антибиотикопрофилактику не проводили. В послеоперационном периоде всем животным проводили обезболивание внутримышечным введением кеторолака из расчета 4,8 мг/кг/сут массы животного.

Лечение острого некротизирующего панкреатита в эксперименте

Животным группы O_1 лечение начинали через 24 часа после начала моделирования ОНП, кроме обезболивания проводили внутривенное введение

0,9% раствора NaCl в объеме 2 мл 1 раз в сутки. У животных группы O_2 вышеуказанное лечение дополняли региональным (внутрибрюшинным) введением ПОРФТ в 1-е сутки после моделирования в объеме 150 мкл двукратно через 6 часов через ранее установленный дренаж (патент на изобретение ВУ 24225 от 07.02.2024). Животным группы O_3 в этот же период лечение проводили региональным введением МСК в 1-е сутки после моделирования в дозе 1×10^6 клеток/кг в 1,0 мл приготовленного раствора через ранее установленный катетер (патент на изобретение ВУ 24535 от 03.02.2025). В группе O_4 стандартную инфузионную терапию физиологическим раствором сочетали с региональным введением в 1-е сутки от начала заболевания МВ МСК в объеме 1,0 мл приготовленного раствора через ранее установленный катетер (патент на изобретение ВУ 24542 от 05.03.2025). Дозу МВ рассчитывали как эквивалентную (полученную из) 1 млн МСК. Для определения наиболее эффективного способа введения (внутривенный или внутрибрюшинный/региональный), сроков лечения ОП (6 и 24 часа от начала моделирования заболевания), изолированного или совместного применения МСК, МВ МСК и ПОРФТ животным групп O_5 и O_7 вводили внутривенно МСК в дозе 1×10^6 клеток/кг в 1,0 мл приготовленного раствора через 6 (группа O_7) и 24 (группа O_5) часа после моделирования заболевания, животным групп O_6 и O_8 вводили внутривенно МВ МСК в объеме 1,0 мл приготовленного раствора через 6 (группа O_8) и 24 (группа O_6) часа после моделирования заболевания. Животным группы O_9 после моделирования заболевания перед зашиванием лапаротомной раны к патологически измененной части ПЖ регионально вводили ПОРФТ в объеме 300 мкл, через 6 часов вышеуказанное лечение сочеталось с внутривенным введением МСК в дозе 1×10^6 клеток/кг в 1,0 мл приготовленного раствора. У животных группы O_{10} локальное введение ПОРФТ в объеме 300 мкл во время моделирования ОНП через 6 часов дополняли внутривенным введением МВ МСК в объеме 1,0 мл приготовленного раствора.

На 3-и сутки от начала моделирования ОНП животных путем эвтаназии (внутрибрюшинно тиопентал натрия в дозе 200 мг/кг) выводили из эксперимента. У всех животных в контрольные сроки производили забор органов для патоморфологических исследований.

Макроскопическая и гистологическая оценка поджелудочной железы крыс

Визуально изучали и фотографировали макроскопические изменения в ПЖ и брюшной полости на 3-и сутки после создания модели ОНП. Производили забор ткани ПЖ для патоморфологического исследования. Фиксацию материала проводили в 10% растворе нейтрального забуференного формалина (рН=7,2) в течение 24 часов. Полученные образцы обезвоживали в спиртах возрастающей концентрации (70–96%). Затем образцы помещали в жидкий парафин. Проводку осуществляли с помощью станции Leica TP 1020, с последующим изготовлением парафиновых блоков на автоматической станции заливки Leica EG 1160. Из всех парафиновых блоков были сделаны срезы толщиной 3 мкм и окрашены гематоксилином и эозином. С использованием гистологического сканера Motic EASYSCAN PRO (Motic, Китай) были выполнены полнослайдовые цифровые сканы гистологических препаратов, анализ которых и видеозахват полей зрения для иллюстративного материала осуществляли в программе Aperio ImageScope (Leica, США).

Иммуногистохимическое исследование поджелудочной железы крыс

Иммуногистохимическое (ИГХ) окрашивание аутопсийного материала ПЖ крыс с целью последующего анализа характера экспрессии биомолекулярных маркеров было выполнено с использованием первичных моноклональных антител к TGF- β 1, Scard1 (Wuhan Fine Biotech Co., Китай). В качестве визуализирующих систем использовали комплексы вторичных антител (пероксидаза-антипероксидаза) согласно спецификациям производителей, в качестве хромогена – диаминобензидин (DAB). Негативным контролем служили слайды тканей без окрашивания первичным антителом.

Для каждого ИГХ маркера отработан протокол окрашивания с подбором оптимального режима демаскировки антигена, разведения первичных антител, выбором визуализирующей системы, времени экспозиции хромогена (табл. 2).

Срезы промывали проточной водой, докрашивали гематоксилином Майера, заключали в канадский бальзам.

Для анализа экспрессии оцениваемых маркеров использовали программу AperioImageScope. Для контроля экспрессии использовали ткани, экспрессирующие соответствующие белки; для негативного контроля исключали первичное антитело.

Интерпретацию результатов ИГХ исследования молекулярных биомаркеров осуществляли исходя из локализации и интенсивности окрашивания ткани хромогеном DAB. Критерии оценки интенсивности окрашивания: негативное окрашивание (-), слабая интенсивность (+), умеренная интенсивность (++), выраженная интенсивность (+++).

Результаты

Ранее нами были проведены экспериментальные исследования, которые выявили значительные системные изменения при данной модели ОНП, выявлена также способность МСК, МВ МСК и ПОРФТ оказывать терапевтический эффект на системные показатели при данном заболевании у экспериментальных животных [19].

У животных всех групп клиническо-поведенческие проявления заболевания были однотипны. В течение первых суток у крыс отмечалась гиподинамия, несколько заторможенное поведение, снижение исследовательской реакции, они переставали употреблять пищу. При аутопсии животных, выведенных из эксперимента на 3-и сутки от начала моделирования ОП в брюшной полости, выпота не было. ПЖ была отечная, рыхло спаянная с желудком, селезенкой и петлей тонкой кишки, дольчатость ее сглажена, ткань имела серый цвет.

При изучении морфологических изменений в ПЖ животных групп К и О₁, степень выраженности некротических изменений носила вариабельный характер, но уже в этот период у животных контрольной группы отмечались начальные признаки организации с полиморфноклеточной

Таблица 2. Моноклональные антитела, использованные для проведения иммуногистохимического окрашивания поджелудочной железы крыс

Table 2. Monoclonal antibodies used for immunohistochemical staining of rat pancreas

Первичное антитело, клон	Происхождение	Демаскировочный буфер, рН	Визуализирующая система	Разведение	Время экспозиции хромогена	Позитивный контроль
TGF- β 1	Кроличы	рН=9,0	Универсальная	1:600	5 минут	Внутренний
Scard1 (CD-68)	Кроличы	рН=9,0	Универсальная	1:600	5 минут	Внутренний

инфильтрацией со значительным количеством фибробластов, лимфоцитов и эозинофилов среди оставшихся протоковых и ацинарных структур разрушенных долек в ПЖ. Гистологически на 3-и сутки в ткани ПЖ у животных с ОНП, которым лечение не проводили (группа К), степень выраженности некротических изменений варьировала от субтотального некроза до очаговых в краевых отделах долек железы, но уже отмечались начальные процессы резорбции некротического детрита на месте некротизированной ткани. Определяли также пролиферацию фибробластов, синтез коллагеновых волокон, пролиферацию железистоподобных структур с набухшим эпителием, отек и воспалительную инфильтрацию (рис. 1А). В прилежащих тканях сальника наблюдали распространенные стеатонекрозы (рис. 1В).

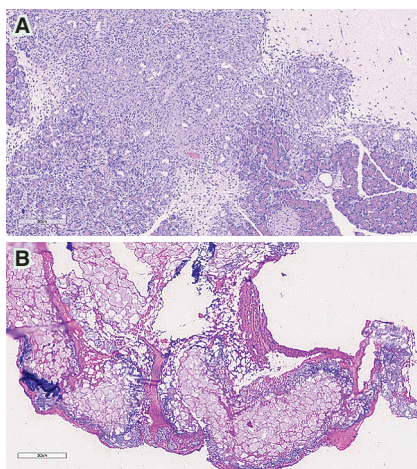


Рис. 1. Изменения в поджелудочной железе на 3-и сутки от начала моделирования острого некротизирующего панкреатита у животных группы К. Окраска гематоксилином и эозином. А – цифр. ув. $\times 4$, G 500 nm; В – цифр. ув. $\times 2$, G 1 mm

Fig. 1. Changes in the pancreas on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in animals of group K. Hematoxylin and eosin stain. A, digital zoom $\times 4$, G 500 nm; B, digital zoom $\times 2$, G 1 mm

У животных группы O_1 , которым проводили базисное лечение, в этот же период отмечалось структурное повреждение ткани ПЖ, наблюдались фокусы некроза целых долек, полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация, выраженный отек, фиброплазия и потеря зимогена (рис. 2А). Выявляли резко выраженную дискомплексацию и дистрофические изменения ациноцитов ПЖ (рис. 2В). Структурные повреждения долек ПЖ сопровождалась тромбозом сосудов и множественными микрокровоизлияниями (рис. 2С, D).

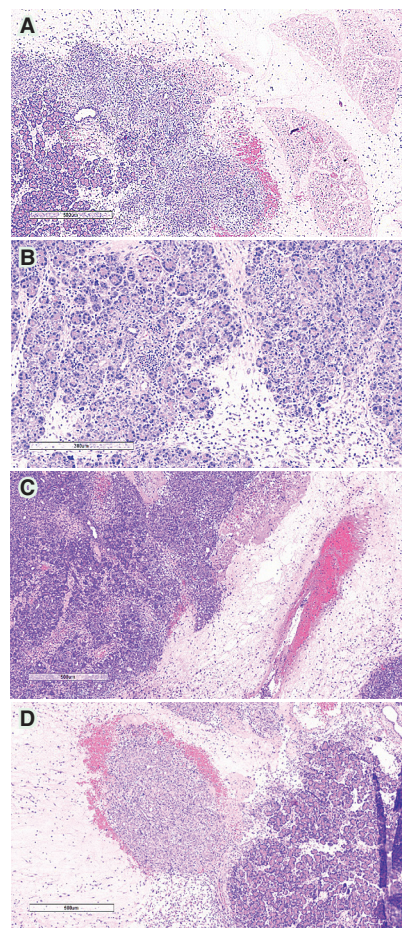


Рис. 2. Изменения в поджелудочной железе на 3-и сутки от начала моделирования острого некротизирующего панкреатита у животных группы O_1 . Окраска гематоксилином и эозином. А – цифр. ув. $\times 4$, G 500 nm; В – цифр. ув. $\times 8$, G 300 nm; С – цифр. ув. $\times 4$, G 500 nm; D – цифр. ув. $\times 4$, G 500 nm

Fig. 2. Changes in the pancreas on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in animals of group O_1 . Hematoxylin and eosin stain. A, digital zoom $\times 4$, G 500 nm; B, digital zoom $\times 8$, G 300 nm; C, digital zoom $\times 4$, G 500 nm; D, digital zoom $\times 4$, G 500 nm

При изучении регионального влияния биопродуктов клеточного происхождения на морфологические изменения в ПЖ животных групп O_2 , O_3 и O_4 установлено, что на 3-и сутки от начала моделирования заболевания наблюдались фокусы стеатонекрозов и очаги некроза в ткани ПЖ. Процессы репарации носили более выраженный характер, завершалась резорбция детрита на месте очагов некроза ПЖ, определялись признаки регенерации в виде выраженной пролиферации фибробластов с незначительным количеством коллагеновых волокон. Выраженная пролиферация фибробластов отмечалась не только со

стороны очагов альтерации, но и в междольковой строме.

В группе животных, где применяли ПОРФТ (O_2), на 3-и сутки наблюдались фокусы стеатонекрозов и мелкие очаги некроза в ткани ПЖ, отек интерстиция с полиморфноклеточной воспалительной инфильтрацией, в просвете вен встречались фибриновые тромбы (рис. 3А). Но уже в этот период отмечалась организация в поврежденных структурах ПЖ, выраженная фиброплазия, лимфо-лейкоцитарная инфильтрация в зоне некроза (рис. 3В). Наблюдали отек ткани ПЖ, значительное количество фибробластов, нежно-волоконистую строму, лимфоидную инфильтрацию с формированием лимфоидных фолликулов (рис. 3С).

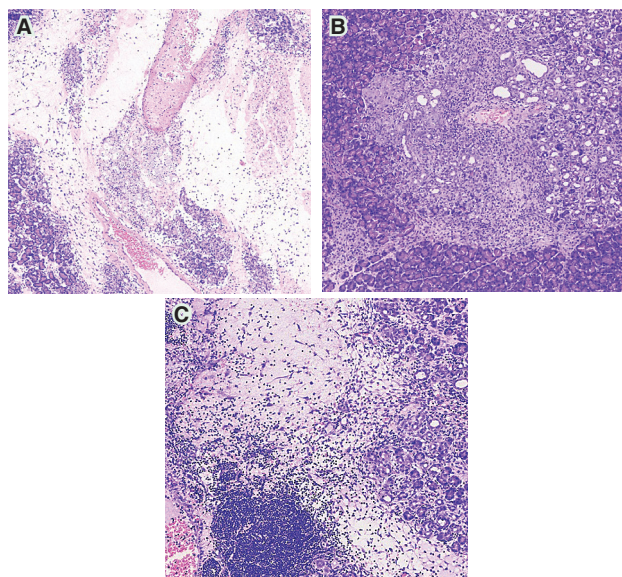


Рис. 3. Изменения в поджелудочной железе на 3-и сутки от начала моделирования острого некротизирующего панкреатита у животных группы O_2 . Окраска гематоксилином и эозином. А – цифр. ув. $\times 8$, G 300 nm; В – цифр. ув. $\times 8$, G 300 nm; С – цифр. ув. $\times 4$, G 500 nm

Fig. 3. Changes in the pancreas on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in animals of group O_2 . Hematoxylin and eosin stain. A, digital zoom $\times 8$, G 300 nm; B, digital zoom $\times 8$, G 300 nm; C, digital zoom $\times 4$, G 500 nm

У животных, у которых для лечения регионально применяли МСК (O_3) и МВ МСК (O_4), процессы репарации носили более выраженный характер, завершалась резорбция детрита, на месте очагов некроза ПЖ отмечались признаки организации с полиморфноклеточной инфильтрацией и значительным количеством фибробластов, лимфоцитов, эозинофилов среди оставшихся

протоковых и ацинарных структур разрушенных долек (рис. 4).

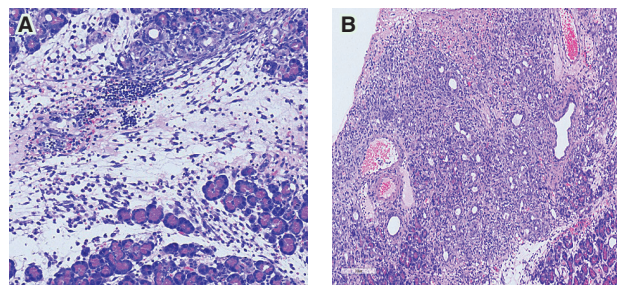


Рис. 4. Изменения в поджелудочной железе на 3-и сутки от начала моделирования острого некротизирующего панкреатита у животных групп O_3 и O_4 . Окраска гематоксилином и эозином. А – группа O_3 , цифр. ув. $\times 15$, G 300 nm; В – группа O_4 , цифр. ув. $\times 10$, G 200 nm

Fig. 4. Changes in the pancreas on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in animals of groups O_3 and O_4 . Hematoxylin and eosin stain. A, group O_3 , digital zoom $\times 15$, G 300 nm; B, group O_4 , digital zoom $\times 10$, G 200 nm

При сравнительном анализе патоморфологического исследования ПЖ при ОНП у крыс в зависимости от пути введения биопродуктов клеточного происхождения установлено, что более выраженные процессы регенерации и неогенеза наблюдались при внутривенном способе доставки МСК и МВ МСК независимо от времени введения (6 или 24 часов).

Гистологически на 3-и сутки у животных группы O_5 , где внутривенно применялись МСК через 24 часа от начала моделирования заболевания, в ткани ПЖ отмечался отек интерстиция с полиморфноклеточной воспалительной инфильтрацией, выявлялись мелкие фокусы стеатонекрозов и очаги некроза, в просвете вен встречались фибриновые тромбы (рис. 5А). Строма ПЖ нежно-волоконистая со значительным количеством фибробластов и лимфоидной инфильтрацией (рис. 5В). В зоне некроза ПЖ определялась выраженная лимфолейкоцитарная инфильтрация с фиброплазией и организацией (рис. 5С).

В этот же период у животных группы O_6 гистологически в ткани ПЖ наблюдали некрозы, стеатонекрозы, отек ее стромы, воспалительную инфильтрацию, полнокровие сосудов, краевое стояние лейкоцитов, лейкодиapedез (рис. 6А). Наряду с этими изменениями в ПЖ отмечались выраженные репаративные процессы – завершалась резорбция детрита, признаки регенерации в виде выраженной пролиферации фибробластов с умеренным количеством коллагеновых волокон (рис. 6В).

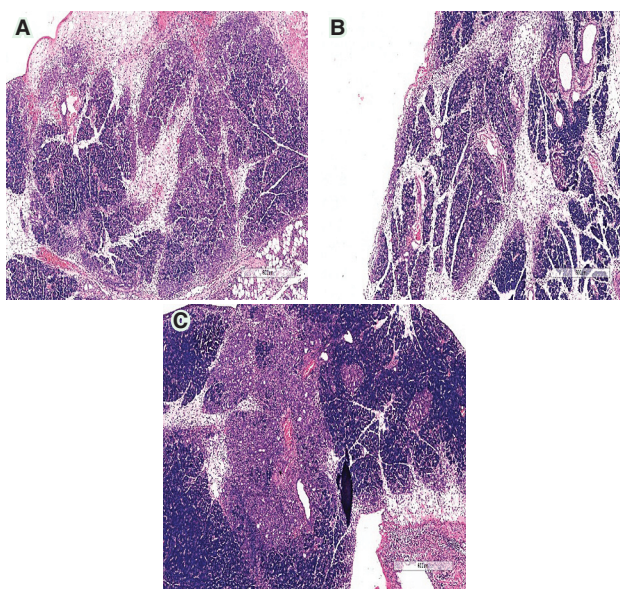


Рис. 5. Изменения в поджелудочной железе на 3-и сутки от начала острого некротизирующего панкреатита у животных группы O_5 . Окраска гематоксилином и эозином. – цифр. ув. $\times 6$, G 600 nm

Fig. 5. Changes in the pancreas on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in animals of group O_5 . Hematoxylin and eosin stain, digital zoom $\times 6$, G 600 nm

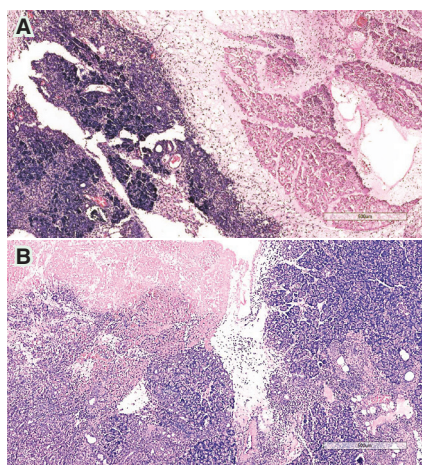


Рис. 6. Изменения в поджелудочной железе на 3-и сутки от начала острого некротизирующего панкреатита у животных группы O_6 . Окраска гематоксилином и эозином. – цифр. ув. $\times 6$, G 500 nm

Fig. 6. Changes in the pancreas on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in animals of group O_6 . Hematoxylin and eosin stain, digital zoom $\times 6$, G 500 nm

При внутривенном введении МСК через 6 часов от начала моделирования заболевания (группа O_7) в ПЖ отмечали полную резорбцию зоны некроза с признаками организации неан-

гиогенеза, полиморфноклеточную инфильтрацию и значительное количество фибробластов, лимфоцитов, эозинофилов среди оставшихся протоковых и ацинарных структур разрушенных долек (рис. 7А). Зона перифокальной реакции выражена сильнее, в перитумарозной зоне сохранялись мелкие фокусы стеатонекрозов, в зоне организации некрозов отмечается мукоидизация новообразованной стромы с фокусами фибриноидного некроза (рис. 7В).

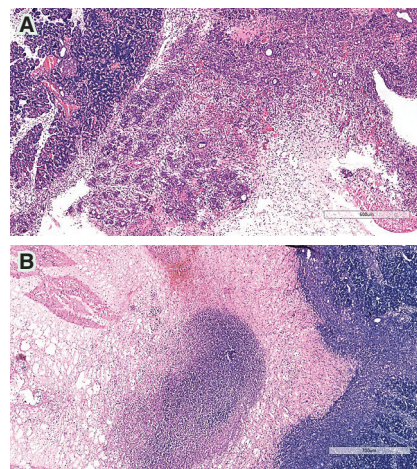


Рис. 7. Изменения в поджелудочной железе на 3-и сутки от начала острого некротизирующего панкреатита у животных группы O_7 . Окраска гематоксилином и эозином. А – цифр. ув. $\times 6$, G 600 nm, В – цифр. ув. $\times 6$, G 700 nm

Fig. 7. Changes in the pancreas on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in animals of group O_7 . Hematoxylin and eosin stain. А, digital zoom $\times 6$, G 600 nm; В, digital zoom $\times 6$, G 700 nm

В группе O_8 на поверхности серозной оболочки ПЖ наблюдали массивное наложение фибрина с признаками организации, в подлежащих отделах репаративную реакцию, в зоне повреждения единичные эозинофилы в составе инфильтрата. В субкапсулярных отделах определяли репаративную реакцию в зоне повреждения, единичные эозинофилы в составе инфильтрата, начальные признаки неангиогенеза (рис. 8А, В). В ткани ПЖ отмечали массивные некрозы, отек ее стромы, воспалительную инфильтрацию, полнокровие сосудов, в краевой зоне поврежденных долек ПЖ появление новообразованных сосудов (рис. 8С). Наряду с зонами некроза визуализировали молодую соединительную ткань с полиморфноклеточной воспалительной инфильтрацией в междольковом пространстве ПЖ (рис. 8D).

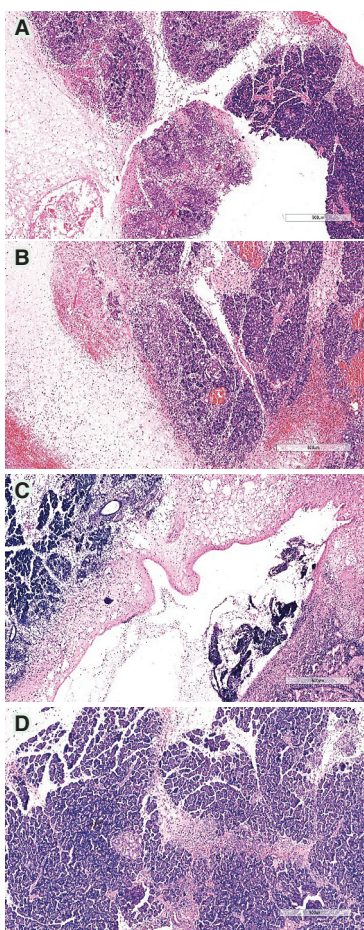


Рис. 8. Изменения в поджелудочной железе на 3-и сутки от начала острого некротизирующего панкреатита у животных группы O_9 . Окраска гематоксилином и эозином. А, В, С – цифр. ув. $\times 6$, G 600 nm; D – цифр. ув. $\times 6$, G 500 nm

Fig. 8. Changes in the pancreas on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in animals of group O_9 . Hematoxylin and eosin stain. A, B, C, digital zoom $\times 6$, G 600 nm; D, digital zoom $\times 6$, G 500 nm

При сочетанном применении ПОРФТ и МСК (группа O_9), ПОРФТ и МВ МСК (группа O_{10}) общий характер патологических изменений в ПЖ носил схожий характер, отмечались очаги некроза с резорбцией детрита, признаки регенерации в виде выраженной пролиферации фибробластов с умеренным количеством коллагеновых волокон, неоангиогенез в краевой зоне повреждения (рис. 9).

При ИГХ-исследовании TGF- $\beta 1$ установлено, что у животных в группе без лечения (К) и в группах, где биопродукты клеточного происхождения применялись регионально (O_2 , O_3 и O_4), в зонах повреждения и начала организации

отмечалась умеренная (++) экспрессия TGF- $\beta 1$ (рис. 10) по сравнению группами животных, которым лечение проводили внутривенно.

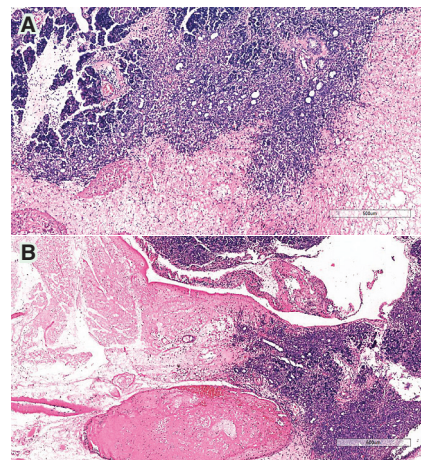


Рис. 9. Изменения в поджелудочной железе на 3-и сутки от начала острого некротизирующего панкреатита у животных групп O_9 и O_{10} . Окраска гематоксилином и эозином. А – группа O_9 , цифр. ув. $\times 6$, G 500 nm; В – группа O_{10} , цифр. ув. $\times 6$, G 600 nm

Fig. 9. Changes in the pancreas on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in animals of groups O_9 and O_{10} . Hematoxylin and eosin stain. A, group O_9 , digital zoom $\times 6$, G 500 nm; B, group O_{10} , digital zoom $\times 6$, G 600 nm

Во всех опытных группах, где лечение проводили внутривенным введением МСК и МВ МСК (O_{5-10}) независимо от времени введения от начала моделирования заболевания, в отечной строме ПЖ, в зонах организации и новообразования сосудов, а также на границе стеатонекрозов и сохраненной ткани железы наблюдали выраженную (+++) экспрессию TGF- $\beta 1$ (рис. 11).

При сравнительной ИГХ-оценке самые низкие показатели интенсивности экспрессии CD 68 (единичные клетки экспрессировали маркер, негативное окрашивание) отмечали в группах К и O_2 (рис. 12).

Умеренную экспрессию SCARD1 в зонах начала организации в ПЖ наблюдали в группах O_3 и O_4 (рис. 13).

Напротив, в группах O_{5-10} , на границе стеатонекрозов и сохраненной ткани ПЖ, в зонах начала организации и новообразования сосудов наблюдали выраженную ИГХ-реакцию SCARD1 (рис. 14).

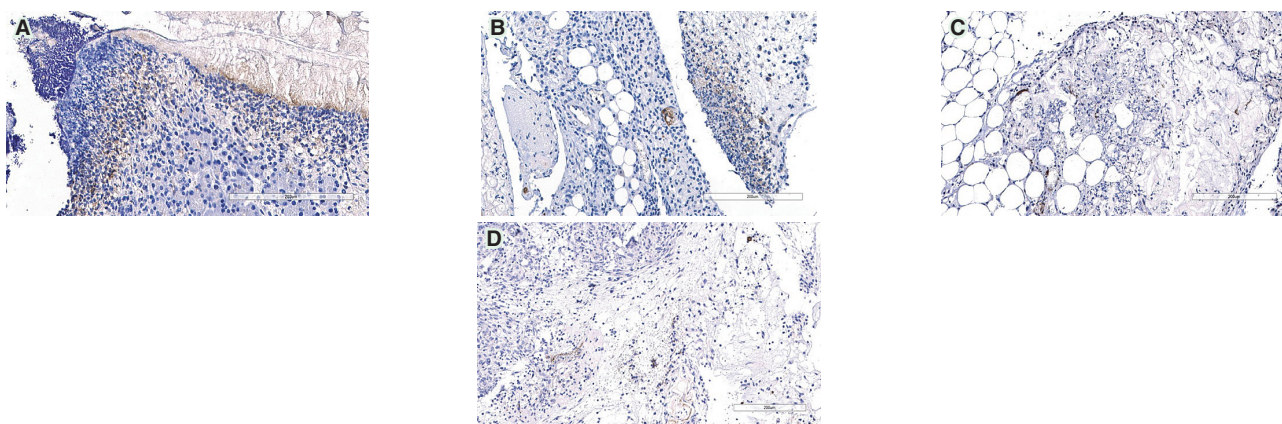


Рис. 10. Умеренная экспрессия TGF- β 1 в зоне стеатонекроза поджелудочной железы на 3-и сутки от начала острого некротизирующего панкреатита у экспериментальных животных. А – группа К, цифр. ув. $\times 15$; В – группа O_2 , цифр. ув. $\times 10$; С – группа O_3 , цифр. ув. $\times 10$; D – группа O_4 , цифр. ув. $\times 10$

Fig. 10. Moderate expression of TGF- β 1 in the area of pancreatic steatonecrosis on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in experimental animals. A, group K, digital zoom $\times 15$; B, group O_2 , digital zoom $\times 10$; C, group O_3 , digital zoom $\times 10$; D, group O_4 , digital zoom $\times 10$

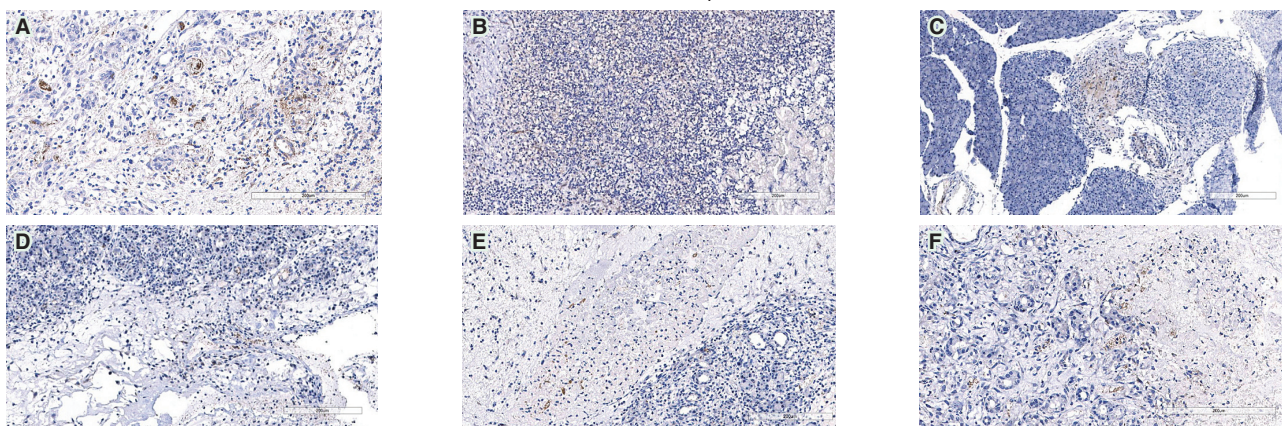


Рис. 11. Выраженная экспрессия TGF- β 1 в поджелудочной железе на 3-и сутки от начала острого некротизирующего панкреатита у экспериментальных животных. А – группа O_5 , в зоне организации и неоангиогенеза, цифр. ув. $\times 15$; В – группа O_6 , в зоне стеатонекроза, цифр. ув. $\times 10$; С – группа O_7 , в зоне стеатонекроза, цифр. ув. $\times 10$; D – группа O_8 , в зоне стеатонекроза, цифр. ув. $\times 10$; E – группа O_9 , в зоне неоангиогенеза, цифр. ув. $\times 10$; F – группа O_{10} , в зоне неоангиогенеза, цифр. ув. $\times 10$

Fig. 11. Pronounced expression of TGF- β 1 in the pancreas on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in experimental animals. A, group O_5 , in the zone of organization and neoangiogenesis, digital zoom $\times 15$; B, group O_6 , in the area of steatonecrosis, digital zoom $\times 10$; C, group O_7 , in the area of steatonecrosis, digital zoom $\times 10$; D, group O_8 , in the area of steatonecrosis, digital zoom $\times 10$; E, group O_9 , in the zone of neoangiogenesis, digital zoom $\times 10$; F, group O_{10} , in the zone of neoangiogenesis, digital zoom $\times 10$



Рис. 12. Единичная экспрессия CD68 (SCARD1) в макрофагах поджелудочной железы на 3-и сутки от начала острого некротизирующего панкреатита у экспериментальных животных. А – группа К, в краевой зоне повреждения, цифр. ув. $\times 10$; В – группа O_2 , в междольковом пространстве, цифр. ув. $\times 10$

Fig. 12. Single expression of CD68 (SCARD1) in pancreatic macrophages on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in experimental animals. A, group K, in the marginal zone of damage, digital zoom $\times 10$; B, group O_2 , in the interlobular space, digital zoom $\times 10$

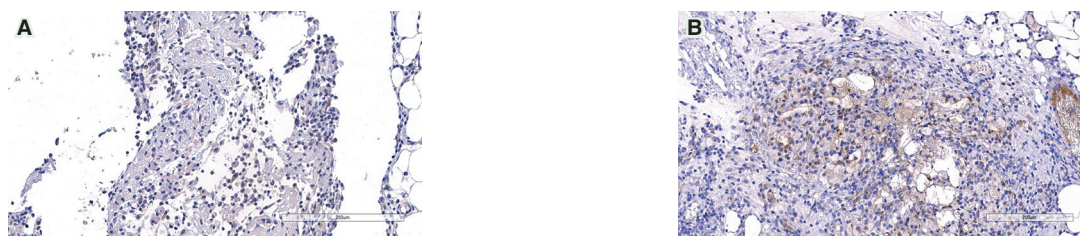


Рис. 13. Умеренная экспрессия CD68 (SCARD1) в макрофагах поджелудочной железы на 3-и сутки от начала острого некротизирующего панкреатита у экспериментальных животных. А – группа O_3 , в зоне стеатонекроза, цифр. ув. $\times 10$; В – группа O_4 , в зоне начала неоангиогенеза, цифр. ув. $\times 10$

Fig. 13. Moderate expression of CD68 (SCARD1) in pancreatic macrophages on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in experimental animals. A, group O_3 , in the area of steatonecrosis, digital zoom $\times 10$; B, group O_4 , in the zone of neoangiogenesis, digital zoom $\times 10$

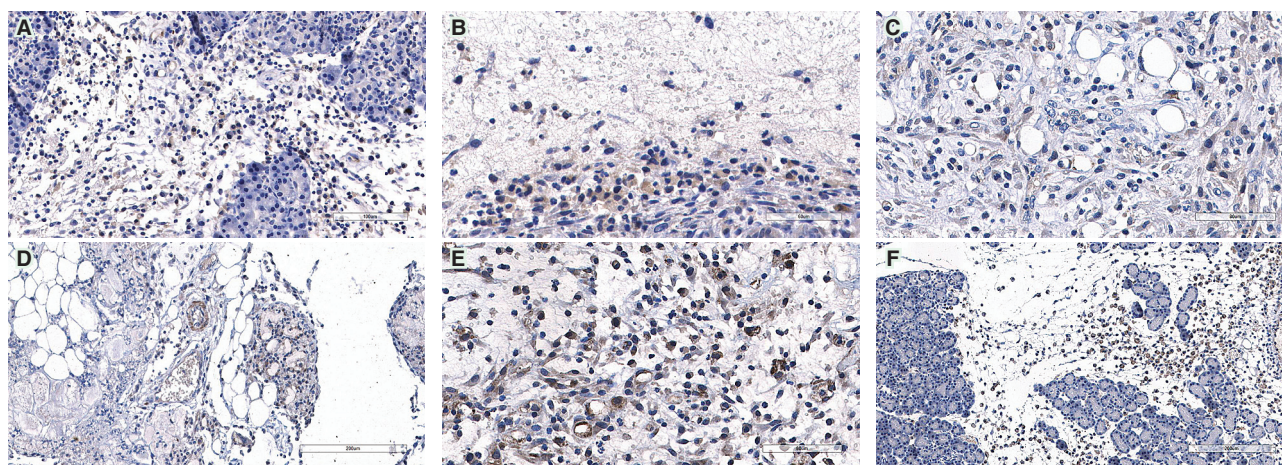


Рис. 14. Выраженная экспрессия CD68 (SCARD1) в макрофагах поджелудочной железы на 3-и сутки от начала острого некротизирующего панкреатита у экспериментальных животных. А – группа O_5 , в междольковом пространстве, цифр. ув. $\times 10$; В – группа O_6 , в краевой зоне, цифр. ув. $\times 10$; С – группа O_7 , в зоне неоангиогенеза, цифр. ув. $\times 15$; D – группа O_8 , в краевой зоне, цифр. ув. $\times 10$; E – группа O_9 , в зоне неоангиогенеза, цифр. ув. $\times 15$; F – группа O_{10} , в междольковом пространстве, цифр. ув. $\times 10$

Fig. 14. Pronounced expression of CD68 (SCARD1) in pancreatic macrophages on the 3rd day from the onset of acute necrotizing pancreatitis in experimental animals. A, group O_5 , in the interlobular space, digital zoom $\times 10$; B, group O_6 , in the marginal zone, digital zoom $\times 10$; C, group O_7 , in the zone of neoangiogenesis, digital zoom $\times 15$; D, group O_8 , in the marginal zone, digital zoom $\times 10$; E, group O_9 , in the zone of neoangiogenesis, digital zoom $\times 15$; F, group O_{10} , in the interlobular space, digital zoom $\times 10$

Обсуждение

Патофизиология ОНП включает активацию и высвобождение панкреатических энзимов в интерстициальное пространство. Показано, что в начальной фазе заболевания происходит интраацинарная активация трипсиногена с переходом его в трипсин с последующей активацией других энзимов, которые приводят к эндотелиальной дисфункции и ишемии ткани ПЖ [20]. Кроме активации панкреатических ферментов в ПЖ и их попадания в кровоток при ОНП в течение минут начинается инфильтрация ПЖ иммунными клетками, включая МФ, нейтрофилы, дендритные, тучные клетки, естественные

киллерные клетки, а также Т- и В-лимфоциты [8]. МФ играют решающую роль в патогенезе ОНП. В частности, обладая высокой пластичностью, они быстро поляризуются – дифференцируются в различные фенотипы и выполняют разнообразные функции при ОП. Различают два функциональных фенотипа МФ – классически активированные (M1) и альтернативно активированные (M2) клетки [4]. При ОНП под воздействием различных стимулов МФ мигрируют в ПЖ, а затем поляризуются до фенотипа M1, который секретирует воспалительные медиаторы ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-12 и фактор некроза опухоли (ФНО- α), инициируют и усиливают воспаление, что в конечном итоге обуславливает тяжелое течение ОП с раз-

витием недостаточности органов. Напротив, МФ М2 играют противовоспалительную, иммунорегуляторную и профиброзную роль путем секреции ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-13 и трансформирующего фактора роста- β [4, 21, 22]. Дисбаланс поляризации МФ, особенно вариант, при котором значительно увеличивается соотношение М1 к М2, является одним из механизмов, лежащих в основе развития ОНП [22]. С учетом вышесказанного, целевая МФ-терапия, путем применения биопродуктов клеточного происхождения, направленная на изменение поляризации МФ с провоспалительного фенотипа М1 на противовоспалительный М2 является привлекательной для лечения ОП.

В нашем исследовании при сравнительной гистоморфологической и иммуногистохимической оценке состояния ПЖ при региональном применении биопродуктов клеточного происхождения при ОНП у крыс установлено, что применение МСК, МВ МСК и ПОРФТ обладает высокой лечебной эффективностью на ранних стадиях заболевания по сравнению с контрольными животными, где лечение не проводили. При изучении морфологических изменений в ПЖ животных групп К, О₁, О₂, О₃ и О₄ на 3-и сутки от начала эксперимента наблюдали очаги некроза в ткани ПЖ, но уже в этот период отмечали начальные признаки организации. У животных, где для лечения регионально применяли МСК (группа О₃) и МВ МСК (группа О₄), эти процессы носили более выраженный характер, уже завершалась резорбция детрита на месте очагов некроза ПЖ, определялись признаки регенерации в виде выраженной пролиферации фибробластов с незначительным количеством коллагеновых волокон. Эти данные подтверждались умеренной (++) иммуногистохимической реакцией SCARD1 (CD68) – общего маркера МФ и TGF- β 1, который секретируется преимущественно противовоспалительными МФ М2 [4]. Самые низкие показатели интенсивности экспрессии SCARD1 отмечали в группах К, где лечение не применяли и О₂, где для лечения использовали ПОРФТ – единичные клетки экспрессировали маркер. При сравнении морфологической и иммуногистохимической характеристики ПЖ в зависимости от путей введения биопродуктов клеточного происхождения установлено, что более выраженные (экспрессия «+++» TGF- β 1 и SCARD1) процессы репарации и неоангиогенеза наблюдались при внутривенном способе доставки МСК и МВ МСК независимо от времени введения (6 или 24 часов). Полученные нами данные согласуются с результатами дру-

гих исследований. В эксперименте А.М. Roch et al. (2020) установили, что внутривенное введение МСК при ОП у мышей увеличивало долю противовоспалительных МФ фенотипа М2 в ПЖ [23]. Можно предположить, что введенные внутривенно МСК и их МВ выступают в качестве модераторов моноцитов/МФ периферической крови, мигрирующих в очаг воспаления в ПЖ. Накоплены данные, свидетельствующие о том, что МСК способствуют регенерации ткани не путем замены поврежденных клеток, а через секрецию ростовых факторов и модулирование иммунного ответа [24]. Исследования К.Н. Jung (2011) показали, что в присутствии МСК увеличивается секреция ИЛ-10 и экспрессия фактора транскрипции Foxp3, что способствует дифференцировке активированных Т-клеток в регуляторные Т-лимфоциты (Tregs), которые стимулируют дифференцировку МФ в противовоспалительный фенотип М2 [25, 26].

Таким образом, полученные нами данные указывают на иммуномодулирующий и прорегенераторный эффект МСК и МВ МСК путем потенцирования поляризации от воспалительных МФ М1 к противовоспалительному состоянию МФ М2.

Заключение

Применение в эксперименте мезенхимальных стромальных клеток и их микровезикул для лечения острого некротизирующего панкреатита на ранних стадиях заболевания обеспечивает более выраженные процессы репарации и неоангиогенеза в патологически измененной ткани поджелудочной железы.

Выводы

1. Модель острого некротизирующего панкреатита, созданная введением 0,3 мл 5% раствора неионного детергента полиэтиленгликоль-октилфенолового эфира в желудочно-селезеночную часть поджелудочной железы крысы, позволяет воспроизвести у животных некротизирующую форму заболевания. Выявленные изменения патогенетически характерны для тяжелой формы острого панкреатита, что обосновывает целесообразность применения данной экспериментальной модели для изучения влияния новых методов лечения при данном заболевании.

2. При сравнительной оценке влияния мезенхимальных стромальных клеток, их микровезикул и плазмы, обогащенной растворимыми фак-

торами тромбоцитов, на гистоморфологическую и иммуногистохимическую характеристику поджелудочной железы при остром некротизирующем панкреатите у крыс в зависимости от пути (региональный/внутривенный) и времени их введения (6 и 24 часа от начала заболевания) установлено, что более выраженные процессы репарации и неоангиогенеза наблюдались при внутривенном способе доставки мезенхимальных стромальных клеток и их микровезикул независимо от времени введения (6 или 24 часов).

3. При раздельном и сочетанном (плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов и мезенхимальные стромальные клетки; плазма, обогащенная растворимыми факторами тромбоцитов, и микровезикулы мезенхимальных

стромальных клетки) внутривенном применении биопродуктов клеточного происхождения при лечении острого некротизирующего панкреатита не выявлено разницы в выраженности репаративных процессов в ткани поджелудочной железы экспериментальных животных.

4. Полученные нами данные указывают на иммуномодулирующий и прорегенераторный эффект мезенхимальных стромальных клеток и их микровезикул путем потенцирования поляризации от воспалительных макрофагов М1 к противовоспалительным М2, о чем свидетельствует выраженная иммуногистохимическая реакция к TGF- β 1, который секретируется преимущественно макрофагами фенотипа М2.

Список литературы/References

1. Goodman RR, Jong MK, Davies JE. Concise review: the challenges and opportunities of employing mesenchymal stromal cells in the treatment of acute pancreatitis. *Biotechnol Adv.* 2020;42:107338. PMID: 30639517 <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.01.005>
2. Куделич О.А., Кондратенко Г.Г., Потапнев М.П. Клеточные технологии в лечении острого экспериментального панкреатита. *Военная медицина.* 2022;3(64):90–99. Kudelich OA, Kondratenko GG, Potapnev MP. Stem cell technologies in the treatment of acute experimental pancreatitis. *Voen-naya medicina.* 2022;3(64):90–99. (In Russ.). <https://doi.org/10.51922/2074-5044.2022.3.90>
3. Ahmed SM, Morsi M, Ghoneim NI, Abdel-Daim MM, El-Badri N. Mesenchymal stromal cell therapy for pancreatitis: a systematic review. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018:3250864. PMID: 29743979 <https://doi.org/10.1155/2018/3250864>
4. Hu F, Lou N, Jiao J, Guo F, Xiang H, Shang D. Macrophages in pancreatitis: mechanisms and therapeutic potential. *Biomed Pharmacother.* 2020;131:110693. PMID: 32882586 <https://doi.org/10.1016/j.biopharm.2020.110693>
5. Reh J, Bush D, Ward JM. The utility of immunohistochemistry for the identification of hematopoietic and lymphoid cells in normal tissues and interpretation of proliferative and inflammatory lesions of mice and rats. *Toxicol Pathol.* 2012;40(2):345–374. PMID: 22434870 <https://doi.org/10.1177/0192623311430695>
6. Saito N, Pulford KA, Breton-Gorius J, Massé JM, Mason DY, Cramer EM. Ultrastructural localization of the CD68 macrophage-associated antigen in human blood neutrophils and monocytes. *Am J Pathol.* 1991;139(5):1053–1059. PMID: 1719819
7. Deng Z, Fan T, Xiao C, Tian H, Zheng Y, Li C, et al. TGF- β signaling in health, disease, and therapeutics. *Signal Transduct Target Ther.* 2024;9(1):61. PMID: 38514615 <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01764-w>
8. Peng C, Li Z, Yu X. The role of pancreatic infiltrating innate immune cells in acute pancreatitis. *Int J Med Sci.* 2021;18(2):534–545. PMID: 33390823 <https://doi.org/10.7150/ijms.51618>
9. Nishikawa Y, Wang M, Carr BI. Changes in TGF- β receptors of rat hepatocytes during primary culture and liver regeneration: increased expression of TGF- β receptors associated with increased sensitivity to TGF- β -mediated growth inhibition. *J Cell Physiol.* 1998;176(3):612–623. PMID: 9699514 [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4652\(199809\)176:3<612::AID-JCP18>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4652(199809)176:3<612::AID-JCP18>3.0.CO;2-0)
10. Riesle E, Friess H, Zhao L, Wagner M, Uhl W, Baczako K, et al. Increased expression of transforming growth factor β after acute oedematous pancreatitis in rats suggests a role in pancreatic repair. *Gut.* 1997;40(1):73–79. PMID: 9155579 <https://doi.org/10.1136/gut.40.1.73>
11. Friess H, Lu Z, Riesle E, Uhl W, Bründler AM, Horvath L, et al. Enhanced expression of TGF- β s and their receptors in human acute pancreatitis. *Ann Surg.* 1998;227(1):95–104. PMID: 9445116

<https://doi.org/10.1097/00000658-199801000-00014>

12. Gress T, Müller-Pillasch F, Elsässer HP, Bachem M, Ferrara C, Weidenbach H, et al. Enhancement of transforming growth factor beta 1 expression in the rat pancreas during regeneration from caerulein-induced pancreatitis. *Eur J Clin Invest*. 1994;24(10):679–685. PMID: 7851468 <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.1994.tb01060.x>
13. Wan M, Li C, Zhen G, Jiao K, He W, Jia X, et al. Injury-activated transforming growth factor β controls mobilization of mesenchymal stem cells for tissue remodeling. *Stem Cells*. 2012;30(11):2498–2511. PMID: 22911900 <https://doi.org/10.1002/stem.1208>
14. Bax NA, van Oorschot AA, Maas S, Braun J, van Tuyn J, de Vries AA, et al. In vitro epithelial-to-mesenchymal transformation in human adult epicardial cells is regulated by TGF β -signaling and WT1. *Basic Res Cardiol*. 2011;106(5):829–847. PMID: 21516490 <https://doi.org/10.1007/s00395-011-0181-0>
15. Redini F, Galera P, Mauviel A, Loyau G, Pujol JP. Transforming growth factor beta stimulates collagen and glycosaminoglycan biosynthesis in cultured rabbit articular chondrocytes. *FEBS Lett*. 1988;234(1):172–176. PMID: 3164687 [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(88\)81327-9](https://doi.org/10.1016/0014-5793(88)81327-9)
16. Buss A, Pech K, Kakulas BA, Martin D, Schoenen J, Noth J, et al. TGF-beta1 and TGF-beta2 expression after traumatic human spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2008;46(5):364–371. PMID: 18040277 <https://doi.org/10.1038/sj.sc.3102148>
17. Théry C, Witwer KW, Aikawa E, Alcaraz MJ, Anderson JD, Andrian-tsitohaina R, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): a position statement of the International Society for Extracellular Vesicles and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018;7(1):1535750. PMID: 30637094 <https://doi.org/10.1080/20013078.2018.1535750>
18. Yamaguchi R, Terashima H, Yoneyama S, Tadano S, Ohkohchi N. Effects of platelet-rich plasma on intestinal anastomotic healing in rats: PRP concentration is a key factor. *J Surg Res*. 2012;173(2):258–266. PMID: 21074782 <https://doi.org/10.1016/j.jss.2010.10.001>
19. Куделич О.А., Кондратенко Г.Г., Потапнев М.П., Колесникова Т.С., Клименкова О.В., Гончарова Н.В. Сравнительная оценка влияния биопродуктов клеточного происхождения на течение острого некротизирующего панкреатита в эксперименте. *Хирургия. Восточная Европа*. 2024;13(4):585–601. Kudelich OA, Kondratenko GG, Potapnev MP, Kolesnikova T, Klimenkova OV, Goncharova NV. Comparative evaluation of cellular origin bioproducts effects on the course of acute necrotizing pancreatitis in experiment. *Surgery. Eastern Europe*. 2024;13(4):585–601. (In Russ.). <https://doi.org/10.34883/PI.2024.13.4.024>
20. Kang R, Lotze MT, Zeh HJ, Billiar TR, Tang D. Cell death and DAMPs in acute pancreatitis. *Mol Med*. 2014;20(1):466–477. PMID: 25105302 <https://doi.org/10.2119/molmed.2014.00117>
21. Федоров А.А., Ермак Н.А., Геращенко Т.С., Топольницкий Е.Б., Шефер Н.А., Родионов Е.О. и др. Поляризация макрофагов: механизмы, маркеры и факторы индукции. *Сибирский онкологический журнал*. 2022;21(4):124–136. Fedorov AA, Ermak NA, Gerashchenko TS, Topolnitskii EB, Shefer NA, Rodionov EO, et al. Polarization of macrophages: mechanisms, markers and factors of induction. *Siberian journal of oncology*. 2022;21(4):124–136. (In Russ.). <https://doi.org/10.21294/1814-4861-2022-21-4-124-136>
22. Булава Г.В. Иммунопатогенез острого панкреатита. *Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»*. 2022;11(3):484–492. Bulava GV. Immunopathogenesis of acute pancreatitis. *Russian Sklifosovsky Journal "Emergency Medical Care"*. 2022;11(3):484–492. (In Russ.). <https://doi.org/10.23934/2223-9022-2022-11-3-484-492>
23. Roch AM, Maatman TK, Cook TG, Wu HH, Merfeld-Clauss S, Traktuev DO, et al. Therapeutic use of adipose-derived stromal cells in a murine model of acute pancreatitis. *J Gastrointest Surg*. 2020;24(1):67–75. PMID: 31745900 <https://doi.org/10.1007/s11605-019-04411-w>
24. Bernardo ME, Fibbe WE. Mesenchymal stromal cells: sensors and switchers of inflammation. *Cell Stem Cell*. 2013;13(4):392–402. PMID: 24094322 <https://doi.org/10.1016/j.stem.2013.09.006>
25. Jung KH, Song SU, Yi T, Jeon MS, Hong SW, Zheng HM, et al. Human bone marrow-derived clonal mesenchymal stem cells inhibit inflammation and reduce acute pancreatitis in rats. *Gastroenterology*. 2011;140(3):998–1008. PMID: 21130088 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.11.047>
26. Goswami TK, Singh M, Dhawan M, Mitra S, Emran TB, Rabaan AA, et al. Regulatory T cells (Tregs) and their therapeutic potential against autoimmune disorders - advances and challenges. *Hum Vaccin Immunother*. 2022;18(1):2035117. PMID: 35240914 <https://doi.org/10.1080/21645515.2022.2035117>

Информация об авторах

**Олег Аркадьевич
Куделич**

канд. мед. наук, доцент кафедры хирургии и трансплантологии с курсом повышения квалификации и переподготовки УО «Белорусский государственный медицинский университет», <https://orcid.org/0000-0003-0569-3427>, kudelichsurg@gmail.com

60% – концепция и дизайн исследования, проведение эксперимента, сбор и обработка данных, оценка результатов, написание статьи, ответственность за целостность всех частей статьи

**Геннадий Георгиевич
Кондратенко**

д-р мед. наук, профессор кафедры хирургии и трансплантологии с курсом повышения квалификации и переподготовки УО «Белорусский государственный медицинский университет», <https://orcid.org/0000-0001-5295-1068>

5% – концепция и дизайн исследования, редактирование, утверждение рукописи для публикации

**Татьяна Анатольевна
Летковская**

доц., канд. мед. наук, заведующая кафедрой патологической анатомии и судебной медицины с курсом повышения квалификации и переподготовки УО «Белорусский государственный медицинский университет», <https://orcid.org/0000-0002-9381-2985>

5% – интерпретация данных патоморфологических и иммуногистохимических исследований, редактирование, утверждение рукописи для публикации

**Олег Альбертович
Степура**

старший преподаватель кафедры патологической анатомии и судебной медицины с курсом повышения квалификации и переподготовки УО «Белорусский государственный медицинский университет», <https://orcid.org/0009-0005-9252-2627>

20% – выполнение патоморфологических и иммуногистохимических исследований, интерпретация данных

**Михаил Петрович
Потапнев**

проф., д-р мед. наук, заведующий отделом клеточных биотехнологий и медицинских биотехнологий ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий» МЗ РБ, <https://orcid.org/0000-0002-6805-1782>

5% – концепция и дизайн исследования, редактирование, утверждение рукописи для публикации

**Александр Михайлович
Неровня**

канд. мед. наук, доцент кафедры патологической анатомии и судебной медицины с курсом повышения квалификации и переподготовки УО «Белорусский государственный медицинский университет», <https://orcid.org/0000-0003-2555-6649>

5% – интерпретация данных патоморфологических и иммуногистохимических исследований

Information about the authors

Oleg A. Kudelich	Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Surgery and Transplantology with advanced training and retraining courses, Belarusian State Medical University, https://orcid.org/0000-0003-0569-3427 , kudelichsurg@gmail.com 60%, concept and design of the study, experiment, data collection and processing of research materials, evaluation of results, article writing, responsibility for the integrity of all parts of the article
Gennady G. Kondratenko	Dr. Sci. (Med.), Professor of the Department of Surgery and Transplantology with advanced training and retraining courses, Belarusian State Medical University, https://orcid.org/0000-0001-5295-1068 5%, concept and design of the study, editing the manuscript, final approval of the manuscript
Tatiana A. Letkovskaya	Assoc. Prof., Cand. Sci. (Med.), Head of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine with advanced training and retraining courses, Belarusian State Medical University, https://orcid.org/0000-0002-9381-2985 5%, data analysis and interpretation, editing the manuscript, final approval of the manuscript
Oleg A. Stepuro	Senior Lecturer, Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine with advanced training and retraining courses, Belarusian State Medical University, https://orcid.org/0009-0005-9252-2627 20%, pathomorphological and immunohistochemical studies, data analysis and interpretation
Mikhail P. Potapnev	Prof., Dr. Sci. (Med.), Head Department of Cellular Biotechnologies and Medical Biotechnologies, Republican Scientific and Practical Center of Transfusiology and Medical Biotechnologies, https://orcid.org/0000-0002-6805-1782 5%, concept and design of the study, editing the manuscript, final approval of the manuscript
Alexander M. Nerovnya	Cand. Sci. (Med.), Associate Professor of the Department of Pathological Anatomy and Forensic Medicine with advanced training and retraining courses, Belarusian State Medical University, https://orcid.org/0000-0003-2555-6649 5%, data analysis and interpretation

Статья поступила в редакцию 13.12.2024;
одобрена после рецензирования 21.01.2025;
принята к публикации 24.03.2025

The article was received on December 13, 2024;
approved after reviewing on January 21, 2025;
accepted for publication on March 24, 2025