



Куделич О.А.¹✉, Кондратенко Г.Г.¹, Летковская Т.А.¹, Потапнев М.П.², Неровня А.М.¹, Степура О.А.¹

¹ Белорусский государственный медицинский университет, Минск, Беларусь

² Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий, Минск, Беларусь

Патоморфологическое обоснование модели тяжелого острого панкреатита

Конфликт интересов: не заявлен.

Вклад авторов: Куделич О.А., Кондратенко Г.Г., Потапнев М.П. – концепция и дизайн исследования; Куделич О.А. – проведение эксперимента, обработка данных; Куделич О.А., Кондратенко Г.Г. – оценка результатов, написание статьи; Летковская Т.А., Неровня А.М., Степура О.А. – выполнение и описание патоморфологических исследований; Кондратенко Г.Г. – утверждение рукописи для публикации.

Финансирование. Работа выполнялась в соответствии с планом научных исследований по заданию «Разработать метод терапии острого тяжелого экспериментального панкреатита с применением биопродуктов клеточного происхождения» подпрограммы «Молекулярные и клеточные биотехнологии-2» государственной научно-технической программы «Биотехнологии-2» на 2021–2025 годы, присвоен № гос. регистрации в ГУ «Бел ИСА» 20220363 от 28.03.2022. Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей авторы не получали.

Одобрение комитета по этике. Протокол исследований утвержден на заседании этической комиссии УО «БГМУ» (№ 8 от 01.02.2022). 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 УО «БГМУ».

Подана: 11.11.2022

Принята: 28.11.2022

Контакты: kudelichsurg@gmail.com

Резюме

Цель. Отработать технологию воспроизведения и по патоморфологическим изменениям в органах и тканях обосновать выбор модели тяжелого острого (некротизирующего) панкреатита для последующего выявления лечебного потенциала биопродуктов клеточного происхождения.

Материалы и методы. Экспериментальное исследование проводилось на 30 половозрелых крысах-самцах линии Wistar. Животные случайным образом были разделены на 3 группы: I группа (n=6) – интактные животные, II группа (n=6) – моделирование острого панкреатита (ОП) путем введения 10%-го раствора Тритон X-100, III группа (n=18) – моделирование ОП путем введения 5%-го раствора Тритон X-100. Из эксперимента животных выводили путем эвтаназии на 1, 2, 3 и 7-е сутки от начала моделирования ОП. У всех животных в контрольные сроки производили забор крови и органов для патоморфологических исследований.

Результаты. У животных II группы наблюдалась молниеносная (фульминантная) форма заболевания, при которой на фоне субтотального некроза поджелудочной железы происходило системное нарушение микроциркуляции с развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания и признаками полиорганного поражения. Летальность составила 100%. В III группе летальных исходов не было. В течение первых суток после моделирования у крыс отмечались



гиподинамия, несколько замедленное поведение, снижение исследовательской реакции, они переставали употреблять пищу. При аутопсии животных в брюшной полости определялось небольшое количество серозно-геморрагического выпота, поджелудочная железа была пастозная, рыхло спаянная с желудком, селезенкой и петлей тонкой кишки. При гистологическом исследовании в поджелудочной железе отмечался некроз с разной степенью выраженности от субтотального до очагового в краевых отделах.

Заключение. Макроскопические изменения в брюшной полости и непосредственно в поджелудочной железе, а также гистологически подтвержденный некроз ткани железы и патологические изменения в сердце, легких, печени и почках при моделировании ОП путем введения 0,3 мл 5%-го раствора Тритона X-100 в паренхиму поджелудочной железы свидетельствуют о развитии у животных тяжелого острого (некротизирующего) панкреатита, что делает модель пригодной для изучения влияния биопродуктов клеточного происхождения на данный патологический процесс.

Ключевые слова: острый панкреатит, эксперимент, крысы, полиорганная недостаточность, некроз, поджелудочная железа

Kudelich O.¹✉, Kondratenko G.¹, Letkovskaya T.¹, Potapnev M.², Nervovnya A.², Stepuro O.¹

¹ Belarusian State Medical University, Minsk, Belarus

² Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical Biotechnology, Minsk, Belarus

Morphological Substantiation of Severe Acute Pancreatitis Model

Conflict of interest: nothing to declare.

Authors' contribution: Kudelich O., Kondratenko G., Potapnev M. – concept and design of the work; Kudelich O. – experiment, data collection and research materials processing; Kudelich O., Kondratenko G. – results evaluation, article writing; Letkovskaya T., Nervovnya A., Stepuro O. – pathomorphological studies; Kondratenko G. – final approval of the version to be published.

Funding. The work was carried out in accordance with the plan of scientific research on the assignment "To develop a method of acute severe experimental pancreatitis treatment using bioproducts of cellular origin" under the subprogram "Molecular and cellular biotechnologies-2" of the state scientific and technical program "Biotechnologies-2" for 2021–2025, No. of state registration in the State Institution "Bel ISA" 20220363 dated 03/28/2022. The authors received no financial support from manufacturing companies.

Ethics committee approval. The research protocol was approved at the ethics committee of the Belarusian State Medical University meeting (No. 8 dated 02/01/2022). All works were carried out in accordance with international rules and the principles of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (Strasbourg, 18.03.1986), as well as in accordance with the Regulations on the use of experimental animals in research and educational process in the Belarusian State Medical University.

Submitted: 11.11.2022

Accepted: 28.11.2022

Contacts: kudelichsurg@gmail.com

Abstract

Purpose. To work out the reproduction technology and, based on pathomorphological changes in organs and tissues, to substantiate the choice of a model of severe acute (necrotizing) pancreatitis for subsequent identification of therapeutic potential of cell-based bioproducts.

Materials and methods. This experimental study was carried out in 30 adults Wistar rat. Animals were randomly divided into 3 groups: group I (n=6) – intact animals, group II (n=6) – acute pancreatitis (AP) induced by the introduction of a 10% solution of Triton X-100, group III (n=18) – AP induced by the introduction of a 5% solution of Triton X-100. Animals were withdrawn from the experiment by euthanasia on the 1st, 2nd, 3rd and 7th day. Blood and organ sampling for pathomorphological studies was performed in all animals within control timeframe.

Results. In group II animals a fulminant form of the disease was observed, in which, against the background of subtotal necrosis of the pancreas, a systemic microcirculation disorder occurred with the development of disseminated intravascular coagulation syndrome and signs of multiple organ damage. Mortality was 100%. There was no lethality in group III. During the first day after induced AP, the rats showed inactivity, somewhat delayed behavior, decreased research response, they stopped eating. In the autopsy of animals, a small amount of serous hemorrhagic effusion was detected in the abdominal cavity; the pancreas was pasty, loosely soldered to the stomach, spleen and small intestine. Histological examination of the pancreas showed necrosis with varying degrees of severity from subtotal to focal in the marginal parts.

Conclusion. Macroscopic changes in the abdominal cavity and directly in the pancreas, as well as histologically confirmed necrosis of the gland tissue and pathological changes in the heart, lungs, liver and kidneys, in AP induced by introducing 0.3 ml of 5% Triton X-100 solution into the pancreatic parenchyma indicate the development of severe acute (necrotizing) pancreatitis in animals, making the model suitable for studying the effect of cell-based bioproducts on this pathological process.

Keywords: acute pancreatitis, experiment, rats, multiple organ failure, necrosis, pancreas

■ ВВЕДЕНИЕ

Широкая распространенность, неуклонный рост заболеваемости острым панкреатитом (ОП) и неудовлетворительные результаты оказания медицинской помощи пациентам с данной патологией свидетельствуют об актуальности разработки, изучения и внедрения в клиническую практику новых более эффективных средств и методов лечения [1].

Экспериментальные исследования являются неотъемлемой частью развития медицины, они используются для изучения звеньев патогенеза и доклинической разработки новых способов лечения. Преимуществом экспериментального изучения является возможность стандартизировать развитие патологического процесса. Кроме того, чтобы выполнить инвазивные исследования или произвести забор тканей для морфологических исследований, эксперимент может быть остановлен на любом этапе, что практически невозможно в клинике [2]. Модель экспериментального ОП должна соответствовать представлениям о его этиопатогенезе, иметь хорошую воспроизводимость и предсказуемость развития местных и системных патологических изменений, а также предоставлять возможность достоверной оценки лечебного эффекта от применения новых средств. В современных условиях для воспроизведения модели ОП чаще всего используют крыс [4], строение пищеварительной системы



и характер питания которых довольно схожи с таковыми человека, при этом эксперимент не требует больших материальных затрат.

Все известные экспериментальные модели ОП можно объединить в несколько групп: каналикулярно-гипертензивные, травматические, ишемические, сосудисто-аллергические, токсико-инфекционные и комбинированные [3, 4]. Однако лишь отдельные отвечают обозначенным выше требованиям, большинство из них технически сложно выполнимы, весьма травматичны для животного и трудно предсказуемы в развитии патологического процесса. При ряде способов моделирования у животных развивается отечная форма панкреатита, которая как у людей, так и у крыс в большинстве случаев излечивается полностью без каких-либо серьезных лечебных мероприятий [2]. При лигировании желчного протока и протоков поджелудочной железы (ПЖ) развивается тяжелая форма острого панкреатита, но на его клинические проявления наслаивается механическая желтуха, что снижает чистоту эксперимента. Травматические модели, основанные на раздавливании ткани ПЖ, не вполне соответствуют наиболее частому патогенетическому механизму ОП, а сосудистые модели, вызывающие ишемический панкреатит, этиологически очень редки.

■ ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Отработать технологию воспроизведения и по патоморфологическим изменениям в органах и тканях обосновать выбор модели тяжелого острого (некротизирующего) панкреатита для последующего выявления лечебного потенциала биопродуктов клеточного происхождения.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперимент проводился в клинике экспериментальной медицины научно-исследовательской части при Белорусском государственном медицинском университете (БГМУ). Протокол исследований утвержден на заседании этической комиссии УО «БГМУ» (№ 8 от 01.02.2022). 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 УО «БГМУ» [5].

Дизайн эксперимента

Экспериментальное исследование проводилось на 30 половозрелых крысах-самцах линии Wistar весом 275–380 г. Животные содержались в соответствии с нормативами индивидуального размещения [6–9]. Световой режим соответствовал естественному уровню освещенности в течение суток на географической широте г. Минска (53°54'N). Температура воздуха поддерживалась в пределах 20–22 °C, относительная влажность – 45–50%.

Перед началом проведения эксперимента животные выдерживались в выделенном боксе в течение одной недели для адаптации к новым условиям. С целью минимизации дополнительного контакта с различными антигенами во время эксперимента крысы содержались в закрытом режиме в вентилируемых шкафах (производство

«Ламсистемс», Республика Беларусь). Выходящий воздух фильтровался через систему фильтров шкафа, входящий – подвергался антибактериальной обработке с использованием рециркуляторов бактерицидных LedNik Clean Air UV 4 (производство ООО «Ледник Лайт», Российская Федерация). Таким образом, достигался 8 ИСО класс чистоты фильтруемого воздуха согласно ГОСТ ИСО 14644-1-2017. Для содержания животных в шкафах использовались пластиковые клетки (производство Shanghai pretty industries, КНР). Габариты клеток (Ш×Г×В, см) 26×37×20, в течение эксперимента животные содержались в клетках индивидуально. Температура и влажность воздуха в шкафах регистрировались ежедневно с использованием комбинированного прибора Testo 608-H1 (гигрометр-термометр), который относится к средствам измерения и проходит ежегодную поверку в БелГим.

Перед проведением исследования все животные взвешивались, тщательно осматривались на наличие видимой патологии и признаков болезней. Животные с выявленной патологией выбраковывались. До начала основного эксперимента случайным образом было изъято 6 крыс (группа I, интактные животные) для макроскопической оценки состояния внутренних органов и их гистологических характеристик. Полученные данные не отличались от нормальных физиологических показателей у представителей используемых лабораторных животных, и данные этой группы животных приняты за норму.

Патогенетически приближенный к клинической практике способ моделирования ОП у различных животных описан Э.С. Гульянц с соавторами [10], при котором для создания модели различных форм ОП в ткань ПЖ крыс вводят разные концентрации раствора Тритона X-100 (1–5%) в диапазоне доз от 0,2 до 0,4 мл. Тритон X-100 (Triton X-100) – неионный детергент октилфенилполиэтиленгликольный эфир, используется для растворения мембран путем удаления мембранных фосфолипидов. Имея большое сродство к липидам, молекулы Тритона X-100 встраиваются в мембрану на место молекул липидов, образуя комплексы с белками. Большое количество гидроксильных ОН-групп, принесенных Тритоном X-100, окружают белки и делают их растворимыми, сохраняя глобулярную структуру. Данная модель была выбрана не случайно, поскольку при ОП у человека одним из ключевых моментов патогенеза является нарушение стабильности мембран клеток ПЖ [11]. Кроме того, моделирование острого панкреатита у животных таким способом сопровождается развитием всех фаз острого панкреатита, наблюдающихся у людей [12].

Животные случайным образом были разделены на 3 группы: I группа (n=6) – интактные животные, II группа (n=6) – моделирование ОП путем введения 10%-го раствора Тритон X-100, III группа (n=18) – моделирование ОП путем введения 5%-го раствора Тритон X-100. Все манипуляции выполнялись у животных после общей анестезии тиопенталом натрия (производитель ОАО «Синтез», г. Курган, Российская Федерация) из расчета 45 мг/кг массы животного. Для воспроизведения острого панкреатита выполняли лапаротомию, извлекали желудочно-селезеночную часть поджелудочной железы и инсулиновым шприцем в ее ткань вводили 0,3 мл неионного детергента Тритон X-100 (производитель Carl Roth GmbH & Co. KG, Германия) стандартно всем опытным животным. После завершения манипуляции поджелудочную железу аккуратно погружали в брюшную полость, переднюю брюшную стенку ушивали наглухо однорядными узловыми швами. Хирургические процедуры выполнялись в стерильных условиях. Все операции были выполнены одним автором,



продолжительность каждой операции составила около 15 минут. В послеоперационном периоде всем животным проводили обезболивание внутримышечным введением кеторолака из расчета 4,8 мг/кг/сут массы животного, антибиотикопрофилактика не проводилась.

Из эксперимента животных выводили путем эвтаназии на 1, 2, 3 и 7-е сутки от начала моделирования ОП. У всех животных в контрольные сроки производили забор крови и органов для патоморфологических исследований. После наркотизации животного внутрибрюшинной инъекцией тиопентала натрия в дозе 45 мг/кг веса осуществлялось вскрытие грудной клетки и взятие крови посредством пункции в объеме 4,5–5 мл из сердца для биохимических, гематологических, серологических исследований. Для эвтаназии животному дополнительно производили внутрибрюшинную инъекцию тиопентала натрия в дозе 200 мг/кг, после чего брюшную полость вскрывали разрезом, удаленным от первоначальной лапаротомии, чтобы предотвратить нарушение любых потенциальных спаек, и проводили визуальную оценку, а также осуществляли забор тканей для гистологических и иммунохимических исследований.

Макроскопическая и гистологическая оценка

Визуально изучались и фотографировались макроскопические изменения в поджелудочной железе и брюшной полости на 1, 2, 3 и 7-е сутки после создания модели острого панкреатита. Производился забор ткани поджелудочной железы, печени, почек, сердца, легких и тонкой кишки для патоморфологического исследования. Фиксация материала проводилась в 10%-ном растворе нейтрального забуференного формалина (pH=7,2) в течение 24 часов. Полученные образцы обезжизняли в спиртах возрастающей концентрации (70–96%). Затем образцы помещали в жидкий парафин. Проводка осуществлялась 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 EASYSKAN PRO (Motic) были выполнены полнослайдовые цифровые сканы гистологических препаратов, анализ которых и видеозахват полей зрения для иллюстративного материала осуществлялся в программе Aperio ImageScope (Leica).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

У животных II группы в течение всего эксперимента отмечались адинамия, глубокое угнетение, вынужденное положение на боку, животные не употребляли пищу. Летальность в этой группе составила 100%. Три крысы погибли через 6 часов от начала моделирования ОП, одна – через 24 часа, две – на 2-е сутки эксперимента. Забор крови не выполнялся.

При аутопсии этой группы животных, вне зависимости от сроков гибели, в брюшной полости определялся геморрагический выпот, поджелудочная железа была черного или серо-черного цвета с участками размягчения, резко отечная. При гистологическом исследовании наблюдался субтотальный некроз ткани поджелудочной железы с очагами геморрагического пропитывания, без начальных признаков периферического воспаления (рис. 1B).

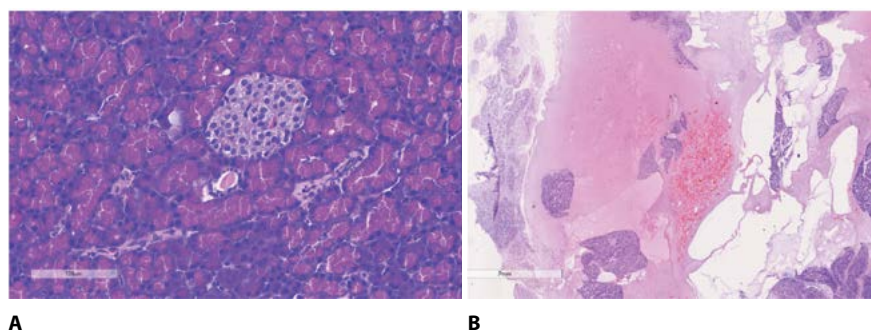


Рис. 1. Микрофотография поджелудочной железы крысы. Окраска гематоксилином и эозином. А – строение поджелудочной железы крысы в норме, ув. $\times 200$; В – изменения в поджелудочной железе у животных II группы. ув. $\times 50$

Fig. 1. Microphotography of a rat pancreas. Hematoxylin and eosin stain. A – the structure of the rat pancreas in normal $\times 200$; B – changes in the pancreas in animals of group II $\times 50$

В сердце при гистологическом исследовании выявлялись субэпикардальные кровоизлияния с геморрагическим пропитыванием прилежащих кардиомиоцитов, острая дистрофия миокарда, фрагментация кардиомиоцитов, контрактурные нарушения, неравномерность окрашивания эозином, интерстициальный отек (рис. 2А).

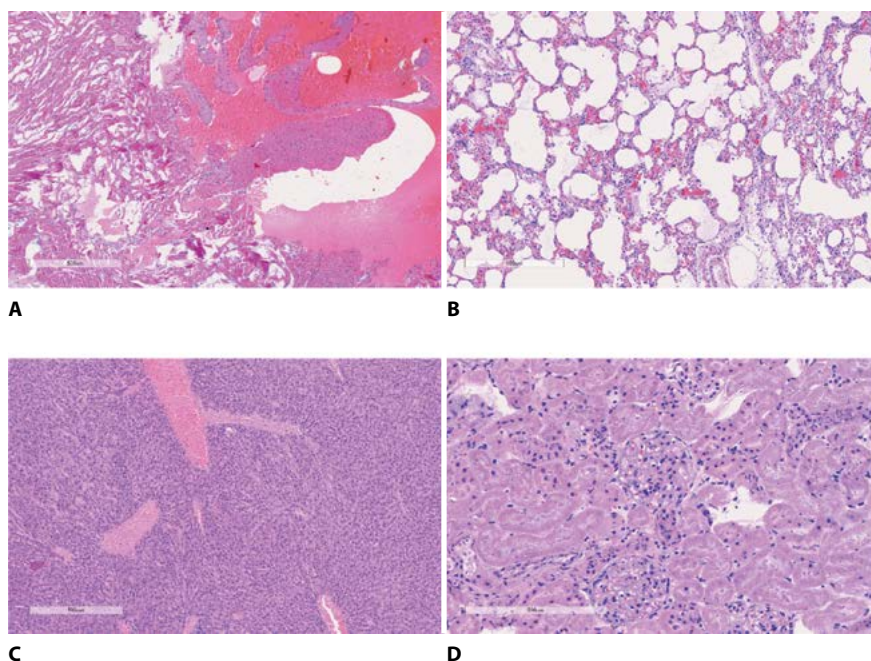


Рис. 2. Изменения в органах-мишенях у животных II группы. Окраска гематоксилином и эозином. А – сердце, ув. $\times 50$; В – печень, ув. $\times 200$; С – почки, ув. $\times 200$; Д – легкие; ув. $\times 200$

Fig. 2. Changes in target organs in animals of group II. Hematoxylin and eosin stain. A – heart $\times 50$; B – liver $\times 200$; C – kidneys $\times 200$; D – lungs $\times 200$

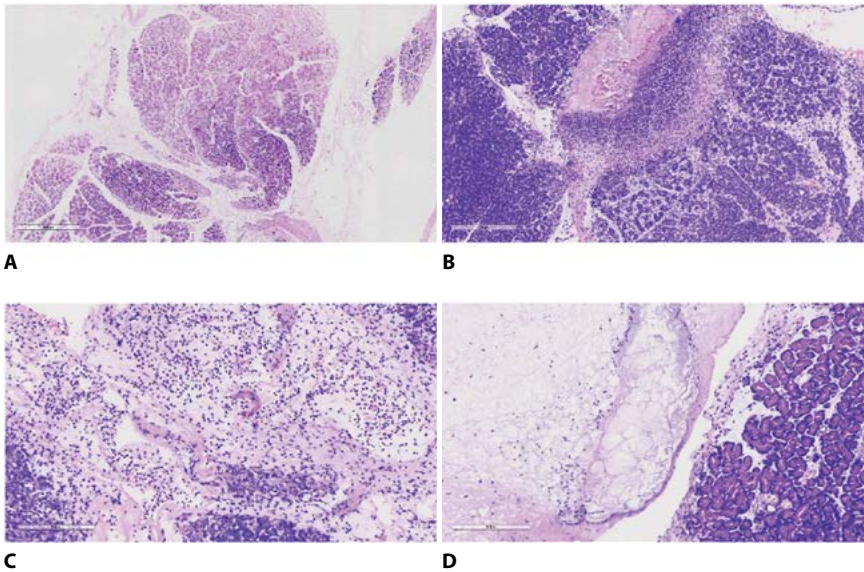


Рис. 3. Изменения в поджелудочной железе через 24 часа от начала острого экспериментального панкреатита у животных III группы. Окраска гематоксилином и эозином. А – ув. $\times 50$; В – ув. $\times 100$; С – ув. $\times 200$; D – ув. $\times 200$

Fig. 3. Changes in the pancreas in 24 hours after the onset of acute experimental pancreatitis in animals of group III. Hematoxylin and eosin stain. A – $\times 50$; B – $\times 100$; C – $\times 200$; D – $\times 200$

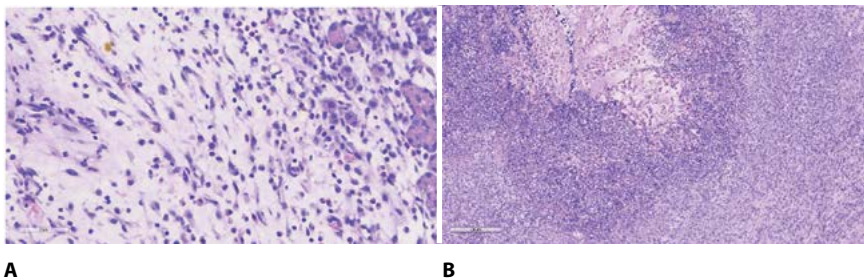


Рис. 4. Изменения в поджелудочной железе через 48 часов от начала острого экспериментального панкреатита у животных III группы. Окраска гематоксилином и эозином. А – ув. $\times 400$; В – ув. $\times 100$

Fig. 4. Changes in the pancreas in 48 hours after the onset of acute experimental pancreatitis in animals of group III. Hematoxylin and eosin stain. A – $\times 400$; B – $\times 100$

При анализе гистологических изменений в печени этих животных четко прослеживались резко выраженное полнокровие центральных вен с тромбозом, очаги некрозов, острая дистрофия гепатоцитов. Последнее свидетельствовало о наличии острой печеночной недостаточности (рис. 2B).

Поражение почек при тяжелом остром панкреатите на ранней стадии заболевания, как правило, напрямую связано с массивной эндогенной интоксикацией, при этом почки быстро вовлекаются в патологический процесс и не справляются

со своей функцией, что в свою очередь приводит к прогрессированию эндотоксикоза. У животных этой группы в почках отмечались некротический нефроз, фибриновые тромбы в просвете капилляров клубочков и микрокровоизлияния (рис. 2С).

Патогистологически в легких определялись геморрагический отек, фибриново-эритроцитарные тромбы в просвете микроциркуляторного русла межалъвеолярных перегородок с геморрагическим пропитыванием (рис. 2D).

Таким образом, при моделировании ОП путем введения в ткань поджелудочной железы 0,3 мл 10%-го раствора Тритон X-100 у крыс наблюдалась молниеносная (фульминантная) форма заболевания, при которой на фоне субтотального некроза поджелудочной железы происходило системное нарушение микроциркуляции с развитием синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания и признаками полиорганного поражения.

У животных III группы клиническо-поведенческие проявления заболевания были однотипны. В течение первых суток у крыс отмечались гиподинамия, несколько заторможенное поведение, снижение исследовательской реакции, они переставали употреблять пищу. Летальности в этой группе не было. Для оценки особенностей развития острого панкреатита и его тяжести, а также динамики изменений в органах-мишенях животных выводили из эксперимента на 1, 2, 3 и 7-е сутки заболевания.

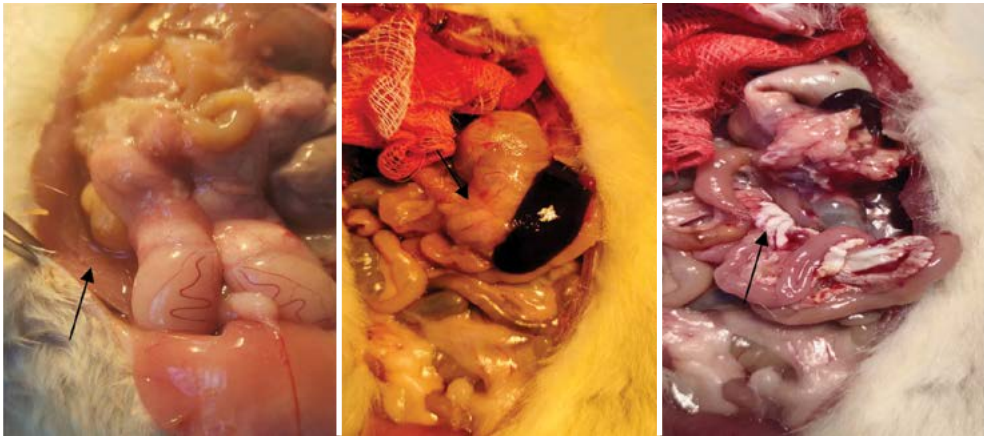
При аутопсии животных, выведенных из эксперимента на 1-е сутки от начала моделирования ОП, в брюшной полости выпота не было. Поджелудочная железа была отечная, дольчатость ее сглажена, ткань имела серый цвет. При гистологическом исследовании в поджелудочной железе отмечался некроз с разной степенью выраженности, от субтотального (рис. 3A) до очагового в краевых отделах долек железы (рис. 3B). Определялись интерстициальный отек, выраженная круглоклеточная инфильтрация с примесью сегментоядерных лейкоцитов (рис. 3C), единичные формирующиеся очаги стеатонекрозов (рис. 3D).

Через 48 часов от начала эксперимента в поджелудочной железе степень выраженности некротических изменений носила вариабельный характер. В этот срок отмечалась выраженная отечность ткани поджелудочной железы и обильная воспалительная полиморфноклеточная инфильтрация. В междольковой строме определялось значительное количество фибробластов (рис. 4A). Выявлялись также оформленные очаги стеатонекроза с формирующимся перифокальным продуктивным воспалением и с формированием капсул (рис. 4B).

При выведении животных этой группы из эксперимента на 3-и сутки от начала ОП в брюшной полости определялось небольшое количество серозно-геморрагического выпота (рис. 5A), поджелудочная железа была пастозная, рыхло спаянная с желудком, селезенкой и петлей тонкой кишки (рис. 5B). При разъединении инфильтрата на тонкой кишке определялись плотные наложения фибрина (рис. 5C).

При гистологическом исследовании поджелудочной железы в этот период времени уже отмечалась резорбция некротического детрита на месте некротизированной ткани. Определялись выраженная пролиферация фибробластов, синтез коллагеновых волокон, пролиферация железистоподобных структур с набухшим эпителием (рис. 6A), уменьшение отека и воспалительной инфильтрации. В прилежащих тканях сальника наблюдались распространенные стеатонекрозы (рис. 6B).

На 7-е сутки эксперимента макроскопически желудочно-селезеночная часть



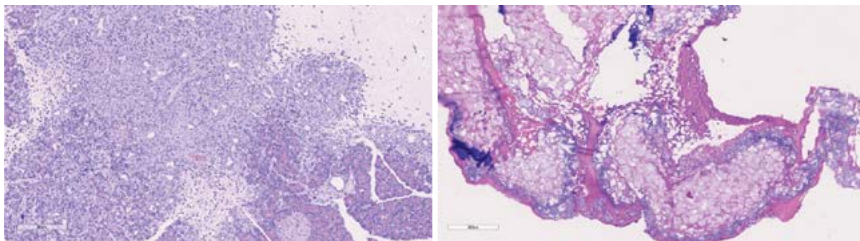
A

B

C

Рис. 5. Макрофотография. Патологические изменения в брюшной полости через 72 часа от начала острого экспериментального панкреатита у животных III группы

Fig. 5. Macrophotography. Pathological changes in the abdominal cavity in 72 hours after the onset of acute experimental pancreatitis in animals of group III

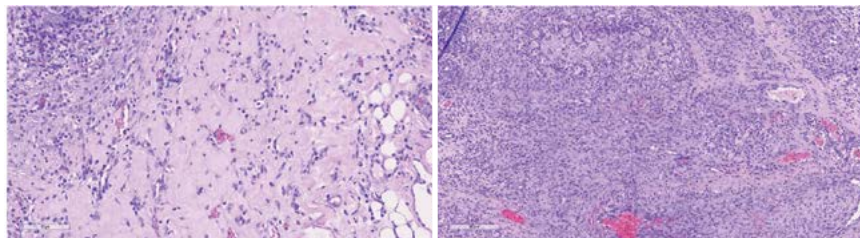


A

B

Рис. 6. Изменения в поджелудочной железе на 3-и сутки от начала острого экспериментального панкреатита у животных III группы. Окраска гематоксилином и эозином. А – ув. $\times 100$; В – ув. $\times 50$

Fig. 6. Changes in the pancreas on the 3rd day after the onset of acute experimental pancreatitis in animals of group III. Hematoxylin and eosin stain. A – $\times 100$; B – $\times 50$



A

B

Рис. 7. Изменения в поджелудочной железе на 7-е сутки от начала острого экспериментального панкреатита у животных III группы. Окраска гематоксилином и эозином. А – ув. $\times 200$; В – ув. $\times 100$

Fig. 7. Changes in the pancreas on the 7th day after the onset of acute experimental pancreatitis in animals of group III. Hematoxylin and eosin stain. A – $\times 200$; B – $\times 100$

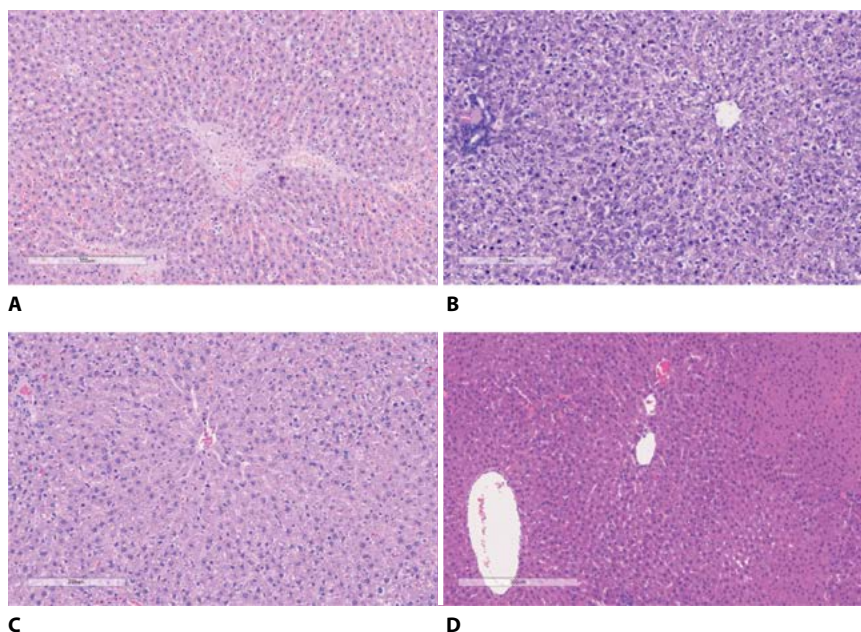


Рис. 8. Изменения в печени у животных III группы. Окраска гематоксилином и эозином. А – через 24 часа, ув. $\times 200$; В – через 48 часов, ув. $\times 200$; С – через 72 часа, ув. $\times 200$; D – на 7-е сутки, ув. $\times 200$
Fig. 8. Changes in the liver in animals of group III. Hematoxylin and eosin stain. A – in 24 hours $\times 200$; B – in 48 hours $\times 200$; C – in 72 hours $\times 200$; D – on the 7th day $\times 200$

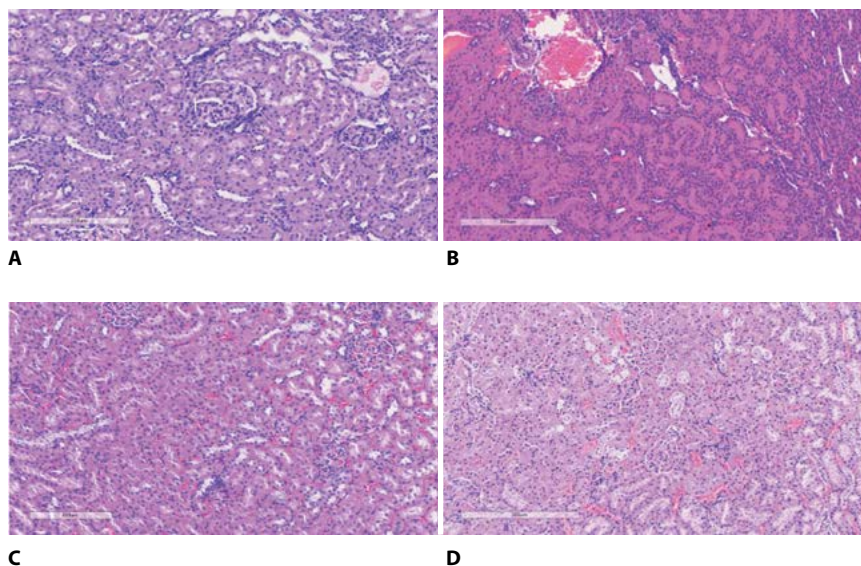


Рис. 9. Изменения в почках у животных III группы. Окраска гематоксилином и эозином. А – через 24 часа, ув. $\times 200$; В – через 48 часов, ув. $\times 200$; С – через 72 часа, ув. $\times 200$; D – на 7-е сутки, ув. $\times 200$
Fig. 9. Changes in the kidneys in animals of group III. Hematoxylin and eosin stain. A – in 24 hours $\times 200$; B – in 48 hours $\times 200$; C – in 72 hours $\times 200$; D – on the 7th day $\times 200$

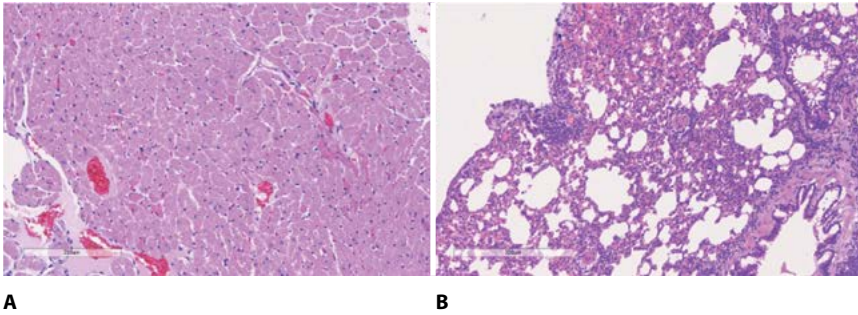


Рис. 10. Изменения в сердце и легких на 3-и сутки от начала моделирования ОП у животных III группы. Окраска гематоксилином и эозином. А – сердце, ув. $\times 200$; В – легкие, ув. $\times 100$
Fig. 10. Changes in the heart and lungs on the 3rd day after the onset of acute experimental pancreatitis in animals of group III. Hematoxylin and eosin stain. A – heart $\times 200$; B – lungs $\times 100$

поджелудочной железы была пастозная, рыхлая, капсула поджелудочной железы в данном участке рыхло спаяна с селезенкой и желудком. Спайки с кишечником отсутствовали. Гистологически в железе уже отмечались процессы репарации, морфологическая картина полиморфной фиброплазии (рис. 7A). В тканях поджелудочной железы встречались фокусы осумкованных стеатонекрозов с участками склерогиялиноза (рис. 7B).

У животных этой группы некроз поджелудочной железы сопровождался также поражением органов-мишеней. При микроскопическом исследовании печени на 1-е сутки от моделирования ОП отмечались выраженное острое венозное полнокровие с резким расширением центральных вен, острая дистрофия гепатоцитов (рис. 8A). На 2-е сутки эксперимента дистрофические изменения в печени нарастали, наблюдались явления холестаза (рис. 8B). Через 48 часов и в дальнейшем в печени острое венозное полнокровие становилось менее выраженным, отмечались признаки гиалиново-капельной дистрофии гепатоцитов (рис. 8C, D).

В почках через 24 часа существенные структурные изменения произошли в сосудах и канальцевом аппарате. Отмечались полнокровие сосудов микроциркуляторного русла с наличием стазов, фибриновые тромбы в просвете капилляров клубочков и очаговый некротический нефроз (рис. 9A). На 2-е сутки изменения в почках продолжали нарастать, появились признаки токсической дистрофии эпителия извитых канальцев (рис. 9B). Через 72 часа после моделирования ОП в цитоплазме клеток эпителия извитых канальцев были видны крупные гиалиноподобные капли (рис. 9C). К 7-м суткам в почках наблюдалась тенденция к уменьшению патологических изменений, отмечались набухание и вакуолизация цитоплазмы клеток эпителия проксимальных извитых канальцев. Просветы канальцев были сужены, и отмечалось слущивание эпителия (рис. 9D).

В сердце в ранние сроки микроскопические изменения проявлялись в виде неравномерного полнокровия миокарда. Наблюдалось микрокровоизлияния с геморрагическим пропитыванием прилежащих кардиомиоцитов, острая дистрофия миокарда, фрагментация кардиомиоцитов. На 3-и сутки в сердце наблюдались контрактурные нарушения, неравномерность окрашивания миокарда эозином (мелкие участки пересокращения кардиомиоцитов были окрашены в более насыщенный

цвет, соседние участки перерастяжения кардиомиоцитов более бледной окраски), интерстициальный отек (рис. 10А).

Микроскопически в легких животных этой группы на различных этапах эксперимента наблюдались острое венозное полнокровие, геморрагический отек, фибриново-эритроцитарные тромбы в просвете микроциркуляторного русла межальвеолярных перегородок с геморрагическим пропитыванием, а также отек межальвеолярных перегородок и очаговая эмфизема (рис. 10В).

■ ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Макроскопические изменения в брюшной полости и непосредственно в поджелудочной железе, а также гистологически подтвержденный некроз ткани железы и патологические изменения в сердце, легких, печени и почках при моделировании ОП путем введения 0,3 мл 5%-го раствора Тритона Х-100 в паренхиму поджелудочной железы свидетельствуют о развитии у животных тяжелого острого (некротизирующего) панкреатита, что делает модель пригодной для изучения влияния биопродуктов клеточного происхождения на данный патологический процесс.

■ ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Krishna S.G., Kamboj A.K., Hart P.A., Hinton A., Conwell D.L. The Changing Epidemiology of Acute Pancreatitis Hospitalizations: A Decade of Trends and the Impact of Chronic Pancreatitis. *Pancreas*. 2017;46(4):482–488. doi: 10.1097/MPA.0000000000000783
2. Foitzik T., Hotz H.G., Eibl G., Buhr H.J. Experimental models of acute pancreatitis: are they suitable for evaluating therapy? *Int J Colorectal Dis*. 2000;15(3):127–35. doi: 10.1007/s003840000216
3. Zhan X., Wang F., Bi Y., Ji B. Animal models of gastrointestinal and liver diseases. Animal models of acute and chronic pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2016;311(3):G343–55. doi: 10.1152/ajpgi.00372.2015. Epub 2016 Jul 14.
4. Yang X., Yao L., Fu X., Mukherjee R., Xia Q., Jakubowska M.A., Ferdek P.E., Huang W. Experimental Acute Pancreatitis Models: History, Current Status, and Role in Translational Research. *Front Physiol*. 2020;11:614591. doi: 10.3389/fphys.2020.614591
5. Regulations on the procedure for the use of experimental animals in research work and the educational process at the Belarusian State Medical University: order of the Min. health care № 309 dated 15.06.2012. Minsk: BSMU, 2006. 6 p. (in Russian)
6. State standard 33215-2014 Guidelines for keeping and increasing the volume of laboratory animals. Rules for equipping premises and organizing procedures. Introduction 07.01.2016. Moscow: «Standartinform», 2016. 19 p. (in Russian)
7. Decree of the Ministry of Agriculture and Food of the Republic of Belarus dated May 21, 2010 No. 36 «On approval of the Veterinary and Sanitary Rules for the reception, care and dissection of experimental animals in vivariums of research institutes, stations, laboratories, educational institutions, as well as in nurseries». Rep. Belarus. Minsk. (in Russian)
8. Decree of the Chief State Sanitary Doctor of the Republic of Belarus No. 131 of October 31, 2006 On Approval of the Sanitary Rules of Norms 2.1.2.12-18 – 2006 «Arrangement, Equipment and Maintenance of Experimental Biological Clinics (Vivariums)». Rep. Belarus. Minsk. (in Russian)
9. State standard 33216-2014. Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the maintenance and care of laboratory rodents and rabbits. Introduction 01.05.2017. Moscow: «Standartinform», 2016. 10 p. (in Russian)
10. Gulyants E., Lukash N., Tkacheva T., Surgutanova T., Kalmykova Yu. Pancreatitis modeling method: patent № 1027755 USSR, G 09 B23/28. *Discoveries. Inventions*. 1987;28:211. (in Russian)
11. Singh P., Garg P.K. Pathophysiological mechanisms in acute pancreatitis: Current understanding. *Indian J Gastroenterol*. 2016;35(3):153–66. doi: 10.1007/s12664-016-0647-y. Epub 2016 May 21.
12. Koleshko S., Lis R. Modeling of pathological processes in the pancreas, as close as possible to clinical practice. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2009;2(26):159–62. (in Russian)