

DOI: <https://doi.org/10.22263/2312-4156.2024.4.70>

Антицитокиновая терапия при экспериментальном остром деструктивном панкреатите

А.И. Масюкевич

Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Республика Беларусь

Вестник ВГМУ. – 2024. – Том 23, №4. – С. 70-78.

Anticytokine therapy for experimental acute destructive pancreatitis

A.I. Masyukevich

Grodno State Medical University, Grodno, Republic of Belarus

Vestnik VGMU. 2024;23(4):70-78.

Резюме.

Цель исследования – изучение влияния тоцилизумаба на тяжесть развития экспериментального острого деструктивного панкреатита (ОДП) у крыс посредством оценки летальности, гематологических, биохимических и серологических показателей.

Материал и методы. Эксперимент выполнялся на 4 группах крыс, по 18 особей в каждой. ОДП моделировался с помощью введения 10% раствора додецилсульфата натрия в ткань поджелудочной железы. После моделирования ОДП в группе №1 лечение не выполнялось, в группе №2 проводилось стандартное лечение в течение 3-х суток, в группе №3 на фоне стандартного лечения однократно применялся тоцилизумаб в дозе 4 мг/кг, в группе №4 – стандартное лечение с использованием тоцилизумаба в дозе 8 мг/кг. После этого на контрольные сутки выполнялись лабораторные исследования. Полученные данные подверглись сравнительному статистическому анализу между исследуемыми группами. Оценивались показатели летальности, лабораторных воспалительных маркеров и лабораторных изменений со стороны органов-мишеней.

Результаты. В группах №1 и №2 летальность составляет 16,67% и 22,22% соответственно. В группах №3 и №4, где применялся тоцилизумаб, летальность была равна 0%. Также в группах №3 и №4 отмечается статистически значимое снижение лабораторных показателей (количество лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, интерлейкина-6, креатинина, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, альфа-амилазы, С-реактивного белка) относительно групп №1 и №2. Причем в группе №4 с использованием тоцилизумаба в дозировке 8 мг/кг количество лейкоцитов, сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов, уровень креатинина были достоверно ниже, чем в группе №3, где применялась доза 4 мг/кг.

Заключение. Применение тоцилизумаба при ОДП в эксперименте обеспечивает не только отсутствие летальности, но и снижение лабораторных показателей (количество лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, интерлейкина-6, креатинина, аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, альфа-амилазы, С-реактивного белка). При этом использование препарата в дозировке 8 мг/кг оказалось более эффективным, чем в дозе 4 мг/кг за счет дальнейшего снижения гематологических (количество лейкоцитов, сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов) и биохимических (уровень креатинина) показателей.

Ключевые слова: острый деструктивный панкреатит, интерлейкин-6, ингибитор интерлейкина-6, эксперимент, лечение панкреатита, лабораторные данные.

Abstract.

Objectives. To study the effect of tocilizumab on the severity of the development of experimental acute destructive pancreatitis (ADP) in rats by assessing mortality, hematological, biochemical and serological parameters.

Material and methods. The experiment was carried out on 4 groups of rats, 18 individuals in each. ADP was modeled by injecting a 10% sodium dodecyl sulfate solution into the pancreatic tissue. After ADP modeling in group No.1 no treatment was performed, in group No.2 standard treatment was carried out for 3 days, in group No.3 against the

background of standard treatment, tocilizumab was used once at a dose of 4 mg/kg, in group No.4 – standard treatment using tocilizumab at a dose of 8 mg/kg. Following this, laboratory tests were performed on the control day. The obtained data were subjected to comparative statistical analysis between the study groups. Mortality rates, laboratory inflammatory markers, and laboratory changes in target organs were assessed.

Results. In groups No.1 and No.2, mortality is 16.67% and 22.22%, respectively. In groups No.3 and No.4, where tocilizumab was used, mortality made up 0%. Also in groups No.3 and No.4 there is a statistically significant decrease in laboratory parameters (white blood cells count, stab and segmental neutrophils, interleukin-6, creatinine, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alpha-amylase, C-reactive protein) relative to groups No.1 and No.2. Moreover, in group No.4, using tocilizumab at a dosage of 8 mg/kg, white blood cells count, segmental and stab neutrophils, and creatinine level were significantly lower than those in group No.3, where a dose of 4 mg/kg was used.

Conclusions. The use of tocilizumab in ADP in the experiment ensures not only the absence of mortality, but a decrease in laboratory parameters (white blood cells count, stab and segmental neutrophils, interleukin-6, creatinine, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alpha-amylase, C-reactive protein). Moreover, the use of the drug at a dosage of 8 mg/kg turned out to be more effective than at a dose of 4 mg/kg due to a further reduction in hematological (white blood cells count, segmental and stab neutrophils) and biochemical (creatinine level) parameters.

Keywords: acute destructive pancreatitis, interleukin-6, interleukin-6 inhibitor, experiment, treatment of pancreatitis, laboratory data.

Введение

Острый панкреатит (ОП) является полифакторной экстренной хирургической патологией, которая характеризуется высоким уровнем заболеваемости и смертности, а также значительными финансовыми затратами для ее лечения [1, 2]. Необходимо отметить, что у 70-80% пациентов с ОП развивается легкая и неосложненная формы, в то время как у 20-30% развиваются более тяжелые проявления с некрозом поджелудочной железы (острый деструктивный панкреатит – ОДП) и сопутствующим нарушением работы жизнеобеспечивающих систем органов, в первую очередь дыхательной и сердечно-сосудистой систем [3]. Полиорганная недостаточность является следствием бурного, неконтролируемого системного ответа при первичном вовлечении поджелудочной железы. Патологический механизм развития ОП изучен недостаточно. Длительное время исследователи предполагали, что ОП возникает только в результате активации пищеварительных ферментов в поджелудочной железе, процесса, называемого аутолизом [4]. Действительно, наследственные мутации в генах, кодирующих пищеварительные ферменты, были обнаружены у пациентов с наследственной формой панкреатита. Однако у всех этих пациентов развивается хронический панкреатит, а не острый. Поэтому в последние годы появилась новая концепция, предполагающая, что ОП является результатом не только ферментной агрессии,

но и иммунного ответа, опосредованного через активацию сигнального пути ядерного фактора каппа-В (NF- κ B) с дальнейшим выбросом провоспалительных цитокинов, основными из которых являются интерлейкин-6 (IL-6), фактор некроза опухоли альфа (TNF- α), интерлейкин 1-бета (IL-1 β) [5, 6]. Однако главное отличие двух последних цитокинов в том, что растворимые формы их рецепторов действуют как антагонисты и, соответственно, блокируют данные сигнальные пути, что не характерно для рецепторов IL-6 (IL-6R). Более того, TNF- α и IL-1 β являются активаторами для продукции IL-6 [7, 8].

Известно, что биологическая активность IL-6 проявляется через IL-6R, который может существовать в двух формах: растворимой (sIL-6R) и мембраносвязанной (mIL-6R) [9]. Мембраносвязанная форма существует на поверхности Т-клеток, моноцитов, активированных В-лимфоцитов, нейтрофилов и гепатоцитов и связана с мембранным гликопротеином gp130. Через связывание IL-6 с комплексом gp130-mIL-6R реализуется классический сигнальный путь, который обеспечивает физиологические процессы и, в некоторой степени, противовоспалительный ответ [10]. При развитии воспаления реализуется трансигнальный путь, в котором ключевую роль играет sIL-6R. Образование sIL-6R осуществляется путем протеолитического отщепления mIL-6R протеазой ADAM17, уровень которой существенно повышается при воспалении, или через альтернативный сплайсинг мРНК [11]. Далее циркули-

рующая молекула sIL-6R связывается с gp130 на мембранах клеток, не продуцирующих mIL-6R, в частности панкреатоцитов. После этого IL-6 образует комплекс с gp130-sIL-6R с дальнейшей активацией янус-киназы (JAK), которые фосфорилируют молекулы семейства белков-преобразователей сигналов и активаторов транскрипции (STAT), в большей степени – STAT3. Данные белки перемещаются в ядро и опосредуют синтез белков острой фазы, СРБ в частности. Также через JAK запускается сигнальный путь митоген-активируемой протеинкиназы (МАРК), которая обеспечивает дальнейшее развитие воспалительных и пролиферативных процессов [7, 12, 13].

Более того, был выполнен ряд исследований, в которых наиболее специфичным предиктором развития тяжелой формы ОП оказался сывороточный уровень IL-6, а также IL-6-зависимый белок острой фазы – С-реактивный белок (СРБ) [14-18].

Исходя из вышеизложенного, цитокиновый путь IL-6 играет важную роль в патогенезе ОДП, по этой причине существует необходимость в исследовании препаратов, ингибирующих этот каскад реакций, что должно положительно сказаться на клинико-лабораторных данных.

Одним из ингибиторов IL-6, активно используемых в клинической практике, является тоцилизумаб. Тоцилизумаб представляет собой моноклональный препарат против IL-6R подкласса IgG1k, который блокирует передачу сигнала, опосредованную IL-6, путем ингибирования связывания IL-6 с трансмембранным и растворимым IL-6R. Высокая эффективность, хорошая переносимость и безопасность тоцилизумаба были подтверждены в ходе многочисленных клинических испытаний по всему миру, начатых в конце 1990-х годов. Это привело к одобрению этого биологического препарата для лечения ревматоидного артрита, системного и полиартикулярного ювенильного идиопатического артрита, болезни Каслмана. Кроме того, тоцилизумаб показал свою эффективность в ингибировании цитокинового шторма у пациентов с COVID-19 [19, 20]. На основании вышеописанного механизма развития ОП и успешного патогенетически обоснованного применения тоцилизумаба при других заболеваниях имеется необходимость изучения эффективности данного препарата при развитии ОДП, в первую очередь, в эксперименте с последующей вероятностью его использования в клинической практике.

Цель — изучение влияния тоцилизумаба на тяжесть развития экспериментального ОДП у крыс посредством оценки летальности, гематологических, биохимических и серологических показателей.

Материал и методы

Для выполнения эксперимента были использованы половозрелые самки линии «Вистар» массой 250-300 грамм в количестве 72 особей. Эксперимент проведен в условиях операционной на базе кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии УО «Гродненский государственный медицинский университет». Вся работа с животными осуществлена в соответствии с «Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях» (Страсбург, 1986), а также с соблюдением «Правил и норм гуманного обращения с биологическими объектами исследований» УО «Гродненский государственный медицинский университет».

Наиболее близким к клинической практике и наиболее применяемым в эксперименте является способ моделирования панкреатита, при котором для создания модели различных форм ОП в ткань поджелудочной железы крыс вводят разные концентрации раствора неионного детергента Тритона X-100 (1–5%) в диапазоне доз от 0,2 до 0,4 мл (описан Э.С. Гульянц с соавторами) [21]. Недостатком данного способа является то, что Тритон X-100, как и вся группа неионных детергентов, не реагирует напрямую с белками, а лишь образует с ними комплексы, соответственно, процесс солюбилизации мембраны, выхода активаторов протеолитических ферментов и аутолиза поджелудочной железы идет менее активно, что свидетельствует о неполном соответствии этиопатогенезу развития ОДП.

Разработанный нами способ также заключается в использовании детергента, но лишенный вышеуказанных недостатков. Всем животным моделирование ОДП выполнялось путем введения 10% раствора додецилсульфата натрия (ДСН) в ткань поджелудочной железы (заявка на патент №a20240092, дата приоритета: 16.04.2024). Эксперимент осуществляли следующим образом. В асептических условиях под общим обезболиванием (внутримышечная инъекция кетамина в дозировке 20 мг/кг) после обработки операционного поля выполняли верхнесрединную лапаротомию.

В рану выводили желудок, селезенку и желудочно-селезеночную часть поджелудочной железы. Одноразовым инсулиновым шприцем в желудочно-селезеночную часть поджелудочной железы производили 3 инъекции раствора ДСН соответствующей концентрации по 0,1 мл на равноудаленном расстоянии друг от друга. После инъекций органы погружали в брюшную полость. Затем выполняли контроль гемостаза и послойное ушивание передней брюшной стенки отдельными узловыми швами. Рану обрабатывали 5% спиртовым раствором йода. Длительность оперативного вмешательства в среднем составляла 15 минут. После операции животные находились под наблюдением в условиях индивидуального размещения, свободного доступа к пище и воде.

При моделировании ОДП было выделено 4 группы по 18 особей в каждой из них: группа №1 – моделирование ОДП без лечения (группа контроля), группа №2 – стандартное лечение в течение первых 3-х суток (внутримышечное введение ранитидина 4 мг/кг, метоклопрамида 0,2 мг/кг и цефтриаксона 40 мг/кг каждые 12 часов, внутривенное введение кеторолака 1 мг/кг каждые 8 часов), группа №3 – стандартное лечение в течение первых 3-х суток и однократное внутрибрюшинное введение тоцилизумаба 4 мг/кг через 6 часов после моделирования ОДП, группа №4 – стандартное лечение в течение первых 3-х суток и однократное внутрибрюшинное введение тоцилизумаба 8 мг/кг через 6 часов после моделирования ОДП. Крыс выводили из эксперимента через 24 (1 сутки), 96 (4 суток) и 192 (8 суток) часа путем передозировки тиопентала натрия с последующим забором крови для следующих лабораторных анализов (4-5 мл с каждой особи): общий анализ крови (количество эритроцитов, количество лейкоцитов, уровень гемоглобина, гематокрит, средний объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроците, средняя концентрация гемоглобина в эритроците, количество тромбоцитов, состав лейкоцитарной формулы), биохимический анализ крови (общий белок, мочевины, креатинин, общий билирубин, глюкоза, АЛТ, АСТ, альфа-амилаза, С-реактивный белок), ИФА-исследование (определение уровня провоспалительного цитокина – интерлейкина-6).

Образцы крови для гематологических исследований забирались в индивидуальные для каждой особи пробирки, содержащие ЭДТА, и перемешивались. Затем на отобранных образцах в течение 30 минут выполнялся общий анализ

крови с помощью автоматического анализатора Sysmex XS-800i (Япония).

Кровь для биохимического анализа крови собиралась в пробирки без антикоагулянта, затем после свертывания центрифугировалась в течение 15 минут. Сразу после центрифугирования сыворотка исследовалась на биохимическом автоматическом анализаторе Mindray BS-300 (Китай). Для проведения серологических исследований часть отцентрифугированной сыворотки объемом 1,0 мл отбиралась в пробирки типа Эппендорф с помощью дозатора и замораживалась при температуре -25°C до момента проведения исследования. В день исследования сыворотка размораживалась в термостате при температуре $+22^{\circ}\text{C}$, после чего исследовалась с помощью набора Rat IL-6 (Interleukin-6) ELISA Kit cat. № ER0042 на иммуноферментном анализаторе SUNRISE TECAN (Австрия) при длине волны 450 нм.

Статистическая обработка полученных данных производилась в программе «Statistica 10». Описательные статистики численных показателей в группах приведены в виде « $M \pm SD$ », где « M » – среднее арифметическое, « SD » – стандартная ошибка показателя. Нормальность распределений показателей проверялась при помощи критерия Шапиро – Уилка. Сравнение численного показателя между 3 группами выполнялось при помощи дисперсионного анализа (ANOVA) для независимых выборок с предварительной проверкой при помощи критерия Ливена гипотезы об отсутствии различий в групповых дисперсиях показателя. Если ANOVA указывал на наличие статистически значимых различий между, как минимум, 2 средними, то проводились попарные апостериорные сравнения средних по критерию Тьюки.

Результаты и обсуждение

После выполнения моделирования ОДП летальность в послеоперационном периоде оказалась следующей (табл. 1). В контрольной группе №1 погибло 3 крысы (16,67%), в группе №2 с проведением стандартного лечения – 4 особи (22,22%) (отсутствие статистической значимости между группами, $p > 0,05$). В то же время в группах №3 и №4, где в дополнение к стандартному лечению вводился тоцилизумаб, погибших особей не было (летальность составила 0%). При гибели животных групп №1 и №2 забор крови для лабораторных исследований не производился.

Таблица 1 – Показатели летальности при остром деструктивном панкреатите в исследуемых группах

Группа	Количество выживших, N (p%)	Летальность, N (p%)
Группа 1	15 (83,33%)	3 (16,67%)
Группа 2	14 (77,78%)	4 (22,22%)
Группа 3	18 (100%)	0 (0%)
Группа 4	18 (100%)	0 (0%)

Примечание: N – абсолютная частота; p – относительная частота (в %).

Кроме того, были проведены попарные сравнения гематологических, биохимических и серологических показателей у выживших крыс исследуемых групп с контрольной группой №1 (табл. 2).

В биохимическом анализе наиболее важными маркерами в отношении острого панкреатита является нарастание концентрации панкреатических ферментов в крови (в настоящем исследовании – повышение альфа-амилазы), повышение маркеров воспаления, в частности – С-реактивного белка, и изменения со стороны органов-мишеней: печени (исследование уровня АЛТ, АСТ, общего белка, общего билирубина, глюкозы) и почек (определение уровня мочевины, креатинина). Важность цитокина ИЛ-6 в патогенезе острого панкреатита была описана ранее. Среди гематологических параметров необходимо выделить нарастание лейкоцитоза, количества палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов с относительной лимфопенией (сдвиг лейкоцитарной формулы влево).

Среди исследуемых показателей в группе №2 через 24 часа отмечается статистически значимое снижение СРБ и альфа-амилазы, через 96 часов – количества лейкоцитов, сегментоядерных нейтрофилов, уровни ИЛ-6, креатинина, СРБ и альфа-амилазы, через 192 часа – уровни СРБ и креатинина. В группе №3 через 24 часа со статистически значимой разницей уменьшилось количество сегментоядерных нейтрофилов, снизились креатинин, АСТ, альфа-амилаза и СРБ; через 96 часов – отмечается снижение числа лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, ИЛ-6, креатинина, альфа-амилазы и СРБ, через 192 часа – снижение количества лейкоцитов и палочкоядерных нейтрофилов, уровней ИЛ-6, АЛТ, СРБ. При сравнении группы №1 с группой №4 выявлено статистически значимое снижение уровня лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, альфа-амилазы и СРБ, снижение уровня ИЛ-6 через 96 и 192 часа, креатинина – через 24 и 96 часов, АСТ – через 24 часа.

Исходя из вышеописанных попарных сравнений вытекает, что в группе №1, где не проводилось лечение ОДП, наряду с высокой летальностью имеется статистически значимое повышение лабораторных маркеров воспаления и поражения органов-мишеней по отношению к группам лечения. Соответственно, для более подробной статистической оценки эффективности лечения дальнейший анализ необходимо проводить между группами №2, №3 и №4, исключив контрольную группу №1.

Дальнейшее сравнение лабораторных показателей групп №2, №3 и №4 между собой также выявило статистически значимые различия (табл. 3).

Исследуемые показатели группы №2, получавшей стандартное лечение, оказались статистически значимо выше, чем в группах №3 и №4, где дополнительно вводился тоцилизумаб (4 мг/кг и 8 мг/кг соответственно): через 24 часа выше было количество лейкоцитов, сегментоядерных нейтрофилов, креатинина, АЛТ, АСТ (только для группы №4), альфа-амилазы, СРБ; через 96 часов – количество лейкоцитов (только для группы №4), палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, АЛТ, альфа-амилазы, СРБ; через 192 часа – количество лейкоцитов, палочкоядерных нейтрофилов, ИЛ-6 и АСТ (только для группы №4), СРБ.

При сравнении групп, дополнительно получавших тоцилизумаб в разных дозировках, выявлено, что в группе №4, где внутривенно вводили 8 мг/кг тоцилизумаба, были статистически значимо ниже следующие показатели: количество лейкоцитов, сегментоядерных нейтрофилов, креатинина (через 24 и 96 часов); палочкоядерных нейтрофилов (через 96 и 192 часа). Кроме того, дополнительно обнаружены статистически значимые различия с группой №2 по некоторым показателям, отсутствующие у группы №3: количество лейкоцитов (через 96 и 192 часа), АСТ (через 24 и 192 часа), ИЛ-6 (через 192 часа).

На основании проведенного анализа данных видно, что дополнительное внутривенное

Таблица 2 – Сравнение лабораторных показателей при остром деструктивном панкреатите у леченных групп животных с контрольной группой №1

Показатель	Интервал	Группа №1, М±SD (n=6 через 24 часа, n=4 через 96 часов, n=5 через 192 часа)	Группа №2, М±SD (n=6 через 24 и 96 часов, n=2 через 192 часа)	Группа №3, М±SD (n=6)	Группа №4, М±SD (n=6)
WBC, x10 ⁹ /л	24 часа	12,4±1,4	12,9±1,2	10,6±1,5	9,1±1,2**
	96 часов	16±2,5	10,4±0,6*	9,8±0,8*	7,73±1,25**
	192 часа	11,8±1,7	9,4±1,2	8±1,2*	6,73±0,94**
Палочкоядерные, %	24 часа	8,7±2,5	7,8±2,5	6,5±2,35	5±1,79*
	96 часов	9,5±1,3	9,7±1,6	5,83±1,72**	3±1,41***
	192 часа	7±1,58	7,5±0,71	3,67±1,03**	1,83±0,75***
Сегментоядерные, %	24 часа	62,3±3,8	62,3±3,3	47,2±3,2***	33,5±6,8***
	96 часов	51,5±3,9	44,2±5*	36±4,7***	25,7±5,5***
	192 часа	29,6±4	26,5±3,5	27,2±5,9	21,3±4,2**
LYMPH, %	24 часа	23,2±3,3	23,3±3,1	40,3±3,7***	51,7±7,1***
	96 часов	33±2,2	37±6,2	51,2±3,7***	63±3,4***
	192 часа	56,4±4	58±5,7	62±6,2	69,3±5,3**
ИЛ-6, пг/мл	24 часа	250,45±46,35	234,64±25,62	209,59±26,44	201,1±22,81
	96 часов	229,2±10,78	197,88±10,64**	189,39±8,12**	189,1±15,38**
	192 часа	204,17±6,63	199,34±3,73	179,5±5,75**	177,83±12,03*
креатинин, мкмоль/л	24 часа	98,3±21,3	78±10,7	58,9±3,4**	45±8***
	96 часов	86,1±16,2	59,4±14,9*	48,2±7,7*	47,2±4,7*
	192 часа	57,6±10,2	42,1±3,5*	49,2±10,8	51,6±6,8
АЛТ, Ед/л	24 часа	113,2±25,2	133±10	101,4±11,4	100,2±15,8
	96 часов	30,1±4,4	44,6±14,4	30±1,3	28,4±5,5
	192 часа	32,5±5,4	22,2±15,1	23±8,1*	25,9±4,9
АСТ, Ед/л	24 часа	352,1±47	318,9±67,9	272,4±23**	241,8±30,7**
	96 часов	101±28,1	143,3±37	109,7±10,1	122,2±11,7
	192 часа	99,9±28,8	132,5±45,5	116,9±9,4	93,9±9,7
альфа-амилаза, Ед/л	24 часа	2452,9±300,9	1807±273,8**	1217,9±225,3***	1015,6±168,6***
	96 часов	1715,6±240,8	1160,4±143,2*	875,9±116,7**	748,2±154,4**
	192 часа	1023,5±121,7	903,2±52,3	823,9±210,8	708,4±77,8**
С-реактивный белок, мг/л	24 часа	3,95±0,72	2,98±0,31*	2,8±0,21*	1,47±0,23***
	96 часов	2,48±0,63	1,38±0,72*	0,417±0,248**	0,383±0,204**
	192 часа	1,22±0,15	0,7±0,141*	0,35±0,138***	0,3±0,141***

Примечания: М – среднее арифметическое вариационного ряда, SD – стандартное отклонение; * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001; n – количество выживших животных на контрольные сутки.

введение тоцилизумаба увеличивает выживаемость животных при развитии ОДП, а также облегчает тяжесть течения заболевания путем статистически значимого снижения лабораторных маркеров воспаления. Кроме того, введение тоцилизумаба в дозировке 8 мг/кг оказалось более эффективным, чем в дозировке 4 мг/кг, что проявляется не только отсутствием летальности, но и статистически значимым снижением количества лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, а также уровня креатинина.

Заключение

1. Введение 0,3 мл 10% раствора ДСН в ткань поджелудочной железы характеризуется развитием ОДП средней степени тяжести. Данная модель имеет абсолютную воспроизводимость при минимальной летальности (16,67%, отсутствие статистической значимости с группой контроля), характерные для ОДП изменения в лабораторных показателях, возможность протекания ОДП длительное время (не менее 8 суток). На основании

Таблица 3 – Сравнение лабораторных показателей при остром деструктивном панкреатите у леченных групп животных между собой

Показатель	Интервал	Группа №2, М±SD (n=6 через 24 и 96 часов, n=2 через 192 часа)	Группа №3, М±SD (n=6)	Группа №4, М±SD (n=6)	Статистически значимые различия между группами
WBC, x10 ⁹ /л	24 часа	12,9±1,2	10,6±1,5	9,1±1,2	гр.2-гр.3*, гр.2-гр.4***
	96 часов	10,4±0,6	9,8±0,8	7,73±1,25	Гр.2-гр.4***, гр.3-гр.4**
	192 часа	9,4±1,2	8±1,2	6,73±0,94	Гр.2-гр.4*
Палочкоядерные, %	24 часа	7,8±2,5	6,5±2,35	5±1,79	—
	96 часов	9,7±1,6	5,83±1,72	3±1,41	Гр.2-гр.3**, гр.2-гр.4***, гр.3-гр.4*
	192 часа	7,5±0,71	3,67±1,03	1,83±0,75	Гр.2-гр.3***, гр.2-гр.4***, гр.3-гр.4*
Сегментоядерные, %	24 часа	62,3±3,3	47,2±3,2	33,5±6,8	Гр.2-гр.3***, гр.2-гр.4***, гр.3-гр.4***
	96 часов	44,2±5	36±4,7	25,7±5,5	Гр.2-гр.3*, гр.2-гр.4***, гр.3-гр.4**
	192 часа	26,5±3,5	27,2±5,9	21,3±4,2	—
LYMPH, %	24 часа	23,3±3,1	40,3±3,7	51,7±7,1	Гр.2-гр.3***, гр.2-гр.4***, гр.3-гр.4**
	96 часов	37±6,2	51,2±3,7	63±3,4	Гр.2-гр.3***, гр.2-гр.4***, гр.3-гр.4**
	192 часа	58±5,7	62±6,2	69,3±5,3	—
ИЛ-6, пг/мл	24 часа	234,64±25,62	209,59±26,44	201,1±22,81	—
	96 часов	197,88±10,64	189,39±8,12	189,1±15,38	—
	192 часа	199,34±3,73	179,5±5,75	177,83±12,03	Гр.2-гр.4*
креатинин, мкмоль/л	24 часа	78±10,7	58,9±3,4	45±8	Гр.2-гр.3**, гр.2-гр.4***, гр.3-гр.4*
	96 часов	59,4±14,9	48,2±7,7	47,2±4,7	—
	192 часа	42,1±3,5	49,2±10,8	51,6±6,8	—
АЛТ, Ед/л	24 часа	133±10	101,4±11,4	100,2±15,8	Гр.2-гр.3**, гр.2-гр.4**
	96 часов	44,6±14,4	30±1,3	28,4±5,5	Гр.2-гр.3*, гр.2-гр.4*
	192 часа	22,2±15,1	23±8,1	25,9±4,9	—
АСТ, Ед/л	24 часа	318,9±67,9	272,4±23	241,8±30,7	Гр.2-гр.4*
	96 часов	143,3±37	109,7±10,1	122,2±11,7	—
	192 часа	132,5±45,5	116,9±9,4	93,9±9,7	Гр.2-гр.4*
альфа-амилаза, Ед/л	24 часа	1807±273,8	1217,9±225,3	1015,6±168,6	Гр.2-гр.3**, гр.2-гр.4***
	96 часов	1160,4±143,2	875,9±116,7	748,2±154,4	Гр.2-гр.3**, гр.2-гр.4***
	192 часа	903,2±52,3	823,9±210,8	708,4±77,8	—
С-реактивный белок, мг/л	24 часа	2,98±0,31	2,8±0,21	1,47±0,23	Гр.2-гр.4***, гр.3-гр.4***
	96 часов	1,38±0,72	0,417±0,248	0,383±0,204	Гр.2-гр.3**, гр.2-гр.4**
	192 часа	0,7±0,141	0,35±0,138	0,3±0,141	Гр.2-гр.3*, гр.2-гр.4*

Примечания: * – p<0,05, ** – p<0,01, *** – p<0,001; гр.1 – группа №1, гр.2 – группа №2, гр.3 – группа №3, гр.4 – группа №4; «—» – статистически значимые различия не выявлены; n – количество выживших животных на контрольные сутки.

вышеуказанных преимуществ модель была выбрана нами для апробации нового метода лечения ОДП.

2. Сравнительный анализ лабораторных показателей групп лечения №2, №3 и №4 с контрольной группой №1 выявил достоверные различия в виде снижения таких параметров, как количество лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, ИЛ-6, общего белка, креатинина, АЛТ, АСТ, альфа-амилазы, С-реактивного белка,

ной группой №1 выявил достоверные различия в виде снижения таких параметров, как количество лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов, ИЛ-6, общего белка, креатинина, АЛТ, АСТ, альфа-амилазы, С-реактивного белка,

что говорит об эффективности лечения ОДП.

3. Дополнительное внутрибрюшинное введение тоцилизумаба показало статистически значимое снижение биохимических, гематологических и лабораторных показателей в сравнении с группой №2 (стандартное лечение), а также увеличение выживаемости животных (в группах №3 и №4 летальность составила 0%), что говорит об эффективности использования данного препарата при ОДП у крыс.

4. У животных группы №4, получавших тоцилизумаб в дозировке 8 мг/кг, выявлено доказательное снижение гематологических (количество лейкоцитов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтрофилов) и биохимических (креатинина) показателей в сравнении с группой №3 (дополнительное введение тоцилизумаба 4 мг/кг), что свидетельствует о большей эффективности и меньшем побочном влиянии тоцилизумаба на органы-мишени. Исходя из вышесказанного, данная дозировка тоцилизумаба является предпочтительной для лечения ОДП с точки зрения действенности и безопасности.

Благодарности. Автор выражает благодарность рецензентам статьи.

Acknowledgments. The author expresses his sincere gratitude to the reviewers of the article.

Литература

- Burden and Cost of Gastrointestinal, Liver, and Pancreatic Diseases in the United States: Update 2018 / A. F. Peery [et al.] // *Gastroenterology*. 2019 Jan. Vol. 156, N 1. P. 254–272. doi: 10.1053/j.gastro.2018.08.063
- Whitcomb, D. C. Clinical practice. Acute pancreatitis / D. C. Whitcomb // *N. Engl. J. Med.* 2006 May. Vol. 354, N 20. P. 2142–2150. doi: 10.1056/NEJMcп054958
- Панкреатогенные морфоструктурные изменения в сердце, легких и других органах-мишенях при деструктивном панкреатите / П. П. Кошевский [и др.] // *Неоэлож. кардиология и кардиоваскуляр. риски*. 2021. Т. 5, № 1. С. 1217–1222. doi: 10.51922/2616633X.2021.5.2.1217
- Pezzilli, R. Lung injury in acute pancreatitis / R. Pezzilli, L. Bellacosa, C. Felicani // *JOP*. 2009 Sep. Vol. 10, N 5. P. 481–484. *JOP*. 2009 Sep;10(5):481-4.
- Watanabe, T. Immunopathogenesis of pancreatitis / T. Watanabe, M. Kudo, W. Strober // *Mucosal. Immunol.* 2017 Mar. Vol. 10, N 2. P. 283–298. doi: 10.1038/mi.2016.101
- The Initial Course of IL1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IFN- γ and TNF- α with Regard to Severity Grade in Acute Pancreatitis / H. Sternby [et al.] // *Biomolecules*. 2021 Apr. Vol. 11, N 4. Art. 591. doi: 10.3390/biom11040591
- Интерлейкин-6 – от молекулярных механизмов передачи сигнала к физиологическим функциям и терапевтическим мишеням / М. С. Друцкая [и др.] // *Молекуляр. биология*. 2015. Т. 49, № 6. С. 937. doi: 10.7868/S0026898415060063
- Tanaka, T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease / T. Tanaka, M. Narazaki, T. Kishimoto // *Cold. Spring. Harb. Perspect Biol.* 2014 Sep. Vol. 6, N 10. Art. a016295. doi: 10.1101/cshperspect.a016295
- Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130 / M. Hibi [et al.] // *Cell*. 1990 Dec. Vol. 63, N 6. P. 1149–1157. doi: 10.1016/0092-8674(90)90411-7
- Su, H. Interleukin-6 Signaling Pathway and Its Role in Kidney Disease: An Update / H. Su, C. T. Lei, C. Zhang // *Front Immunol.* 2017 Apr. Vol. 8. Art. 405. doi: 10.3389/fimmu.2017.00405
- Blockade of the protease ADAM17 ameliorates experimental pancreatitis / M. I. Saad [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2022 Oct. Vol. 119, N 42. doi: 10.1073/pnas.2213744119
- IL-6 trans-signaling promotes pancreatitis-associated lung injury and lethality / H. Zhang [et al.] // *J. Clin. Invest.* 2013. Vol. 123, N 3. P. 1019–1031. doi: 10.1172/JCI64931
- Scheller, J. Interleukin-6: from basic biology to selective blockade of pro-inflammatory activities / J. Scheller, C. Garbers, S. Rose-John // *Semin. Immunol.* 2014 Feb. Vol. 26, N 1. P. 2–12. doi: 10.1016/j.smim.2013.11.002
- Role of interleukin-6 in acute pancreatitis. Comparison with C-reactive protein and phospholipase A / J. A. Viedma [et al.] // *Gut*. 1992. Vol. 33, N 9. P. 1264–1267. doi: 10.1136/gut.33.9.1264
- Роль полиморфизмов генов цитокинов в развитии острого панкреатита: анализ межгенных и генно-средовых взаимодействий / Т. А. Самгина [и др.] // *Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии*. 2017. Т. 27, № 3. С. 27–33. doi: 10.22416/1382-4376-2017-27-3-27-33.
- Diagnostic accuracy of interleukin-6 and interleukin-8 in predicting severe acute pancreatitis: a meta-analysis / E. Aoun [et al.] // *Pancreatology*. 2009. Vol. 9, N 6. P. 777–785. doi: 10.1159/000214191
- Prognostic values of IL-6, IL-8, and IL-10 in acute pancreatitis / D. Stimac [et al.] // *J. Clin. Gastroenterol.* 2006 Mar. Vol. 40, N 3. P. 209–212. doi: 10.1097/00004836-200603000-00007
- Xu, F. Value of serum CRP and IL-6 Assays combined with Pancreatitis activity scoring system for assessing the severity of patients with acute pancreatitis / F. Xu, X. Hu, S. L. Li // *Pak. J. Med. Sci.* 2024 Jan-Feb. Vol. 40, N 1, part. 1. P. 145–149. doi: 10.12669/pjms.40.1.7550
- Tocilizumab, a humanized anti-IL-6R antibody, as an emerging therapeutic option for rheumatoid arthritis: molecular and cellular mechanistic insights / M. Hashizume [et al.] // *Int. Rev. Immunol.* 2015 May. Vol. 34, N 3. P. 265–279. doi: 10.3109/08830185.2014.938325
- Therapeutic strategies for COVID-19: progress and lessons learned / G. Li [et al.] // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2023 Jun. Vol. 22, N 6. P. 449–475. doi: 10.1038/s41573-023-00672-y
- Метод моделирования панкреатита : пат. 1327152 СССР : МПК G 09 B 23/28 / Э. С. Гульянц, Н. А. Лукаш, Т. Н. Ткачева, Т. А. Сургутанова, Ю. А. Калмыкова ; заявитель и патентообладатель Ростов. мед. ин-т. № 4026653/28-14 ; заявл. 17.02.86 ; опубл. 30.07.87, Бюл. № 28. 3 с.

Поступила 09.07.2024 г.

Принята в печать 28.08.2024 г.

References

- Peery AF, Crockett SD, Murphy CC, Lund JL, Dellon ES, Williams JL, et al. Burden and Cost of Gastrointestinal, Liver, and Pancreatic Diseases in the United States: Update 2018. *Gastroenterology*. 2019 Jan;156(1):254-272.e11. doi: 10.1053/j.gastro.2018.08.063
- Whitcomb DC. Clinical practice. Acute pancreatitis. *N Engl J Med*. 2006 May;354(20):2142-50. doi: 10.1056/NEJMcp054958
- Koshevskiy PP, Alekseev SA, Popkov OV, Ginyuk VA, Bovtyuk NYa. Pancreatogenic morphostructural changes in heart, lungs and other target organs in destructive pancreatitis. *Neotlozh Kardiologiya Kardiovaskulyar Riski*. 2021;5(1):1217-22. (In Russ.). doi: 10.51922/2616633X.2021.5.2.1217
- Pezzilli R, Bellacosa L, Felicani C. Lung injury in acute pancreatitis. *JOP*. 2009 Sep;10(5):481-4.
- Watanabe T, Kudo M, Strober W. Immunopathogenesis of pancreatitis. *Mucosal Immunol*. 2017 Mar;10(2):283-298. doi: 10.1038/mi.2016.101
- Sternby H, Hartman H, Thorlacius H, Regnér S. The Initial Course of IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IFN- γ and TNF- α with Regard to Severity Grade in Acute Pancreatitis. *Biomolecules*. 2021 Apr 17;11(4):591. doi: 10.3390/biom11040591
- Drutskaya MS, Nosenko MA, Atratkhanov KSN, Efimov GA, Nedospasov SA. Interleukin-6 - from molecular mechanisms of signal transduction to physiologic functions and therapeutic targets. *Molekulyar Biologiya*. 2015;49(6):937. (In Russ.). doi: 10.7868/S0026898415060063
- Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2014 Sep;6(10):a016295. doi: 10.1101/cshperspect.a016295
- Hibi M, Murakami M, Saito M, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130. *Cell*. 1990 Dec ;63(6):1149-57. doi: 10.1016/0092-8674(90)90411-7
- Su H, Lei CT, Zhang C. Interleukin-6 Signaling Pathway and Its Role in Kidney Disease: An Update. *Front Immunol*. 2017 Apr;8:405. doi: 10.3389/fimmu.2017.00405
- Saad MI, Weng T, Lundy J, Gearing LJ, West AC, Harpur CM, et al. Blockade of the protease ADAM17 ameliorates experimental pancreatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2022 Oct;119(42):e2213744119. doi: 10.1073/pnas.2213744119
- Zhang H, Neuhöfer P, Song L, Rabe B, Lesina M, Kurkowski MU, et al. IL-6 trans-signaling promotes pancreatitis-associated lung injury and lethality. *J Clin Invest*. 2013 Mar;123(3):1019-31. doi: 10.1172/JCI64931
- Scheller J, Garbers C, Rose-John S. Interleukin-6: from basic biology to selective blockade of pro-inflammatory activities. *Semin Immunol*. 2014 Feb;26(1):2-12. doi: 10.1016/j.smim.2013.11.002
- Viedma JA, Pérez-Mateo M, Domínguez JE, Carballo F. Role of interleukin-6 in acute pancreatitis. Comparison with C-reactive protein and phospholipase A. *Gut*. 1992 Sep;33(9):1264-7. doi: 10.1136/gut.33.9.1264
- Samgina TA, Zhivotova GA, Nazarenko PM, Polonikov AV. Role of cytokine gene polymorphisms in the development of acute pancreatitis: analysis of intergenic and gene-mediated interactions. *Ros Zhurn Gastroenterologii Gepatologii Koloproktologii*. 2017;27(3):27-33. (In Russ.). doi: 10.22416/1382-4376-2017-27-3-27-33
- Aoun E, Chen J, Reighard D, Gleeson FC, Whitcomb DC, Papachristou GI. Diagnostic accuracy of interleukin-6 and interleukin-8 in predicting severe acute pancreatitis: a meta-analysis. *Pancreatolgy*. 2009;9(6):777-85. doi: 10.1159/000214191
- Stimac D, Fisić E, Milić S, Bilić-Zulle L, Perić R. Prognostic values of IL-6, IL-8, and IL-10 in acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol*. 2006 Mar;40(3):209-12. doi: 10.1097/00004836-200603000-00007
- Xu F, Hu X, Li SL. Value of serum CRP and IL-6 Assays combined with Pancreatitis activity scoring system for assessing the severity of patients with acute pancreatitis. *Pak J Med Sci*. 2024 Jan-Feb;40(1Part-I):145-9. doi: 10.12669/pjms.40.1.7550
- Hashizume M, Tan SL, Takano J, Ohsawa K, Hasada I, Hanasaki A, et al. Tocilizumab, a humanized anti-IL-6R antibody, as an emerging therapeutic option for rheumatoid arthritis: molecular and cellular mechanistic insights. *Int Rev Immunol*. 2015 May;34(3):265-79. doi: 10.3109/08830185.2014.938325
- Li G, Hilgenfeld R, Whitley R, De Clercq E. Therapeutic strategies for COVID-19: progress and lessons learned. *Nat Rev Drug Discov*. 2023 Jun;22(6):449-75. doi: 10.1038/s41573-023-00672-y
- Gulyants ES, Lukash NA, Tkacheva TN, Surgutanova TA, Kalmykova YuA; zayavitel' i patentoobladatel' Rostov med in-t. A method for modeling pancreatitis: pat 1327152 SSSR: MPK G 09 B 23/28. № 4026653/28-14; zayavl 17.02.86; opubl 30.07.87, Бюл № 28. 3 p. (In Russ.)

Submitted 09.07.2024

Accepted 28.08.2024

Сведения об авторах:

А.И. Масюкевич – ассистент кафедры общей хирургии, Гродненский государственный медицинский университет, <https://orcid.org/0000-0003-3514-9000>,
e-mail: masyukevich1998@mail.ru – Масюкевич Алексей Игоревич

Information about authors:

A.I. Masyukevich – lecturer of the Chair of General Surgery, Grodno State Medical University, <https://orcid.org/0000-0003-3514-9000>,
e-mail: masyukevich1998@mail.ru – Alexey I. Masyukevich.