

ЗАСТОСУВАННЯ КЛІТИННО-АСОЦІЙОВАНОЇ ТЕРАПІЇ СОБАКАМ ІЗ ГОСТРИМ ПАНКРЕАТИТОМ

А. Г. МІЛАСТНАЯ, кандидат ветеринарних наук, старший викладач

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: milastnaia@mail.ru

Анотація. У статті наведені результати дослідження застосування клітинно-асоційованої терапії собакам із гострим панкреатитом. Виявлено, що введення хворим тваринам апротиніну методом направленого транспорту на лейкоцитарних носіях призводить до нормалізації активності ферментів підшлункової залози і усуває запальний процес. Динаміку змін запального процесу визначали за допомогою лейкоцитарного індексу, функціональний стан підшлункової залози – за допомогою визначення її ферментативної активності. Встановлено, що порівняно із традиційним внутрішньовенним застосуванням апротиніну даний метод забезпечує більш швидке і ефективне лікування собак із гострим панкреатитом, зокрема, за рахунок підвищення місцевого імунітету і, як наслідок, швидку нормалізацію клініко-лабораторних показників.

Застосування власних клітин крові у якості контейнерів для лікарських засобів знижує вірогідність розвитку побічних ефектів, а також ризик виникнення патологічних імунних реакцій, направлених проти інкапсульованого препарату, дозволяє модифікувати фармакокінетичні і фармакодинамічні параметри лікарського препарату. Застосування апротиніну собакам, хворим на гострий панкреатит, в аутологічних лейкоцитарних носіях зменшує кратність введення і тривалість застосування препарату, достовірно знижує активність ферментів підшлункової залози, зменшує прояви запального процесу.

Ключові слова: *собаки, гострий панкреатит, апротинін, аутолейкоцити, лейкоцитарні носії, направлений транспорт*

Актуальність. Високий рівень летальності собак за ускладненого гострого панкреатиту спонукає ветеринарних лікарів всього світу до пошуку найбільш оптимальних підходів до лікування хворих на цю патологію тварин.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Порушення екзокринної функції підшлункової залози унаслідок запального процесу,

може слугувати причиною ендогенної інтоксикації із багатокомпонентним системним запальним синдромом. Згідно літературних даних летальність у собак за ускладненого гострого панкреатиту коливається від 27 до 42 % [1].

Протягом останніх десятиріч досліджується можливість застосування клітин крові, як потенційної системи доставки фармакологічних засобів безпосередньо до вогнища ураження. Застосування власних клітин крові у якості контейнерів для різноманітних лікарських засобів знижує вірогідність розвитку побічних ефектів, а також ризик виникнення патологічних імунних реакцій, спрямованих проти інкапсульованого препарату, дозволяє модифікувати фармакокінетичні і фармакодинамічні параметри лікарського препарату, що призводить, у свою чергу, до збільшення інтервалів дозування і зниження його разової і курсової доз [2].

Підвищення ефективності лікування хворих на гострий панкреатит можна досягти застосуванням регіонарної інфузійної терапії, таким способом підводячи лікарські препарати безпосередньо до вогнища змін у підшлунковій залозі [3,5,7].

Мета дослідження. Вивчити вплив направленого транспорту апротиніну в аутологічних лейкоцитарних носіях на функціональний стан підшлункової залози собак за гострого панкреатиту; провести порівняльний аналіз лікувальної ефективності направленого транспорту апротиніну в аутологічних лейкоцитарних носіях і традиційного способу введення препарату.

Матеріали і методи дослідження. Нами було досліджено 14 собак із гострим панкреатитом. Середній вік собак – $6,9 \pm 4,1$ років. Всі тварини утримувались в умовах стаціонару. Тварин було поділено на дві групи по сім тварин у кожній: тваринам першої дослідної групи застосовували апротинін внутрішньовенно у добовій дозі 14000 ОД/кг протягом 3 діб; тваринам другої дослідної групи застосовували апротинін в аутологічних лейкоцитарних носіях. Для цього здійснювали лейкоцитаферез [6-8], при чому відбирали 30 мл лейкоцитарної маси і поєднували її із 50000 ОД апротиніну, інкубували суміш 30 хв за 37°C , отриману суміш застосовували внутрішньовенно крапельно одноразово. Тваринам обох дослідних груп відбирали кров для дослідження перед лікуванням (0 доба), на другу та п'яту добу. Динаміку змін запального процесу визначали за допомогою лейкоцитарного індексу (ЛІ), який визначали за формулою:

$$\text{ЛІ} = \frac{L * (\text{палічкаядерні} + \text{метамієлоцити} + \text{мієлоцити})}{(\text{сегментоядерні} + \text{лімфоцити})},$$

де L – загальна кількість лейкоцитів.

У сироватці крові визначали активність α -амілази, панкреатичної ліпази, рівень глюкози.

Результати дослідження та їх обговорення. За вивчення лейкограм хворих тварин обох груп і вираховування ЛІ, який у нормі

складає 1,0-1,2 було виявлено високий рівень запального процесу, ЛІ становив від 3,9 до 5,1 одиниць (див. табл. 1).

1. Рівень лейкоцитів та показники лейкограми у крові собак дослідних груп до лікування ($M \pm m$)

Показник	1 група ($n = 7$)	2 група ($n = 7$)
Лейкоцити, Г/л	19,6 ± 2,2	20,1 ± 2,8
<i>Лейкограма, %</i>		
Еозинофіли	5,3 ± 1,6	4,1 ± 1,9
Метамієлоцити	2,8 ± 1,6	2,7 ± 1,4
Паличкоядерні	15,9 ± 2,7	16,3 ± 3,1
Сегментоядерні	55,0 ± 3,2	56,9 ± 3,4
Лімфоцити	19,3 ± 2,9	18,5 ± 2,2
Моноцити	1,7 ± 1,4	1,5 ± 1,9

Як видно із таблиці у крові тварин обох дослідних груп була значно підвищеною загальна кількість лейкоцитів, спостерігався дегенеративний лейкоцитарний зсув.

Біохімічні дослідження сироватки крові, як і очікувалось, показали підвищення активності досліджуваних ферментів (див. табл.2).

2. Біохімічні показники сироватки крові собак дослідних груп до лікування ($M \pm m$)

Показник	1 група ($n = 7$)	2 група ($n = 7$)
α-амілаза, Од/л (норма < 640)	2546,7 ± 16,3	2497,4 ± 24,5
Панкреатична ліпаза, Од/л (норма < 200)	467,9 ± 9,2	482,5 ± 11,6
Глюкоза, ммоль/л (норма 3,5-7,3)	8,9 ± 1,3	8,5 ± 1,7

На другу добу від початку лікування у крові тварин обох дослідних груп спостерігали зміни у лейкограмі (див. табл. 3)

3. Рівень лейкоцитів та показники лейкограми у крові собак дослідних груп на другу добу лікування ($M \pm m$)

Показник	1 група ($n = 7$)	2 група ($n = 7$)
Лейкоцити, Г/л	17,2 ± 2,8*	15,6 ± 3,1**
<i>Лейкограма, %</i>		
Еозинофіли	5,1 ± 1,8	4,6 ± 1,5
Метамієлоцити	2,0 ± 1,8*	0,8 ± 1,9**
Паличкоядерні	13,6 ± 2,9*	11,3 ± 2,8**
Сегментоядерні	55,9 ± 2,9	57,2 ± 3,4
Лімфоцити	21,6 ± 3,4	24,5 ± 2,7**
Моноцити	1,8 ± 1,5	1,6 ± 1,9

Примітка: * $P \leq 0,05$ відносно показників до лікування; ** $P \leq 0,05$ відносно показників першої дослідної групи

Як видно із таблиці, на другу добу лікування загальна кількість лейкоцитів у крові тварин, яким застосовували лікування внутрішньовенно достовірно зменшилась на 12 %, а у крові тварин, яким застосовували метод направленого транспорту – на 22 %, що на 10 % більше від тварин першої дослідної групи. Також зазнали змін показники лейкограми: у крові тварин першої дослідної групи достовірно зменшилась кількість метамієлоцитів та паличкоядерних форм, у крові тварин другої дослідної групи окрім того збільшилась кількість лімфоцитів, до того ж досліджувані показники достовірно змінились відносно показників крові тварин першої дослідної групи. Індекс запалення склав у середньому для першої групи 3,4 одиниці, для другої – 2,3 одиниці, відповідно.

На другу добу лікування активність ферментів підшлункової залози та рівень глюкози сироватки крові собак зазнав вірогідних змін (див. табл. 4)

4. Біохімічні показники сироватки крові собак дослідних груп до лікування ($M \pm m$)

Показник	1 група ($n = 7$)	2 група ($n = 7$)
α-амілаза, Од/л (норма < 640)	1947,5 ± 18,2*	1565,8 ± 19,7**
Панкреатична ліпаза, Од/л (норма < 200)	395,6 ± 11,4*	311,5 ± 19,7**
Глюкоза, ммоль/л (норма 3,5-7,3)	6,9 ± 1,7*	7,3 ± 2,1

Примітка: * $P \leq 0,05$ відносно показників до лікування; ** $P \leq 0,05$ відносно показників першої дослідної групи

Як видно із таблиці активність α-амілази сироватки крові у собак першої дослідної групи вірогідно знизилась майже на 25 %, а панкреатичної ліпази – на 15 %, що співпадає із більшістю літературних джерел щодо вивчення дії аprotиніну на підшлункову залозу собак. Дослідження сироватки крові собак другої дослідної групи виявило зниження активності α-амілази на 37 %, а панкреатичної ліпази - на 35 %.

Подальший контроль показників крові досліджуваних тварин (5 доба) виявив зменшення інтенсивності запального процесу в обох дослідних групах (див. табл. 5) та зниження активності ферментів підшлункової залози (див. табл. 6).

5. Рівень лейкоцитів та показники лейкограми у крові собак дослідних груп на 5-ту добу лікування ($M \pm m$)

Показник	1 група ($n = 7$)	2 група ($n = 7$)
Лейкоцити, Г/л	17,2 ± 2,8*	15,6 ± 3,1*
<i>Лейкограма, %</i>		
Еозинофіли	5,2 ± 1,4	4,8 ± 1,3

Метамієлоцити	0	0
Паличкоядерні	6,2 ± 2,4*	5,9 ± 2,1*
Сегментоядерні	61,5 ± 3,2*	61,3 ± 3,9
Лімфоцити	25,4 ± 2,9*	26,1 ± 2,5*
Моноцити	1,7 ± 1,7	1,9 ± 1,6

Примітка: *P ≤ 0,05 відносно показників до лікування

6. Біохімічні показники сироватки крові собак дослідних груп на 5-ту добу лікування (M ± m)

Показник	1 група (n = 7)	2 група (n = 7)
α-амілаза, Од/л (норма < 640)	915,6 ± 26,3*	728,5 ± 22,8**
Панкреатична ліпаза, Од/л (норма < 200)	184,1 ± 16,9*	176,8 ± 21,4**
Глюкоза, ммоль/л (норма 3,5-7,3)	5,6 ± 1,3*	5,2 ± 1,7*

Примітка: *P ≤ 0,05 відносно показників до лікування; **P ≤ 0,05 відносно показників першої дослідної групи

Як видно із таблиці 6 активність α-амілази сироватки крові собак обох дослідних груп значно знизилась на 5 добу лікування, однак, так і не дійшла нормативних значень, активність панкреатичної ліпази та рівень глюкози були на рівні нормативних показників.

Висновки і перспективи подальших досліджень. Направлений транспорт апротиніну в аутологічних лейкоцитарних носіях, аналогічно традиційному внутрішньовенному введенню цього препарату собакам, хворим на гострий панкреатит призводить до нормалізації активності ферментів підшлункової залози і усуває запальний процес. Однак, застосування апротиніну методом направленого транспорту забезпечує більш швидке і ефективне лікування собак із гострим панкреатитом, зокрема, за рахунок підвищення місцевого імунітету і, як наслідок, швидку нормалізацію клініко-лабораторних показників. Також, застосування лікарського засобу в аутологічних лейкоцитарних носіях зменшує кратність введення і тривалість застосування препарату.

У нашій подальшій роботі ми плануємо проведення рандомізованих досліджень із застосування клітинно-асоційованої терапії собакам, хворим на гострий панкреатит.

Список літератури

1. Шлапак И. П. Острый панкреатит: профилактика и лечение панкреатической инфекции / И. П. Шлапак, Д. Л. Мищенко, Г. А. Васильев // Клиническая антибиотикотерапия. – 2004. – №4 (30) – С. 10–14.
2. Карпушина И. А. Применение методики направленного транспорта лекарственных веществ в клинической практике / И. А. Карпушина, Т. Ф. Стеблева, Е. Ю. Бонитенко // Рос. биомед. Журн. – 2004. – № 5(12). – С. 404–408.
3. Бурковський М. І. Досвід застосування внутрішньоартеріальної регіонарної інфузійної терапії в комплексному лікуванні гострого панкреатиту /

М. І. Бурковський, В. І. Коваль, А. В. Верба, Р. П. Стащук // Харківська хірургічна школа. – 2010. – № 5 (43). – С. 101–103.

4. Бегдуллаев А. К. Проблема направленного транспорта лекарственных веществ в клинической практике / А. К. Бегдуллаев, А. Т. Маншарипова, А. К. Джусипов [и др.] // Терапевтический вестник – 2008. – Т. 17. – № 1. – С. 32–36.

5. Labro M. T. Effects of anti-infectious agents on polymorphonuclear neutrophils / M. T. Labro, J. El Benna // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 1991. – Vol. 10. – P. 124–131.

6. Гордеев М. С. Опыт лечения больных панкреонекрозом с применением метода экстракорпоральной антибиотикотерапии / М. С. Гордеев, В. И. Тарабарин // IX всероссийский съезд хирургов, Волгоград, 2–22 сент. 2000 г, сборник трудов. – С. 29–30.

7. Бельских А. Н. Фармакокинетика антибактериальных препаратов при проведении сорбционно-аферезных операций экстракорпоральной детоксикации / А. Н. Бельских, В. Б. Потапчук, В. В. Лукин и др. // Ж. Эфферентная терапия – 2003. – Т 9. – № 1. – С. 59–59.

8. Brown A. Can fluid resuscitation prevent pancreatic necrosis in severe acute pancreatitis? / A. Brown, J. D. Baillargeon, M. D. Hughes, et al. // *Pancreatology.* – 2002ю – Vol.2. – P. 104–107.

References

1. Shlapak I. P., Mishchenko D. L., Vasilyev G. A. (2004). Acute pancreatitis: prevention and treatment of pancreatic infection. *Clinical antibiotics. Vol. 4(30).* 1014.

2. Karpushina I. A., Stebleva T. F., Bonitenko E. J. (2004). Application techniques directed transport of drugs into clinical practice. *Rus. Biomed. Jour. Vol. 5(12).* 404-408.

3. Burkovsky M. I., Koval V. I., Verba A.V., Staschuk R. P. (2010). Experience with regional intraarterial infusion therapy in treatment of acute pancreatitis *Kharkov surgical school. Vol. 5(43).* 101-103.

4. Begdullaev A. K., Mansharipova A.T., Dzhusipov A. K. etc. (2008). Problem targeted transport of drugs into clinical practice. *Therapeutic Gazette Vol. 17(1).* 32-36

5. Labro M. T., Benna J. El. (1991). Effects of anti-infectious agents on polymorphonuclear neutrophils. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Vol. 10.* 124–131.

6. Gordeev M. S., Tarabarin V. I. (2000). Experience in the treatment of patients with pancreatic necrosis using the method of extracorporeal antibiotic therapy *IX All-Russian Congress of Surgeons, a collection of works.* 29-30.

7. Bielski A. N., Potapchuk V. B., Lukin V. V., Plock A. N. (2003). Pharmacokinetics of antimicrobial agents during theorption-apheresis operations extracorporeal detoxification. *J. Efferent therapy. Vol. 9(1).* 59-59.

8. Brown A., Baillargeon J. D., Hughes M. D. et al. (2002). Can fluid resuscitation prevent pancreatic necrosis in severe acute pancreatitis? *Pancreatology. Vol.2.* 104-107.

ПРИМЕНЕНИЕ КЛЕТОЧНО-АССОЦИИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ СОБАКАМ С ОСТРЫМ ПАНКРЕАТИТОМ

А. Г. Миластная

Аннотация. В статье приведены результаты исследования применения клеточно-ассоциированной терапии собакам с острым панкреатитом. Обнаружено, что введение больным животным апротинина, методом направленного транспорта на лейкоцитарных носителях приводит к нормализации активности ферментов поджелудочной железы и устраняет воспалительный процесс. Динамику изменений воспалительного процесса определяли с помощью лейкоцитарного индекса, функциональное состояние поджелудочной железы – с помощью определения ее ферментативной активности. Установлено, что сравнительно с традиционным внутривенным применением апротинина, данный метод обеспечивает более быстрое и эффективное лечение собак с острым панкреатитом, в частности за счет повышения местного иммунитета и, как следствие, быструю нормализацию клинико-лабораторных показателей.

Применение собственных клеток крови в качестве контейнеров для лекарственных средств снижает вероятность возникновения побочных эффектов, а также риск возникновения патологических иммунных реакций, направленных против инкапсулированного препарата, позволяет модифицировать фармакокинетические и фармакодинамические параметры лекарственного препарата. Применение апротинина собакам, больным острым панкреатитом, в аутологических лейкоцитарных носителях уменьшает кратность и длительность применения препарата, достоверно снижает активность ферментов поджелудочной железы, уменьшает проявления воспалительного процесса.

Ключевые слова: собаки, острый панкреатит, апротинин, аутолейкоциты, лейкоцитарные носители, направленный транспорт

APPLICATION CELL-ASSOCIATED THERAPY CANINE ACUTE PANCREATITIS

A. G. Milastnaia

Abstract. The results the study application of cell-associated therapy dogs with acute pancreatitis. It has been found that the introduction of sick animals aprotinin method leukocyte directional transport media leads to normalization of the activity of pancreatic enzymes and eliminates the inflammatory process. The dynamics of the changes of the inflammatory process determined by leukocyte index, the functional state of the pancreas - to help determine its enzymatic activity. It is found that compared with conventional intravenous application of aprotinin, this method provides a more rapid and effective treatment of dogs with acute pancreatitis, in particular by

increasing local immunity and, as a consequence, a quick normalization of clinical and laboratory parameters. Use own blood cells as containers for drugs reduces the risk of side effects and risk of pathological immune reactions directed against the drug encapsulated permits modification of the pharmacodynamic and pharmacokinetic parameters of the drug. The use of aprotinin dogs suffering from acute pancreatitis in autologous leukocyte media reduces the multiplicity and duration of the drug significantly reduces the activity of pancreatic enzymes, decreases manifestations of inflammation.

Keywords: dogs, acute pancreatitis, aprotinin, autoleukocyte, leukocyte media, directed transport