

Применение мезенхимальных стромальных клеток при остром экспериментальном панкреатите

О.А. Куделич^{✉1}, Г.Г. Кондратенко¹, М.П. Потапнев², О.В. Клименкова²

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. Актуальность проблемы острого панкреатита обусловлена увеличением заболеваемости с ростом числа распространенных форм панкреонекроза, сопровождающихся большой частотой развития тяжелых осложнений.

Цель. Определить влияние регионарного применения мезенхимальных стромальных клеток на системные изменения при остром экспериментальном панкреатите.

Материал и методы. Экспериментальные исследования были выполнены на 42 половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Острый панкреатит моделировали путем введения 0,3 мл 5% неионного детергента полиэтиленгликоль-октилфенолового эфира в хвостовую часть поджелудочной железы. Животные случайным образом были разделены на четыре группы: I группа (n=6) – интактные животные, II группа (контрольная) (n=12) – крысы с панкреатитом без лечения, III группа (n=12) – крысы с панкреатитом, получавшие лечение: обезбоживание + инфузии 0,9% раствора натрия хлорида (физраствора), IV группа (n=12) – крысы с панкреатитом, получавшие лечение: обезбоживание + инфузии физраствора + регионарное введение мезенхимальных стромальных клеток. На 3-и и 7-е сутки от начала моделирования заболевания оценивали гематологические показатели, маркеры системного проявления патологического процесса (панкреатическая амилаза, аспартатамино-трансфераза, аланинаминотрансфераза, мочевины, креатинин, глюкоза), маркеры эндогенной интоксикации (активность перекисного окисления липидов, уровень оксида азота), маркеры системного воспалительного ответа (С-реактивный белок, фактор некроза опухоли- α , интерлейкин-6).

Результаты. Применение мезенхимальных стромальных клеток на ранних этапах острого экспериментального панкреатита положительно влияет на количество тромбоцитов, уровень гликемии, способствует снижению содержания элементов эндогенной интоксикации (малоновый диальдегид, оксид азота) и системного воспалительного ответа (интерлейкин-6, фактор некроза опухоли- α , С-реактивный белок), которые являются ключевыми звеньями патогенеза и ведущими маркерами тяжести острого панкреатита.

Заключение. Сравнение различных схем терапии острого панкреатита показало, что раннее применение мезенхимальных стромальных клеток оказывает системный положительный эффект и подтверждает терапевтическую эффективность метода при лечении данного заболевания.

Ключевые слова: острый панкреатит, мезенхимальные стромальные клетки, синдром системного воспалительного ответа, некроз, поджелудочная железа

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., Потапнев М.П., Клименкова О.В. Применение мезенхимальных стромальных клеток при остром экспериментальном панкреатите. *Трансплантология*. 2024;16(1):74–87. <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2024-16-1-74-87>

Application of mesenchymal stem cells in severe acute experimental pancreatitis

O.A. Kudelich^{✉1}, G.G. Kondratenko¹, M.P. Potapnev², O.V. Klimenkova²

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.), Department of Surgery and Transplantology, Belarusian State Medical University, kudelichsurg@gmail.com

Abstract

Background. The significance of the problem of acute pancreatitis is due to an increase in the incidence with an increase in the number of common forms of pancreatic necrosis, accompanied by a high incidence of severe complications.

Aim. To determine the effect of regional application of mesenchymal stromal cells on the systemic manifestations of severe acute experimental pancreatitis.

Material and methods. This experimental study was carried out on 42 adults Wistar rats. Acute pancreatitis was induced by administering 0.3 ml of 5% solution of non-ionic polyethylene glycol octylphenol ether detergent into the caudal part of the pancreas. The animals were randomly divided into 4 groups: Group I (n=6) consisting of intact animals, Group II (control group) (n=12) of rats with untreated pancreatitis, Group III (n=12) of rats with pancreatitis treated: anesthesia + infusions of 0.9% sodium chloride solution (saline), and Group IV (n=12) of rats with pancreatitis treated: anesthesia + infusions of saline + regional application of mesenchymal stromal cells. Animals were taken out of the experiment by euthanasia on the 3rd and 7th day. The hematological parameters, markers of systemic manifestation of the pathological process (pancreatic amylase, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, urea, creatinine), markers of endogenous intoxication (lipid peroxidation activity, nitric oxide level), markers of systemic inflammatory response (C-reactive protein, tumour necrosis factor- α , interleukin-6) have been evaluated.

Results. The application of mesenchymal stromal cells in the early stages of acute pancreatitis made a favourable effect on the platelet count, the level of glycemia, helped to reduce the content of endogenous intoxication elements (malonic dialdehyde, nitric oxide) and of those of the systemic inflammatory response (interleukin-6, tumor necrosis factor- α , C-reactive protein), which are key links in the pathogenesis of severe acute pancreatitis.

Conclusion. Comparison of different treatment regimens for acute experimental pancreatitis has shown that the early use of mesenchymal stromal cells has a systemic positive effect and confirms the therapeutic efficacy of the method in the treatment of this disease.

Keywords: acute pancreatitis, mesenchymal stem cells, systemic inflammatory response syndrome, necrosis, pancreas

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 APPROVAL The study was approved by the Ethics Committee of the Belarusian State Medical University (Protocol No. 8 of 02.01.2022)

For citation: Kudelich OA, Kondratenko GG, Potapnev MP, Klimenkova OV. Application of mesenchymal stem cells in severe acute experimental pancreatitis. *Transplantologiya. The Russian Journal of Transplantation*. 2024;16(1):74–87. (In Russ.). <https://doi.org/10.23873/2074-0506-2024-16-1-74-87>

АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспаратаминотрансфераза
ИЛ – интерлейкин
КМ – костный мозг
МДА – малоновый диальдегид
МСК – мезенхимальные стромальные клетки
ОП – острый панкреатит
ОЭП – острый экспериментальный панкреатит
ПЖ – поджелудочная железа
ПОЛ – перекисное окисление липидов
ПОН – полиорганная недостаточность

ППС – полная питательная среда
ССВО – синдром системного воспалительного ответа
ФБС – фетальная бычья сыворотка
ФНО- α – фактор некроза опухоли альфа
ФСБ – фосфатно-буферный солевой раствор
ВТ LAB – Bioassay Technology laboratory
СРБ – С-реактивный белок
Hb – гемоглобин
HCT – гематокрит
NO – оксид азота

Введение

Лечение тяжелых форм острого панкреатита (ОП) остается наиболее сложной и нерешенной проблемой для хирургов и специалистов интенсивной терапии. В 15–20% наблюдений развитие ОП отличается тяжелым течением, а изменения в тканях поджелудочной железы (ПЖ) носят некротизирующий характер [1]. При этой форме ОП быстро развивается выраженная эндогенная интоксикация организма, а средствами прижизненной визуализации выявляется дезорганизация структуры и некроз ткани ПЖ. Лавинообразное освобождение молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждением (DAMPs), и провоспалительных цитокинов проявляется синдромом системного воспалительного ответа (ССВО) с последующей дисфункцией различных органов и полиорганной недостаточностью (ПОН) в ближайшие сутки от начала заболевания [2]. Таким образом, генерализация воспалительного процесса при некротизирующем ОП сопряжена с выбросом в системный кровоток различных патологических биологически активных веществ, инициирующих и поддерживающих эндогенную интоксикацию, что позволяет рассматривать их в качестве маркеров для мониторинга при изучении эффективности новых подходов и методов лечения.

Применение мезенхимальных стромальных клеток (МСК) при воспалительных процессах является новым направлением регенеративной медицины. МСК впервые были выделены и охарактеризованы А.Ж. Friedenstein et al. в 1966 году [3]. В 2006 году Международным обществом клеточной терапии были сформированы минимальные критерии для идентификации МСК, включающие адгезивность к пластику, экспрессию CD73, CD90 и CD105, отсутствие экспрессии маркеров гемопоэтических и эндотелиальных CD34, CD45, а также CD11b, CD14, CD19, CD79a, HLA-DR. Кроме того, МСК характеризуются способностью к индуцированной дифференцировке в клетки жировой, костной и хрящевой ткани *in vitro*. Клиническая эффективность клеточной терапии с использованием МСК является в настоящее время предметом активного обсуждения [4]. Клеточная терапия ОП в эксперименте впервые была описана К.Н. Jung et al. в 2011 году [5].

Использование МСК при экспериментальном ОП имеет своей целью оказать противовоспалительное действие за счет повышения устойчивости клеток к пироптозу (клеточной смерти,

связанной с воспалительным процессом) и снижению воспаления [6]. Применение МСК крысам при ОП приводит к снижению отека ПЖ и кровоизлияний, снижает уровень некроза клеток, подавляет признаки системного воспаления. При этом противовоспалительные эффекты вводимых клеток не зависят от модели индукции ОП, использованного источника МСК (костный мозг – КМ, жировая ткань, МСК человеческого происхождения), способа введения (внутривенно или внутрибрюшинно) [7]. Важным объективным показателем снижения воспалительного процесса при ОП под действием МСК может являться снижение в периферической крови уровня цитокинов воспаления (интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β), ИЛ-6, фактор некроза опухоли-альфа – ФНО- α), активности амилазы, липазы, миелопероксидазы, повышение уровня противовоспалительного цитокина ИЛ-4 и ИЛ-10 [7, 8]. Кроме того, выделяемые МСК паракринные ростовые факторы обладают антиапоптотическим действием на различные типы клеток ПЖ. Способность оказывать иммуномодулирующее, противовоспалительное, антиапоптотическое действие, дифференцироваться в клетки различных тканей делают МСК потенциально эффективным инструментом для лечения ОП [9].

Цель. Определить влияние регионарного применения мезенхимальных стромальных клеток на системные изменения при остром экспериментальном панкреатите.

Материал и методы

Экспериментальные исследования проводились на базе vivария учреждения образования Белорусский государственный медицинский университет» (УО «БГМУ»). Протокол исследований утвержден на заседании этической комиссии. Все работы 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». Перед началом эксперимента животные выдерживались в выделенном боксе в течение одной недели для адаптации к новым условиям. В течение эксперимента животные содержались в клетках индивидуально.

Перед проведением исследования всех животных взвешивали, они были тщательно осмотрены на наличие возможной патологии и признаков болезней. Животные с выявленной патологией выбраковывались.

Дизайн эксперимента

Экспериментальное исследование проводили на 42 половозрелых крысах-самцах линии Wistar весом 275–380 г. Животные содержались в соответствии с нормативами индивидуального размещения.

Животные случайным образом были разделены на четыре группы: I группа (n=6) – интактные, II группа (контрольная) (n=12) – крысы с острым экспериментальным панкреатитом (ОЭП) без лечения, III группа (n=12) – крысы с ОЭП, получавшие лечение: обезбоживание + инфузии 0,9% раствора натрия хлорида (физраствор), IV группа (n=12) – крысы с ОЭП, получавшие лечение: обезбоживание + инфузии физраствора + регионарное (локальное) введение МСК. На 3-и и 7-е сутки от начала моделирования ОЭП оценивали гематологические показатели, маркеры системного проявления патологического процесса (панкреатическая альфа-амилаза, аспартатаминотрансфераза (АСТ), аланинаминотрансфераза (АЛТ), мочевины, креатинин), маркеры эндогенной интоксикации (активность перекисного окисления липидов – ПОЛ, уровень оксида азота – NO), маркеры системного воспалительного ответа (С-реактивный белок – СРБ, ФНО- α , ИЛ-6).

До начала основного эксперимента случайным образом было изъято 6 крыс для предварительной оценки лабораторных показателей и анатомии внутренних органов. Полученные данные не отличались от нормальных физиологических показателей у представителей используемых лабораторных животных, поэтому данные этой группы животных были приняты за норму.

Моделирование

острого экспериментального панкреатита

Все манипуляции выполнялись у животных, подвергнутых анестезии тиопенталом натрия (производитель ОАО «Синтез», Курган, Российская Федерация) из расчета 45 мг/кг массы животного. Для воспроизведения ОЭП выполняли лапаротомию и в хвостовую (желудочно-селезеночную) часть ПЖ инсулиновым шприцем вводили 0,3 мл 5% неионного детергента полиэтиленгликоль-октилфенолового эфира

(тритон X-100, производитель Carl Roth GmbH & Co. KG, Германия) стандартно всем животным.

Способ регионарного (локального) введения мезенхимальных стромальных клеток

при лечении

острого экспериментального панкреатита

Животным IV группы после завершения этапа моделирования ОП через контрапертуру на передней брюшной стенке в левом нижнем квадранте в брюшную полость вводили катетер из прозрачного термопластичного имплантационно-нетоксичного поливинилхлорида по разработанной нами методике [10]. Хирургические процедуры выполнялись в стерильных условиях. В послеоперационном периоде всем животным проводили обезбоживание внутримышечным введением кеторолака из расчета 4,8 мг/кг/сут массы животного, антибиотикопрофилактику не проводили.

Лечение

острого экспериментального панкреатита

Для оценки влияния МСК на ранние патологические системные изменения при ОП лечение начинали через 24 часа от начала эксперимента. Животным III группы, кроме обезбоживания, внутривенно вводили 0,9% раствор NaCl в объеме 2 мл 1 раз в сутки, а животным IV группы вышеуказанное лечение дополнялось регионарным введением МСК в 1-е сутки после моделирования в дозе 1×10^6 клеток в 1,0 мл приготовленного раствора через ранее установленный катетер.

Из эксперимента животных выводили путем эвтаназии на 3-и и 7-е сутки от начала моделирования ОП. У всех животных в контрольные сроки производили забор крови и органов для лабораторных и патоморфологических исследований соответственно. Вначале выполняли наркотизацию внутрибрюшинной инъекцией тиопентала натрия в дозе 45 мг/кг веса животного. Осуществляли вскрытие грудной клетки и взятие крови из сердца посредством пункции для биохимических, гематологических, серологических исследований в объеме 4,5 мл. После получения крови животному дополнительно производили внутрибрюшинную инъекцию тиопентала натрия в дозе 200 мг/кг для эвтаназии.

Получение культуры мезенхимальных стромальных клеток крыс и их характеристика

Образцы МСК КМ получали от крыс породы Wistar, поддерживаемых в виварии УО «БГМУ».

Образцы КМ бедренной кости получали в асептических условиях после эктаназии крыс путем однократного внутривенного введения смертельной дозы 3% раствора тиопентала натрия. Клетки отмывали в питательной среде MEM с 1% фетальной бычьей сыворотки (ФБС). МСК КМ выделяли перфузией из бедренной кости и переносили их в питательную среду.

Выделение МСК проводили путем адгезии клеток к пластику на культуральных флаконах T25 (Sarstedt, Германия). Для этого клетки КМ культивировали в питательной среде DMEM/F12 (Elabscience, КНР), с добавлением ФБС (10%) (Gibco, США). Полученные мононуклеарные клетки КМ центрифугировали при 1500 об/мин 20 минут, удаляли надосадочную жидкость, добавляли 1–2 мл полной питательной среды (ППС) и ресуспендировали. Мононуклеары высевали в культуральные флаконы T25 в концентрации 500 тыс. кл/см² в ППС, содержащую DMEM, 10% ФБС, смеси антибиотиков (стрептомицин/пенициллин). Прикрепившиеся клетки отмывали раствором фосфатно-буферным солевым раствором, pH 7,4 (ФСБ, Gibco, США) через 2 дня, добавляли ППС. Смену среды проводили каждые 3–4 дня до достижения конfluence на ростовой поверхности 80–90%. После формирования на дне пластиковых флаконов крупных колоний первичной культуры клетки пересеивали на первый пассаж. Для этого прикрепившиеся МСК промывали ФСБ, затем к отмываемым клеткам вносили раствор 0,25% трипсина на 3–5 минут при +37°C, инактивировали фермент внесением ППС с ФБС, клеточную взвесь собирали и осаждали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 20 минут. Супернатант удаляли, клеточный осадок ресуспендировали в ППС. Проводили подсчет МСК и оценку их жизнеспособности с 0,4% трипановым синим.

На первый пассаж клетки высевали во флаконы T25 в 5 мл ППС в концентрации 3000 кл/см², всего – 75 000 кл/флакон, культивировали до достижения 80% конfluence. Далее клетки первого пассажа переводили на второй и последующий пассажи либо замораживали с 20% DMSO до востребования при -196°C в жидком азоте. Визуальный контроль клеток осуществляли в инвертированном микроскопе Leica DM2500 (Leica, Германия) при увеличении ×25 раз.

Для идентификации выделенных МСК оценивали степень экспрессии на поверхности мембран CD90 (BIO-RAD, cat. 158952) и CD45 (BD Biosciences, США), идентифицирующих молеку-

лы МСК. Регистрация и анализ данных производили с использованием проточного цитометра FACSCantoII и программного обеспечения FACSDiva 8.0 (Becton Dickinson, США).

Гематологические исследования были выполнены на ветеринарном автоматическом гематологическом анализаторе IVet-5, Norma Instruments Zrt. (Венгрия). Для калибровки анализатора были использованы контрольные материалы, произведенные изготовителем. Были исследованы следующие гематологические показатели: количество эритроцитов, гемоглобин (Hb), гематокрит (HCT), количество тромбоцитов, количество лейкоцитов.

Биохимические исследования выполнены с использованием биохимического анализатора A-25, BioSystems (Испания) и наборов реактивов для него (Diasens, Республика Беларусь и Fenox Medical Solutions, Республика Беларусь). Исследуемые биохимические показатели сыворотки крови животных: креатинин, мочевины, глюкоза, СРБ, АЛТ, АСТ, альфа-амилаза.

Иммуноферментный анализ. Концентрацию ИЛ-6 в образцах сыворотки крови определяли с использованием набора реагентов Fine Test RAT IL-6 Elisa Kit (КНР). Содержание в сыворотке крови ФНО-α определяли с использованием набора реагентов Cloud-CloneCorp (КНР). Содержание оксида азота определяли с использованием набора реагентов Bioassay Technology laboratory (BT LAB, КНР) в соответствии с инструкциями производителя.

Оценка перекисного окисления липидов. Интенсивность ПОЛ оценивали по уровню накопления вторичных продуктов ПОЛ – малонового диальдегида (МДА). Содержание МДА в гемолизатах крови проводили по методу T. Asakava и S. Matsshta [11].

Статистика

Статистическую обработку полученных результатов производили с помощью программы IBM SPSS Statistics 23 с предварительной проверкой соответствия рассматриваемых переменных нормальному распределению по критерию Колмогорова–Смирнова. Количественные признаки представлены как медиана и интерквартильный размах (Me (Q25;Q75)), Для оценки статистической значимости различий между группами использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни (Mann–Whitney U-test). Непараметрической альтернативой t-критерию для зависимых выборок являлся

критерий Вилкоксона (Wilcoxon signed-rank test). Различия считали статистически значимыми при вероятности ошибки $p < 0,05$.

Результаты

Проведенные нами ранее исследования показали, что модель ОЭП, созданная введением 0,3 мл 5% раствора тритона X-100 в ткань ПЖ, позволяет воспроизвести у животных форму заболевания с гистологической картиной некроза ткани железы и патоморфологическими изменениями в сердце, легких, печени и почках, а также с существенными изменениями системных показателей (повышением уровня провоспалительных цитокинов, СРБ, накоплением продуктов ПОЛ, NO) и развитием эндогенной интоксикации [12, 13]. Из полученных данных следует, что у животных всех групп за весь период наблюдения не отмечалось значимых изменений гематологических показателей, за исключением снижения количества тромбоцитов. Как показано на рис. 1, на 3-и сутки в крови животных II и III групп, где МСК не применяли, тромбоцитопения была выраженной – количество тромбоцитов было статистически значимо меньше, чем в крови интактных животных (Mann-Whitney U-Test, $p < 0,05$).

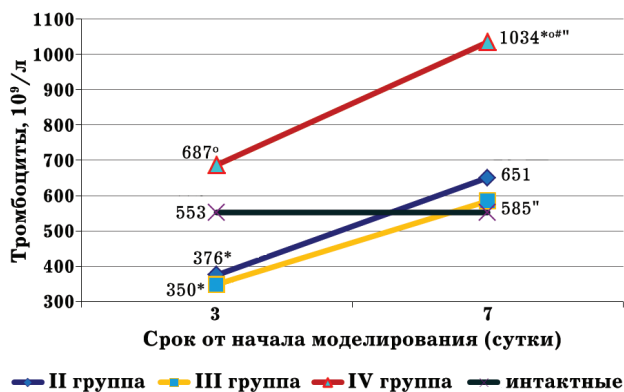


Рис. 1. Динамика уровня тромбоцитов в крови экспериментальных животных (n=12 в каждой группе; * – статистически значимо в сравнении с интактными животными; ° – статистически значимо в сравнении с 3 сутками в группах; # – статистически значимо в сравнении с 7 сутками в группах; " – статистическая значимость различий между 3 и 7 сутками в группе)

Fig. 1. Dynamics of platelet levels in the blood of experimental animals (n=12 in each group; * – significant in comparison with intact animals; ° – significant in comparison with day 3 in groups; # – significant in comparison with day 7 in groups; " – significance of differences between days 3 and 7 in the group)

У животных IV группы, где для лечения применялись МСК, уровень содержания тромбоцитов на 3-и сутки был наиболее высокий и не отличался от данного показателя у интактных животных (687,50 (510,50;779,0) и 553,0 (428,25;751,0) $\times 10^9$ /л. соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p = 0,631$). В дальнейшем на протяжении эксперимента в крови всех животных отмечалось нарастание уровня тромбоцитов, и на 7-е сутки этот показатель значимо не отличался от такового у интактных животных (Mann-Whitney U-Test, $p > 0,05$). Между тем, после применения МСК у животных IV группы на 7-е сутки уровень тромбоцитов оказался наиболее высоким (1034,5 (972,50;1227,25) $\times 10^9$ /л).

Преждевременная активация ферментов поджелудочной железы и уклонение их в системный кровоток является важным ранним звеном патогенеза ОП, что и наблюдалось у экспериментальных животных (рис. 2).

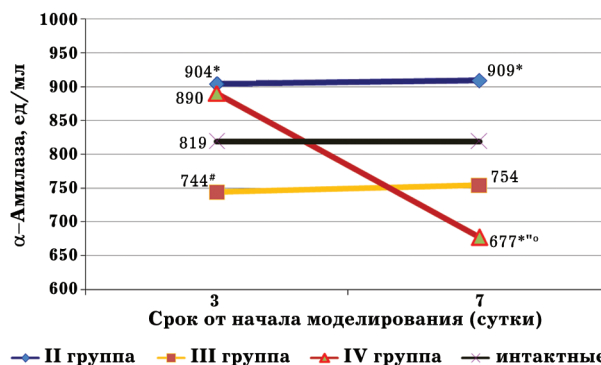


Рис. 2. Динамика уровня альфа-амилазы в крови экспериментальных животных (n=12 в каждой группе; * – статистически значимо в сравнении с интактными животными; # – статистически значимо в сравнении с 3 сутками животных II группы; ° – статистическая значимость различий между 3 и 7 сутками в группе; " – статистически значимо в сравнении с 7 сутками животных II группы)

Fig. 2. Dynamics of the level of alpha-amylase in the blood of experimental animals (n=12 in each group; * – significant in comparison with intact animals; # – significant in comparison with day 3 of animals of group II; ° – significant differences between days 3 and 7 in the group; " – significant in comparison with day 7 of animals of group II)

Из рис. 2 следует, что на 3-и сутки от начала моделирования ОП во II группе животных (без лечения) 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; Mann-Whitney U-Test, $p = 0,047$). В III группе в эти же

сроки активность α -амилазы составила 744,0 (721,50;855,0) ед/мл, а в IV группе животных, где для лечения использовались МСК, активность α -амилазы составила 890,0 (800,0;1429,25) ед/мл без статистически значимых отличий от нормальных значений (819,0 (499,75;980,0) ед/мл; Mann-Whitney U-Test, $p=0,286$). В дальнейшем, через 7 суток наблюдения, во II и III группах животных активность α -амилазы не менялась. В IV группе, напротив, отмечалось статистически значимое снижение данного показателя (критерий Wilcoxon, $p=0,028$) и к концу эксперимента активность α -амилазы значимо отличалась от такового у интактных животных (677,0 (603,75;816,25) и 819,0 (499,75;980,0) ед/мл соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,039$).

С целью изучения влияния МСК на цитолиз гепатоцитов при ОЭП проведено сравнительное исследование динамики основных внутриклеточных ферментов (АСТ и АЛТ), которые служат индикаторами повреждения печеночной ткани. При исследовании уровней АЛТ и АСТ в сыворотке крови животных всех групп было установлено, что активность этих ферментов на протяжении эксперимента изменялась разнонаправленно и статистически значимо не отличалась от данного показателя у интактных животных (Mann-Whitney U-Test, $p>0,05$).

При исследовании мочевины и креатинина значимых изменений этих показателей азото-выделительной функции почек выявлено не было.

Согласно международным рекомендациям, одним из критериев при определении тяжести течения ОП является уровень гликемии, в этой связи для оценки эффективности сравниваемых способов лечения изучена динамика этого показателя (рис. 3).

На 3-и сутки после моделирования ОП во II и III группах отмечалось повышение уровня глюкозы крови по сравнению с интактными животными, значения этого показателя оставались высокими на протяжении всего эксперимента. В IV группе животных, где для лечения применялись МСК, 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; Mann-Whitney U-Test, $p=0,016$). К 7-м суткам эксперимента в этой группе наблюдалось повышение уровня глюкозы крови (с 5,70 (5,70;5,90) до 7,59 (7,11;8,63) ммоль/л; критерий Wilcoxon, $p=0,046$), к этому сроку данный показатель практически не отличался от такового у

интактной группы животных (Mann-Whitney U-Test, $p=0,936$). Отсутствие гипергликемии на ранней стадии ОЭП в IV группе животных может косвенно свидетельствовать о цитопротекторном действии МСК в отношении клеточных структур ПЖ.

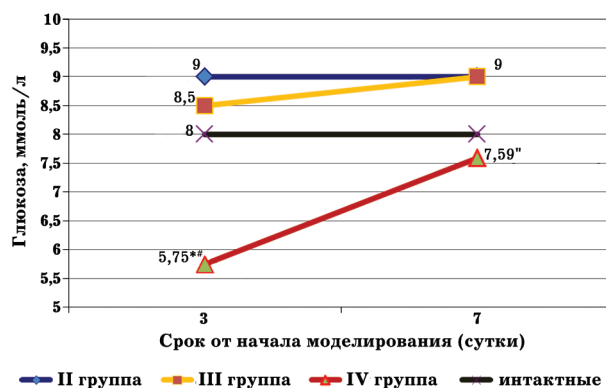


Рис. 3. Динамика уровня глюкозы в крови экспериментальных животных ($n=12$ в каждой группе; * – статистически значимо в сравнении с интактными животными; # – статистически значимо в сравнении с 3 сутками животных II и III групп; " – статистическая значимость различий между 3 и 7 сутками в группе)

Fig. 3. Dynamics of glucose levels in the blood of experimental animals ($n=12$ in each group; * – significant in comparison with intact animals; # – significant in comparison with day 3 of animals of groups II and III; " – significant differences between days 3 and 7 in the group)

С целью оценки влияния МСК на инициирование ССВО при ОЭП в динамике определяли уровни цитокинов ФНО- α , ИЛ-6 и СРБ. В IV группе животных на 3-и сутки, где базисная терапия сочеталась с введением МСК, концентрация ИЛ-6 была статистически значимо ниже по сравнению со II и III группой и в 3 раза ниже значений интактных животных (88,0 (71,65;155,95) и 258,30 (209,30;333,25) пг/мл соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,033$). В дальнейшем отмечалось повышение этого показателя без статистически значимых различий между группами. Однако только у животных III группы (стандартная терапия) концентрация ИЛ-6 к 7-м суткам эксперимента оказалась наиболее высокой и отличалась от значений интактных животных (308,50 (232,33;406,43) и 258,30 (209,30;333,25) пг/мл соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,048$).

Установлено, что во II (контрольной) группе животных, где лечение не применяли, отмечался самый значительный рост концентрации ФНО- α , на 3-и сутки этот показатель были статистически значимо выше, чем в группе интактных

животных (1,73 (1,47;1,87) и 1,45 (1,32;1,77) пг/мл соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,048$) (рис. 4). На 7-е сутки концентрация ФНО- α в этой группе снизилась, однако оставалась более высокой, чем во III группе и статистически значимо большей, чем у животных IV группы (1,50 (1,16;1,76) и 1,04 (0,90;1,10) пг/мл соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,019$).

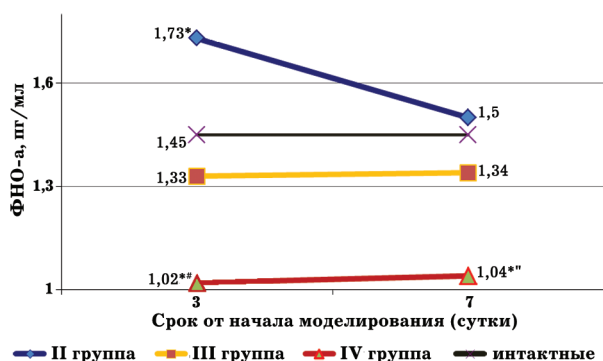


Рис. 4. Динамика концентрации фактора некроза опухоли альфа в сыворотке крови экспериментальных животных (n=12 в каждой группе; * – статистически значимо в сравнении с интактными животными; # – статистически значимо в сравнении с 3 сутками животных II группы; ** – статистически значимо в сравнении с 7 сутками животных II и III групп)

Fig. 4. Dynamics of tumor necrosis factor- α concentration in the blood serum of experimental animals (n=12 in each group; * – significant in comparison with intact animals; # – significant in comparison with day 3 of animals of group II; ** – significant in comparison with day 7 in animals of groups II and III)

У животных III группы существенного повышения концентрации ФНО- α на протяжении всего эксперимента не наблюдалось и его значения не отличались от интактных животных (Mann-Whitney U-Test, $p>0,05$). В IV группе, где применялись МСК, на 3-и сутки эксперимента концентрация ФНО- α была ниже интактных значений на 42% (1,02 (0,85;1,24) и 1,45 (1,32;1,77) пг/мл соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,011$) и в дальнейшем повышения этого показателя у этих животных не отмечалось.

Через 72 часа 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; Mann-Whitney U-Test, $p=0,004$). В дальнейшем наблюдалось снижение этого показателя (с 0,40 (0,30;0,55) до 0,30 (0,0;0,30) пг/мл, критерий Wilcoxon, $p=0,491$), однако на 7-е сутки он оставался выше, чем в группе интактных животных (Mann-Whitney U-Test, $p=0,005$) (рис. 5).

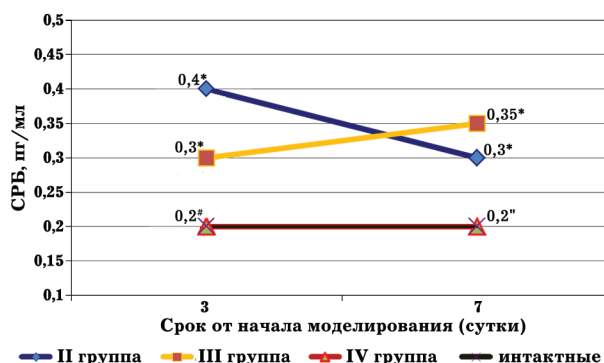


Рис. 5. Динамика уровня С-реактивного белка в сыворотке крови экспериментальных животных (n=12 в каждой группе; * – статистически значимо в сравнении с интактными животными; # – статистически значимо в сравнении с 3 сутками животных II и III групп; " – статистически значимо в сравнении с 7 сутками животных II и III групп)

Fig. 5. Dynamics of the level of C-reactive protein in the blood serum of experimental animals (n=12 in each group; * – significant in comparison with intact animals; # – significant in comparison with day 3 in animals of groups II and III; " – significant in comparison with day 7 in animals of groups II and III)

При исследовании уровня СРБ в сыворотке крови животных III группы на 3-и сутки от начала моделирования ОП, также отмечено статистически значимое повышение этого показателя по сравнению с интактными животными (0,30 (0,0;0,30) и 0,20 (0,20;0,30) пг/мл соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,005$). В дальнейшем, несмотря на проводимую базисную терапию в этой группе, наблюдался рост уровня СРБ до 0,35 (0,30;0,40) пг/мл (критерий Wilcoxon, $p=0,491$) и к 7-м суткам его значение на 75% превышало этот показатель у интактных животных (Mann-Whitney U-Test, $p=0,009$). Напротив, в IV группе животных, которым базисная терапия была дополнена введением МСК, уровень СРБ на протяжении всего эксперимента не отличался от значений интактных животных (0,20 (0,20;0,30) и 0,20 (0,20;0,30) пг/мл соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,523$) и был статистически значимо ниже значений во III и III группах (Mann-Whitney U-Test, $p<0,05$).

Как известно, с развитием ССВО тесно связаны свободно-радикальные механизмы и процессы ПОЛ, а ПЖ имеет в организме самый низкий уровень содержания антиоксидантов [14]. Интенсивность ПОЛ отражают концентрации промежуточных (диеновые конъюгаты) и конечных (МДА) продуктов окисления. Как показали наши исследования, содержание МДА в крови животных II группы на 3-и сутки после создания модели ОЭП был выше, чем у интактных

животных (21,60 (19,40;22,45) и 18,65 (16,50;19,53) мкмоль/мл соответственно; Mann–Whitney U-Test, $p=0,109$), что указывает на увеличение интенсивности свободнорадикального окисления (рис. 6). В III группе животных, несмотря на проводимое лечение, на 3-сутки отмечалось увеличение содержания в крови МДА до 19,95 (18,10;21,80) мкмоль/мл, далее на протяжении всего эксперимента показатель МДА в крови продолжал повышаться и содержание его к 7-м суткам достигло максимальных значений (21,25 (19,68;22,38) мкмоль/мл). В IV группе животных, где для лечения применяли МСК, на 3-и сутки эксперимента значения МДА были ниже, чем у животных II и III групп. В дальнейшем отмечался незначительный рост этого показателя, однако на 7-е сутки он был ниже, чем в III группе (20,95 (15,40;25,18) и 21,25 (19,68;22,38) мкмоль/мл соответственно; Mann–Whitney U-Test, $p=0,873$). Последнее свидетельствует о положительном влиянии МСК на интенсивность ПОЛ при ОЭП.

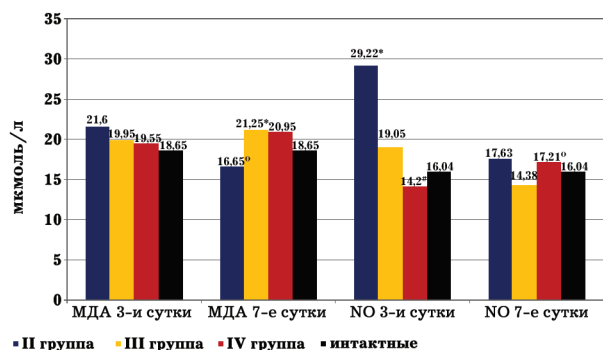


Рис. 6. Динамика уровня малонового диальдегида и оксида азота в крови экспериментальных животных ($n=12$ в каждой группе; * – статистически значимо в сравнении с интактными животными; # – статистически значимо в сравнении с 3 сутками животных II группы; ° – статистически значимо в сравнении с 3 сутками в группе)

Fig. 6. Dynamics of the level of malonic dialdehyde and nitric oxide in the blood of experimental animals ($n=12$ in each group; * – significant in comparison with intact animals; # – significant in comparison with day 3 in animals of group II; ° – significant in comparison with day 3 in the group)

В развитии ОП основное цитотоксического воздействие обусловлено активацией кислород-зависимых механизмов и синтезом NO. Согласно полученным данным, на 3-и сутки после создания 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; Mann–Whitney U-Test, $p=0,004$) (рис. 6). Применение для лечения базисной терапии на 3-и сутки не препятствовало росту концентрации NO в сыворотке крови у животных III группы до 19,05 (14,78;23,30) мкмоль/мл. Далее на протяжении всего эксперимента у животных II и III групп наблюдалось снижение уровня этого показателя и на 7-е сутки этот показатель в обеих группах статистически значимо не отличался от значений у интактных животных (Mann–Whitney U-Test, $p>0,05$). Применение МСК способствовало тому, что содержание NO в сыворотке крови животных через 72 часа от начала эксперимента было наименьшим (по сравнению с таковой у интактных животных (14,20 (11,35;16,05) и 16,04 (14,31;23,54) мкмоль/мл соответственно; Mann–Whitney U-Test, $p=0,201$). Содержание NO в сыворотке крови через 7 суток не различалось в различных группах животных. Таким образом, уменьшение интенсивности процессов ПОЛ и снижение уровня NO на ранних стадиях после регионарного применения МСК подтверждает их терапевтическую эффективность при ОЭП.

Обсуждение

Патогенез ОП на сегодняшний день окончательно не изучен. Тем не менее, прогресс в раскрытии некоторых молекулярных патогенетических механизмов очевиден, что создает предпосылки для целенаправленной разработки новых методов и средств специфического лечения ОП. По современным представлениям патофизиология ОП включает активацию и высвобождение панкреатических энзимов (амилаза, липаза) с последующим запуском каскада событий, приводящих к ССВО. Именно этот синдром ответствен за прогрессирующее повреждение паренхимы ПЖ, ее некроз, развитие ПОН [2]. В нашем исследовании выявлено, что при моделировании ОП уровень амилазы в периферической крови значительно повышался у экспериментальных животных по сравнению с интактными, а введение МСК снижало уровень этого фермента, что согласуется с данными, полученными другими авторами [7, 15–18].

В эксперименте ранее было показано, что тяжесть проявлений ОП взаимосвязана с нарушением микроциркуляции в ПЖ [19]. Агрессивные вещества, выделяющиеся из погибших секреторных клеток ПЖ, повреждают эндотелий сосудов как самой ПЖ, так и жизненно важных органов [20]. Функциональная недостаточность эндоте-

лия приводит к активации его прокоагулянтных свойств [21]. Взаимодействие тромбоцитов с эндотелием играют одну из ведущих ролей в патогенезе ОП [22]. В работах некоторых авторов было также показано, что изменения количества тромбоцитов могут свидетельствовать о тяжести течения и неблагоприятном исходе ОП. Количество тромбоцитов было значимо снижено у пациентов с тяжелым и крайне тяжелым ОП, тогда как пациенты с легкой и средней тяжестью заболевания не отличались по данной характеристике между собой и контрольной группой [23]. На 3-и сутки в крови животных, где МСК не применялись, тромбоцитопения была выраженной – количество тромбоцитов было статистически значимо меньше, чем в крови интактных животных. У животных IV группы, где для лечения были использованы МСК, уровень содержания тромбоцитов на 3-и сутки был наиболее высокий и не отличался от данного показателя у интактных животных.

Повреждение паренхимы ПЖ при тяжелом ОП может привести к некрозу ацинусов, гибели β -клеток и способствовать развитию гипергликемии [24]. Оценивая уровни гликемии на 3-и сутки эксперимента установлено, что применение МСК при ОП приводило к снижению уровня глюкозы крови по сравнению с контрольной группой, и он был статистически значимо меньше значений данного показателя у интактных животных. Полученные сведения дают основание полагать, что отсутствие гипергликемии при ОЭП может свидетельствовать о цитопротекторном действии МСК в отношении клеточных структур ПЖ.

Изучение действия медиаторов воспаления и способов их ингибирования – основное направление совершенствования комплексного лечения ОП. ССВО представляет собой сложный каскад активации провоспалительных медиаторов (простагландины, лейкотриены, цитокины (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, фактор активации тромбоцитов), фосфолипазы А2, нейтрофилов, тромбоцитов, моноцитов, молекул адгезии). По данным некоторых авторов ФНО- α является одним из основных факторов в запуске каскадных реакций, способствующих повреждению паренхимы ПЖ и развитию ПОН [25]. Существует также мнение о том, что первичным источником провоспалительных медиаторов являются сами клетки ацинусов. В ответ на гиперстимуляцию или прямое повреждение ацинарной клетки происходит синтез ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, а также активация важного провоспалительного медиатора – фак-

тора активации тромбоцитов [26]. Последний притягивает нейтрофилы, которые мигрируют в очаг поражения через стенку сосуда, а также вызывает адгезию и агрегацию тромбоцитов. После того, как активированный нейтрофил проникает в ткань, происходит «респираторный взрыв» с выбросом большого количества протеолитических ферментов, свободных радикалов кислорода и цитокинов, способных разрушать клетки и привлекать новые лейкоциты, в том числе моноциты. Моноциты превращаются в активные макрофаги, которые также вырабатывают большое количество провоспалительных медиаторов и растворимых рецепторных белков [27]. Выброс значительного количества цитокинов (ИЛ-1 β , ФНО- α) может активировать лейкоциты в системной циркуляции и микроциркуляторном русле печени, почек, легких, других органов, что снова индуцирует синтез медиаторов воспаления (цитокиновый каскад). Многочисленные исследования показали, что в группах животных с индуцированным ОП заметно повышались уровни провоспалительных цитокинов ФНО- α , ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-15, ИЛ-17 [7–9]. После введения животным МСК уровень экспрессии этих маркеров воспаления снижался, а уровень цитокинов с противовоспалительной активностью (ИЛ-4, ИЛ-10) после введения МСК повышался [7–9, 28]. Другим механизмом иммуномодуляции, опосредованной МСК, является их способность потенцировать переход от воспалительных макрофагов М1 к противовоспалительному состоянию макрофагов М2 [29]. При этом МСК подавляли функции активированных макрофагов М1 и усиливали активность М2 макрофагов, что оказывало противовоспалительный эффект. D. Qian et al. (2017) в своей работе показали значительное снижение уровня амфотерина (HMGB1) при лечении ОЭП с помощью МСК по сравнению с контролем [30]. Выделяемый МСК TSG-6 обладает противовоспалительным действием, подавляя продукцию макрофагами провоспалительных цитокинов [16]. В нашем исследовании в группе животных, где применялись МСК, на 3-и сутки эксперимента концентрация ФНО- α была ниже контрольных значений на 42% и в дальнейшем повышения данного показателя у этих животных не отмечалось. В этот же период концентрация ИЛ-6 была статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой и в 3 раза ниже значений интактных животных. При исследовании СРБ в группе животных, которым стандартная базисная терапия было дополнена введением МСК, уро-

вень этого маркера на протяжении всего эксперимента не отличался от значений с интактных животных и был статистически значимо ниже значений в контрольной группе.

Поврежденная ацинарная клетка выделяет свободные радикалы кислорода и продукты ПОЛ, которые способны активировать нейтрофилы с последующим потенцированием ССВО и микроциркуляторных расстройств. Кроме того, продукты ПОЛ сами по себе обладают выраженной токсичностью и деструктивным действием. Есть мнения, что именно процессы ПОЛ являются одной из основных причин развития деструктивных изменений, и объем этих изменений прямо пропорционален интенсивности ПОЛ [14]. Другими авторами в эксперименте продемонстрировано, что введение МСК животным с ОП приводило к снижению уровня МДА и повышению активности глутатионпероксидазы и супероксиддисмутазы, характеризующих состояние антиоксидантной системы [7–9, 28]. Одним из антиоксидантных механизмов МСК, по мнению Z. He et al. (2016), является стимуляция секреции гиалуронат-связывающего белка TSG-6 (ФНО- α индуцированный белок-6) [16]. При ОП у животных, которым вводили МСК с нокаутом гена TSG-6, уровень МДА был выше, а показатели состояния антиоксидантной системы были снижены. Это позволило предположить связь продукции TSG-6 МСК с подавлением окислительного стресса и повреждения ткани ПЖ. В результате взаимодействия NO с супероксидными анионами происходит образование пероксинитрита, который является крайне цитотоксичным продуктом. Он вызывает вазодилатацию, нарушает транспорт кислорода и приводит к ухудшению кислородного статуса организма [31]. В нашем исследовании региональное введение МСК лабораторным животным уменьшало интенсивность процессов ПОЛ и снижало уровень NO в сыворотке крови на ранней стадии ОП, что подтверждает терапевтическую эффективность данного метода лечения заболевания.

Заключение

Сравнение различных схем терапии острого экспериментального панкреатита показало, что раннее использование мезенхимальных стромальных клеток благоприятно влияет на количество тромбоцитов, уровень гликемии, способствует снижению содержания элементов эндотоксикации (малоновый диальдегид,

оксид азота) и системного воспалительного ответа (интерлейкин-6, фактор некроза опухоли-альфа, С-реактивный белок), которые являются ключевыми звеньями патогенеза и ведущими маркерами тяжести острого панкреатита.

Выводы

1. У животных IV группы, где для лечения применялись мезенхимальные стромальные клетки, уровень содержания тромбоцитов в крови на 3-и сутки эксперимента был на 83% выше, чем в группе животных с острым экспериментальным панкреатитом без лечения и не отличался от данного показателя у интактных животных (687,50 (510,50;779,0) и 553,0 (428,25;751,0) $\times 10^9$ /л соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,631$). Применение мезенхимальных стромальных клеток в эти же сроки эксперимента приводило к коррекции гипергликемии. Уровень глюкозы был статистически значимо меньше значений данного показателя у животных контрольной группы (5,75 (4,89;6,47) и 9,0 (6,50;11,50) ммоль/л соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,016$). У животных этой группы отмечалось также статистически значимое снижение амилаземии, к концу эксперимента активность α -амилазы в сыворотке крови снизилась с 890,0 (800,0;1429,25) ед/мл до 677,0 (603,75;816,25) (критерий Wilcoxon, $p=0,028$).

2. На 3-и сутки эксперимента в сыворотке крови животных, где базисная терапия сочеталась с введением мезенхимальных стромальных клеток, концентрация фактора некроза опухоли-альфа была ниже интактных значений на 42% (1,02 (0,85;1,24) и 1,45 (1,32;1,77) пг/мл соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,011$) и в дальнейшем повышения этого показателя не отмечалось, а концентрация интерлейкина-6 была статистически значимо ниже по сравнению со II и III группой и в 3 раза ниже значений интактных животных (88,0 (71,65;155,95) и 258,30 (209,30;333,25) пг/мл соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,033$). В сыворотке крови животных IV группы уровень С-реактивного белка на протяжении всего эксперимента не отличался от значений интактных животных (0,20 (0,20;0,30) и 0,20 (0,20;0,30) пг/мл соответственно; Mann-Whitney U-Test, $p=0,523$) и был статистически значимо ниже значений во II и III группах (Mann-Whitney U-Test, $p<0,05$).

3. На 3-и сутки эксперимента в сыворотке крови группы животных, где для лечения применялись мезенхимальные стромальные клетки,

значения малонового диальдегида были ниже, чем у животных других групп и не отличались от значений интактных животных (19,55 (18,40;20,7) и 18,65 (16,50;19,53) мкмоль/мл соответственно; Mann–Whitney U-Test, $p=0,109$), а содержание

НО в сыворотке крови животных через 72 часа от начала эксперимента было в 2 раза меньше значений контрольной группы (14,20 (11,35;16,05) и 29,22 (19,42;35,48) мкмоль/мл соответственно; Mann–Whitney U-Test, $p=0,019$).

Список литературы/References

1. Kiss S, Pintér J, Molontay R, Nagy M, Farkas N, Sipos Z, et al. Early prediction of acute necrotizing pancreatitis by artificial intelligence: a prospective cohort-analysis of 2387 cases. *Sci Rep*. 2022;12(1):7827. PMID: 35552440 <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11517-w>
2. 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>
3. Friedenstein AJ, Piatetzky-Shapiro II, Petrakova KV. Osteogenesis in transplants of bone marrow cells. *J Embryol Exp Morphol*. 1966;16(3):381–390. PMID: 5336210
4. Zhuang WZ, Lin YH, Su LJ, Wu MS, Jeng HY, Jeng HC, et al. Mesenchymal stem/stromal cell-based therapy: mechanism, systemic safety and biodistribution for precision clinical applications. *J Biomed Sci*. 2021;28(1):28. PMID: 33849537 <https://doi.org/10.1186/s12929-021-00725-7>
5. Jung KH, Song SU, Yi T, Jeon M, Hong S, Zheng H, et al. Human bone marrow-derived clonal mesenchymal stem cells inhibit inflammation and reduce acute pancreatitis in rats. *Gastroenterology*. 2011;140(3):998–1008.e4. PMID: 21130088 <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.11.047>
6. Patel ML, Shyam R, Atam V, Bharti H, Sachan R, Parihar A. Clinical profile, etiology, and outcome of acute pancreatitis: experience at a tertiary care center. *Ann Afr Med*. 2022;21(2):118–123. PMID: 35848642 https://doi.org/10.4103/aam.aam_83_20
7. 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. *Voennaya medicina*. 2022;3(64):90–99. (In Russ.). Available at: <https://rep.bsmu.by/handle/BSMU/35963>
8. 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>
9. Ma Z, Zhou J, Yang T, Xie W, Song G, Song Z, Chen J. Mesenchymal stromal cell therapy for pancreatitis: Progress and challenges. *Med Res Rev*. 2021;41(4):2474–2488. PMID: 33840113 <https://doi.org/10.1002/med.21801>
10. Куделич О.А., Кондратенко Г.Г., Потапнев М.П. Применение плазмы, обогащенной растворимыми факторами тромбоцитов, при тяжелом остром экспериментальном панкреатите. *Новости хирургии*. 2023;31(1):5–15. Kudelich OA, Kondratenko GG, Potapnev MP. Application of platelet-rich plasma in severe acute experimental pancreatitis. *Novosti hirurgii*. 2023;31(1):5–15. (In Russ.). Available at: https://www.surgery.by/pdf/full_text/2023_1_1_ft.pdf
11. Asakawa T, Matsushita S. Coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. 1980;15(3):137–140. <https://doi.org/10.1007/BF02540959>
12. Куделич О.А., Кондратенко Г.Г., Летковская Т.А., Потапнев М.П., Неровня А.М., Степура О.А. Патоморфологическое обоснование модели тяжелого острого панкреатита. *Хирургия. Восточная Европа*. 2022;11(4):490–502. Kudelich OA, Kondratenko GG, Letkovskaya TA, Potapnev MP, Nerovnya AM, Stepuro OA. Morphological substantiation of severe acute pancreatitis model. *Surgery. Eastern Europe*. 2022;11(4):490–502. (In Russ.). <https://doi.org/10.34883/PI.2022.11.4.014>
13. Куделич О.А., Кондратенко Г.Г., Метелица Т.Г., Колесникова Т.С., Ходосовская Е.В. Обоснование выбора модели тяжелого острого панкреатита, пригодной для изучения новых подходов к его лечению. *Хирургия. Восточная Европа*. 2023;12(1):66–79. Kudelich OA, Kondratenko GG, Miat-selitsa TG, Kolesnikova TS, Khodosovskaya EV. Justification of the choice of the model of severe acute pancreatitis suitable for studying new approaches to its treatment. *Surgery. Eastern Europe*. 2023;12(1):66–79. (In Russ.). <https://doi.org/10.34883/PI.2023.12.1.017>
14. Pădureanu V, Florescu DN, Pădureanu R, Ghenea AE, Gheonea DI, Oancea CN. Role of antioxidants and oxidative stress in the evolution of acute pancreatitis (Review). *Exp Ther Med*. 2022;23(3):197. PMID: 35126700 <https://doi.org/10.3892/etm.2022.11120>
15. Abdelhafez D, Aboelkomsan E, El Sadik A, Lasheen N, Ashur S, Elshimy A, et al. The role of mesenchymal stem cells with ascorbic acid and N-acetylcysteine on TNF- α , IL 1 β , and NF- κ β expressions in acute pancreatitis in albino rats. *J Diabetes Res*. 2021;2021:6229460. PMID: 34697592 <https://doi.org/10.1155/2021/6229460>
16. He Z, Hua J, Qian D, Gong J, Lin S, Xu C, et al. Intravenous hMSCs ameliorate acute pancreatitis in mice via secretion of tumor necrosis factor- α stimulated gene/protein 6. *Sci Rep*. 2016;6:38438. PMID: 27917949 <https://doi.org/10.1038/srep38438>
17. Jung KH, Yi T, Son MK, Song SU, Hong SS. Therapeutic effect of human clonal bone marrow-derived mesenchymal stem cells in severe acute pancreatitis. *Arch Pharm Res*. 2015;38(5):742–751. PMID: 25142942 <https://doi.org/10.1007/s12272-014-0465-7>

18. Tu XH, Song JX, Xue XJ, Guo XW, Ma YX, Chen ZY, et al. Role of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rat model of severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2012;18(18):2270–2279. PMID: 22611322 <https://doi.org/10.3748/wjg.v18.i18.2270>
19. Андреева С.Д., Мамедова С.М., Распутин П.Г. Ультраструктурные нарушения микроциркуляторного русла поджелудочной железы при экспериментальном остром деструктивном панкреатите. *Вятский медицинский вестник*. 2019;3(63):18–22. Andreeva SD, Mamedova SM, Rasputin PG. Ultrastructural disorders of microvasculature of the pancreas at experimental acute destructive pancreatitis. *Medical newsletter of Vyatka*. 2019;3(63):18–22. (In Russ.). <https://doi.org/10.24411/2220-7880-2019-10004>
20. Порядин Г.В., Власов А.П., Анашкин С.Г., Власова Т.И., Потянова И.В., Турыгина С.А. Системные факторы прогрессирования острого панкреатита. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2015;59(2):46–50. Poryadin GV, Vlasov AP, Anashkin SG, Vlasova TI, Potyanova IV, Turygina SA. Systemic factors of acute pancreatitis advance. *Pathological physiology and experimental therapy*. 2015;59(2):46–50. (In Russ.). Available at: <https://pfiet.ru/article/view/854>
21. Загородских Е.Б., Черкасов В.А., Щёктова А.П. Маркеры эндотелиальной дисфункции и их прогностическое значение при остром панкреатите тяжелого течения. *Фундаментальные исследования*. 2013;9(3):355–361. Zagorodskikh EB, Cherkasov VA, Shchekotova AP. Markers of endothelial dysfunction and their prognostic significance in severe acute pancreatitis. *Fundamental research*. 2013;9(3):355–361. (In Russ.).
22. Maeda K, Hirota M, Ichihara A, Ohmura M, Hashimoto D, Sugita H, et al. Applicability of disseminated intravascular coagulation parameters in the assessment of the severity of acute pancreatitis. *Pancreas*. 2006;32(1):87–92. PMID: 16340749 <https://doi.org/10.1097/01.mpa.0000186248.89081.44>
23. Akbal E, Demirci S, Koçak E, Köklü S, Başar O, Tuna Y. Alterations of platelet function and coagulation parameters during acute pancreatitis. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2013;24(3):243–246. PMID: 23425662 <https://doi.org/10.1097/MBC.0b013e32835aef51>
24. Tu J, Yang Y, Zhang J, Yang Q, Lu G, Li B, et al. Effect of the disease severity on the risk of developing new-onset diabetes after acute pancreatitis. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(22):e10713. PMID: 29851776 <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000010713>
25. Bishehsari F, Sharma A, Stello K, Toth C, O'Connell MR, Evans AC, et al. TNF-alpha gene (TNFA) variants increase risk for multi-organ dysfunction syndrome (MODS) in acute pancreatitis. *Pancreatology*. 2012;12(2):113–118. PMID: 22487520 <https://doi.org/10.1016/j.pan.2012.02.014>
26. Liu LR, Xia SH. Role of platelet-activating factor in the pathogenesis of acute pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2006;12(4):539–545. PMID: 16489665 <https://doi.org/10.3748/wjg.v12.i4.539>
27. Sakai Y, Masamune A, Satoh A, Nishihira J, Yamagiwa T, Shimosegawa T. Macrophage migration inhibitory factor is a critical mediator of severe acute pancreatitis. *Gastroenterology*. 2003;124(3):725–736. PMID: 12612911 <https://doi.org/10.1053/gast.2003.50099>
28. 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>
29. Vasandan AB, Jahnavi S, Shashank C, Prasad P, Kumar A, Prasanna SJ. Human Mesenchymal stem cells program macrophage plasticity by altering their metabolic status via a PGE2-dependent mechanism. *Sci Rep*. 2016;6:38308. PMID: 27910911 <https://doi.org/10.1038/srep38308>
30. Qian D, Wei G, Xu C, He Z, Hua J, Li J, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BMSCs) repair acute necrotized pancreatitis by secreting microRNA-9 to target the NF-κB1/p50 gene in rats. *Sci Rep*. 2017;7(1):581. PMID: 28373667 <https://doi.org/10.1038/s41598-017-00629-3>
31. Hegyi P, Rakonczay Z Jr. The role of nitric oxide in the physiology and pathophysiology of the exocrine pancreas. *Antioxid Redox Signal*. 2011;15(10):2723–2741. PMID: 21777142 <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4063>

Информация об авторах

**Олег Аркадьевич
Куделич**

канд. мед. наук, доцент кафедры хирургии и трансплантологии 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 УО «Белорусский государственный медицинский университет»,
<https://orcid.org/0000-0001-5295-1068>
10% – концепция и дизайн исследования, редактирование, утверждение рукописи для публикации

**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>
10% – концепция и дизайн исследования, редактирование, утверждение рукописи для публикации

**Оксана Владимировна
Клименкова**

научный сотрудник лаборатории биологии и генетики стволовых клеток ГУ «РНПЦ трансфузиологии и медицинских биотехнологий» МЗ РБ, <https://orcid.org/0009-0001-1651-4298>
20% – выделение и культивирование стволовых клеток, анализ и интерпретация данных

Information about the authors

Oleg A. Kudelich

Cand. Sci. (Med.), Associate Professor, Department of Surgery and Transplantology, 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, Belarusian State Medical University, <https://orcid.org/0000-0001-5295-1068>
10%, concept and design of the study, editing the manuscript, final approval of the manuscript

Mikhail P. Potapnev

Prof., Dr. Sci. (Med.), Head Department of Cellular Biotechnologies and Medical Biotechnologies, Republican Research & Production Center for Transfusiology & Medical Biotechnologies, <https://orcid.org/0000-0002-6805-1782>
10%, concept and design of the study, editing the manuscript, final approval of the manuscript

Oksana V. Klimenkova

Researcher, Laboratory of Biology and Genetics of Stem Cells, Republican Research & Production Center for Transfusiology & Medical Biotechnologies, <https://orcid.org/0009-0001-1651-4298>
20%, isolation and cultivation of stem cells, data analysis and interpretation

Статья поступила в редакцию 30.11.2023;
одобрена после рецензирования 20.12.2023;
принята к публикации 27.12.2023

The article was received on November 30, 2023;
approved after reviewing December 20, 2023;
accepted for publication December 27, 2023