

Шурыгина И.А.¹, Аюшинова Н.И.¹, Кинаш И.Н.¹, Чепурных Е.Е.^{1,2}, Шурыгин М.Г.^{1,3}

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗДЕЙСТВИЯ НОВОГО ПРОТИВОСПАЕЧНОГО ПРЕПАРАТА НА ПОКАЗАТЕЛИ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

¹ ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии». Иркутск, Россия
² ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, Иркутск, Россия
³ АО «Фармасинтез» Иркутск, Россия

Настоящее исследование посвящено изучению влияния нового противоспаечного препарата для профилактики спайкообразования на гематологические показатели у экспериментальных животных. Нами не зарегистрировано токсического действия по отношению к костному мозгу, аллергизирующего воздействия при однократном введении препарата. На фоне введения препарата отмечено снижение выраженности воспалительного ответа, улучшение послеоперационных показателей гемоглобина и гематокрита.

Ключевые слова: показатели крови, спайки, брюшная полость

STUDY OF THE EFFECT OF A NEW ANTIADHESIVE AGENT ON PERIPHERAL BLOOD INDICES (EXPERIMENTAL STUDY)

Shurygina I.A.¹, Ayushinova N.I.¹, Kinash I.N.¹, Chepurnykh E.E.^{1,2}, Shurygin M.G.^{1,3}

¹ Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russia
² Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russia
³ Pharmasyntez, J.S.C., Irkutsk, Russia

Adhesive process in the abdominal cavity was simulated in Wistar rats, which were divided into two groups: the main one – simulation of adhesive process in the abdominal cavity and introduction of 3 ml of saline into the abdominal cavity; the controls – simulation of adhesive process in the abdominal cavity and introduction of 3 ml of new antiadhesive preparation.

The mechanism of drug action bases on the ability to inhibit the growth of connective tissue in the adhesion area by effecting the activity of mitogen-activated protein kinases.

Examination of peripheral blood indices was performed at eight time points during the period from 2 hours to 28 days. The concentration of red blood cells in the peripheral blood in both main and control groups decreased moderately in the early postoperative period (2 hours, 6 hours and 12 hours), and this rate was significantly lower in the control group as compared to the main one by 12 hours term. Later the index restored to normal.

Hemoglobin concentration in the peripheral blood was higher in the main group than in the control one, the differences were significant in 2 hours, 3 days, 28 days.

The level of hematocrit in the main group was higher than that in the controls during the entire follow-up period; the difference was maximal to the final term of experiment (28 days).

The level of leukocytes in peripheral blood of the main group rats did not exceed the normal value for the given species of animals throughout the follow-up period.

The number of eosinophils in the peripheral blood of the rodents of both groups did not differ at every period of survey. Thus, the introduction of the drug reduced the severity of leukocyte response to injury, improvement in postoperative hemoglobin and hematocrit levels.

Key words: blood indices, adhesions, abdominal cavity

ВВЕДЕНИЕ

Стремление к сохранению здоровья населения, увеличению продолжительности жизни и улучшению её качества является основным вектором развития биологии, медицины и системы здравоохранения в развитых странах. Наличие современных доступных лекарственных препаратов является основой лечения и профилактики подавляющего большинства болезней современного человека и показателем социального и экономического развития общества [3].

Одной из нерешённых на настоящий момент проблем в хирургии является проблема профилактики и лечения спаечной болезни. Несмотря на многочисленные исследования, в настоящее время по отношению ни к одному существующему методу

лечения и препарату однозначно не доказана его эффективность в предупреждении образования спаек [1, 7, 8, 9]. Поэтому разработка новых способов профилактики спаечной болезни на настоящий момент актуальна.

Достижения современной науки позволяют разрабатывать и использовать для получения новых лекарственных препаратов самые передовые технологии. Однако успешное внедрение в клиническую практику новых методов лекарственного лечения предполагает наличие доказанной в соответствии с современными требованиями высокой степени эффективности и безопасности применения новых лекарств [3].

В настоящем исследовании изучено влияние при однократном внутривнутрибрюшинном введении

перспективного противоспаечного препарата, представляющего собой стерильный водный раствор конъюгата 4-[4-(4-флюорофенил)-2-(4-метилсульфилфенил)-1Н-имидазол-5-пиридина с поливинилимидазолом на гематологические показатели у экспериментальных животных. Ранее в экспериментальных исследованиях препарат продемонстрировал высокую противоспаечную активность [11]. Механизм действия препарата основан на способности подавлять рост соединительной ткани в зоне спайкообразования путём воздействия на активность митогенактивируемых протеинкиназ [5, 6].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под кетаминным наркозом (кетамин 50 мг/кг, дроперидол и атропин) у крыс линии Вистар производили моделирование спаечного процесса в брюшной полости путём вскрытия серозно-мышечного слоя слепой кишки длиной 1 см с последующим ушиванием раны непрерывным самовворачивающимся швом и скарификацию париетальной брюшины правого бокового канала размером 1,5 × 1,5 см [2, 4].

В эксперименте использованы следующие группы животных:

1-я группа – контрольная ($n = 40$). Моделирование спаечного процесса в брюшной полости, введение в брюшную полость физиологического раствора в объёме 3 мл. Исследования проводили на 8 временных точках в сроки от 2 часов до 30 суток.

2-я группа – опытная ($n = 40$). Моделирование спаечного процесса в брюшной полости, введение противоспаечного препарата, раствор 0,41 мг/мл в объёме 3 мл. Исследования проводили на 8 временных точках в сроки от 2 часов до 30 суток.

Все эксперименты на животных выполняли в соответствии с правилами гуманного обращения с животными, которые регламентированы «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. № 755). Все оперативные вмешательства проводили в асептических условиях. Содержание животных проводили в условиях сертифицированного вивария при свободном доступе к пище и воде на рационе питания, соответствующем нормативам ГОСТа. Протокол эксперимента одобрен Комитетом по биомедицинской этике НЦРВХ СО РАМН (протокол № 8 от 09.10.2010 г.).

Для исследования состава периферической крови забирали кровь из хвостовой вены, готовили мазок в виде «метёлки», высушивали, фиксировали метиловым спиртом. Мазки окрашивали по Романовскому – Гимзе. В момент выведения животного из эксперимента производили забор крови в объёме 1 мл крови в пробирку с 0,18 мл 3,8%-го цитрата натрия, аккуратно перемешивали, доставляли в лабораторию для дальнейшего анализа. Анализ образцов производили с использованием полуавтоматического анализатора МЕК-6410 (Nihon Kohden, Япония). Для изучения влияния однократного введения исследуе-

мого препарата на показатели периферической крови определяли количество лейкоцитов, эритроцитов, тромбоцитов, формулу крови, СОЭ, гемоглобин (Hb), гематокрит (HCT), средний объём эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH), среднюю концентрацию гемоглобина в эритроците (MCHC).

В работе применяли следующие методы статистического анализа: вариационный анализ (ANOVA), исследование статистической значимости различий в исследуемых группах (временные ряды) и между группами (критерии Краскела – Уоллиса, Манна – Уитни) [10]. При проведении всех видов статистического анализа критический уровень значимости критериев принимался равным 0,05. Анализ данных проводился с использованием статистического пакета Statistica for Windows v. 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что концентрация эритроцитов в периферической крови в опытной и контрольной группах в ранние сроки после операции (2 часа, 6 часов, 12 часов) умеренно снижалась, причём в срок 12 часов в контрольной группе этот показатель был статистически значимо ниже, чем в опытной ($p = 0,047$). В последующем показатель возвращался к нормальным значениям (рис. 1).

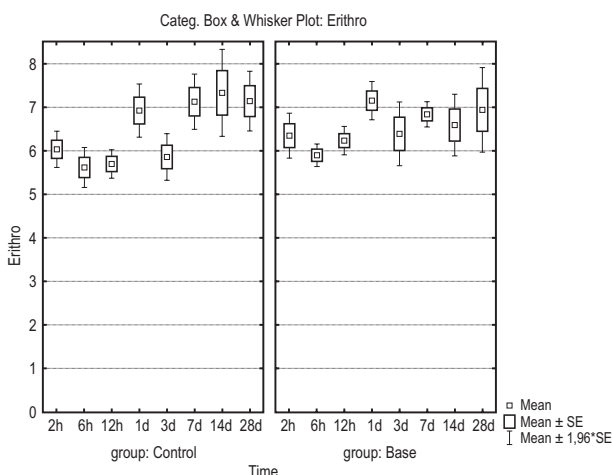


Рис. 1. Динамика концентрации эритроцитов в периферической крови у животных основной и контрольной групп, × 10¹²/л.

Концентрация гемоглобина в периферической крови в основной группе была выше, чем в контрольной, различия были статистически значимы через 2 часа ($p = 0,047$), 3 суток ($p = 0,047$), 28 суток ($p = 0,009$) (рис. 2). И если в ранние сроки данное различие можно объяснить как влиянием экспериментального препарата, так и технологией самого оперативного вмешательства, то на конечной точке эксперимента наиболее вероятным представляется воздействие экспериментального препарата для профилактики спайкообразования.

Уровень гематокрита (HCT) в основной группе был выше, чем в контрольной, в течение всего периода наблюдения, различия достигали максимума к последнему сроку наблюдения (28 суток) – 29,1 [28,4–

30,6] в контрольной группе и 32,7 [30,9–34,7] в основной группе ($p = 0,016$).

Средний объем эритроцита (MCV), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH) в изучаемых группах существенно не различались.

Средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC) в контрольной группе превышала показатели в опытной в сроки 6 часов ($p = 0,043$) и 14 суток ($p = 0,047$).

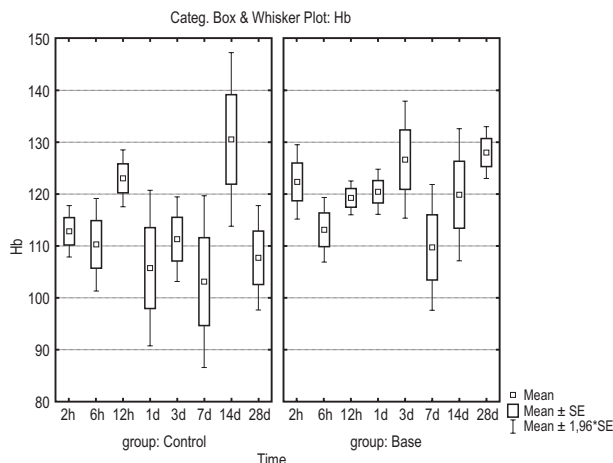


Рис. 2. Динамика концентрации гемоглобина в периферической крови у животных основной и контрольной групп, г/л.

Количество лейкоцитов в периферической крови у животных основной группы не превышало нормальных показателей для данного вида животных в течение всего периода наблюдения ($8-14 \times 10^9/л$). В контрольной группе количество лейкоцитов имело тенденцию к повышению, по сравнению с основной группой, однако статистически значимы различия становились только на 7-е сутки после операции ($p = 0,016$) (рис. 3).

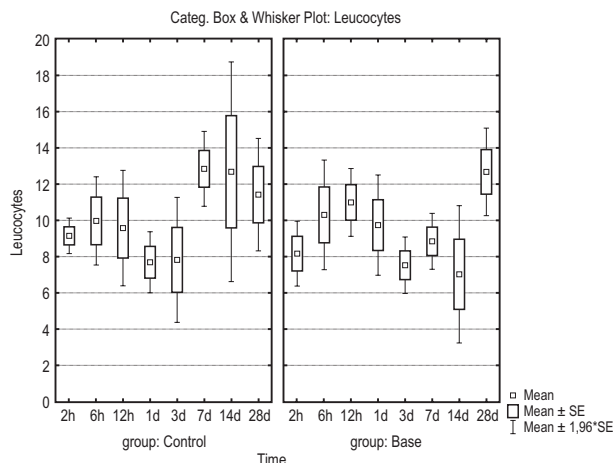


Рис. 3. Динамика концентрации лейкоцитов в периферической крови у животных основной и контрольной групп, $\times 10^9/л$.

Количество гранулоцитов в периферической крови в контрольной группе повышалось, по сравнению с нормальными показателями (13–30 % от всех лейкоцитов периферической крови), уже через

2 часа после оперативного воздействия и сохранялось на повышенном уровне до 12 часов после операции. В основной группе нарастание уровня гранулоцитов в периферической крови запаздывало: через 2 часа после операции отмечен нормальный уровень гранулоцитов, повышение, по сравнению с нормальными показателями, отмечено только через 6 и 12 часов после операции. Статистически значимых различий между основной и контрольной группами не зарегистрировано.

Относительное количество лимфоцитов в периферической крови представлено на рисунке 4, их динамика была противоположной по отношению к динамике гранулоцитов в периферической крови.

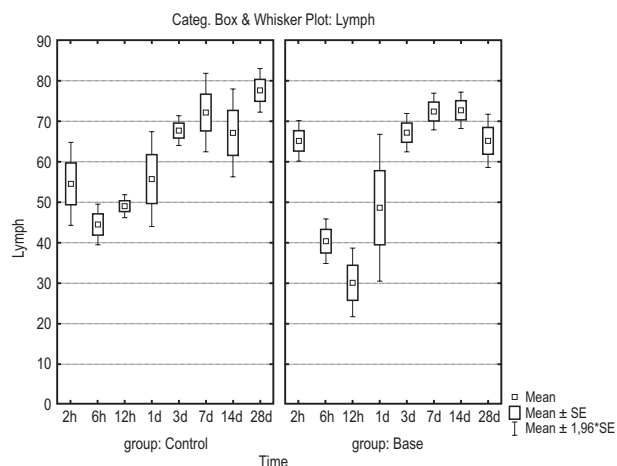


Рис. 4. Динамика количества лимфоцитов в периферической крови у животных основной и контрольной групп, %.

Количество эозинофилов в периферической крови у животных основной и контрольной групп не отличалось во все сроки наблюдения (рис. 5). Превышение нормальных показателей зафиксировано у отдельных животных контрольной группы в срок 3 суток после операции. Приведённые данные свидетельствуют об отсутствии у исследуемого препарата для профилактики спайкообразования аллегризирующих свойств.

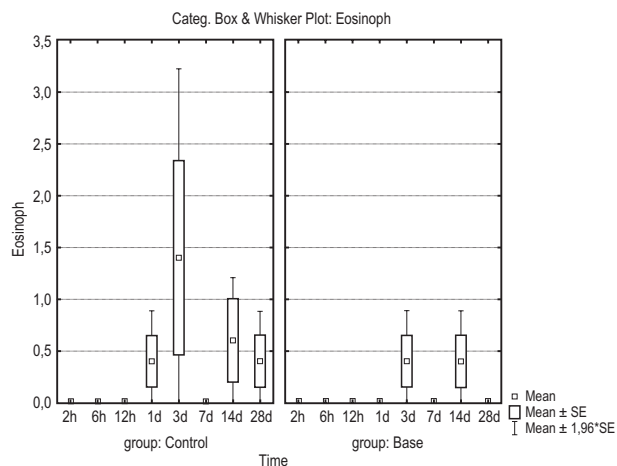


Рис. 5. Динамика количества эозинофилов в периферической крови у животных основной и контрольной групп, %.

СОЭ в периферической крови у экспериментальных животных статистически значимо не различалась между группами в течение всего периода наблюдения (рис. 6).

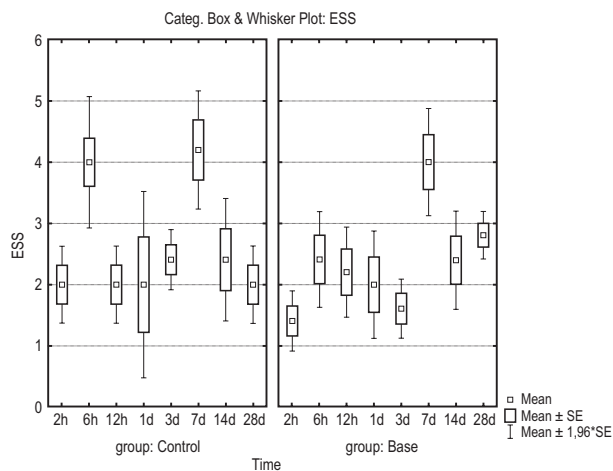


Рис. 6. Динамика скорости оседания эритроцитов в периферической крови животных основной и контрольной групп, мм/ч.

Таким образом, нами не зарегистрировано токсического действия по отношению к костномозговому кроветворению и алергизирующего воздействия изучаемого препарата для профилактики спайкообразования при его однократном внутривентральном введении. На фоне введения препарата отмечено снижение выраженности лейкоцитарной реакции на повреждение, улучшение послеоперационных показателей гемоглобина и гематокрита.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

1. Аюшинова Н.И., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Панасюк А.И. Современные подходы к профилактике спаечного процесса в брюшной полости // Сибирский медицинский журнал. – 2011. – Т. 105, № 6. – С. 16–20.

Ayushinova NI, Shurygina IA, Shurygin MG, Panasyuk AI. (2011). Modern approaches to the prevention of intraperitoneal adhesions [Sovremennyye podkhody k profilaktike spaechnogo protsessa v bryushnoy polosti]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*, 105 (6), 16-20.

2. Аюшинова Н.И., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Лепехова С.А., Балыкина А.В., Малгатаева Е.Р., Попова А.Д., Янкевич С.А. Экспериментальная модель для разработки способов профилактики спаечного процесса в брюшной полости // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 109, N 2. – С. 51–53.

Ayushinova NI, Shurygina IA, Shurygin MG, Lepekhova SA, Balykina AV, Malgataeva ER, Popova AD, Yankelevich SA. (2012). Experimental model for the development of ways to prevent adhesions in the abdominal cavity [Eksperimental'naya model' dlya razrabotki sposobov profilaktiki spaechnogo protsessa v bryushnoy polosti]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*, 109 (2), 51-53.

3. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть 1. – М.: Гриф и К, 2012. – 944 с.

Mironov AN, Bunatyan ND. (2012). Manual on pre-clinical trials of pharmaceutical products. Part 1 [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Chast' 1]. Moskva, 944.

4. Способ моделирования спаечного процесса в брюшной полости: Патент № 2467401 Рос. Федерация; МПК G09B 23/28 (2006.01) / Аюшинова Н.И., Лепехова С.А., Шурыгина И.А., Рой Т.А., Шурыгин М.Г., Зарицкая Л.В., Гольдберг О.А.; заявитель и патентообладатель Учреждение Российской академии медицинских наук Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии Сибирского отделения РАНН (ИЦРХ СО РАНН). – № 2011131678/14; заявл. 27.07.2011; опубл. 20.11.2012. – Бюл. № 32.

Ayushinova NI, Lepekhova SA, Shurygina IA, Roi TA, Shurygin MG, Zaritskaya LV, Goldberg OA. (2012). Method of modeling adhesive process: Patent N 2467401 of the Russian Federation [Sposob modelirovaniya spaechnogo protsessa v bryushnoy polosti: Patent № 2467401 Ros. Federatsiya], (32).

5. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Аюшинова Н.И., Кая О.В. Фибробласты и их роль в развитии соединительной ткани // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 110, № 3. – С. 8–12.

Shurygina IA, Shurygin MG, Ayushinova NI, Kanya OV. (2012). Fibroblasts and their role in the development of connective tissue [Fibroblasty i ikh rol' v razvitiy soedinitel'noy tkani]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*, 110 (3), 8-12.

6. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Зеленин Н.В., Гранина Г.Б. Роль MAP-киназных механизмов в регуляции клеточного роста // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – Т. 89, № 6. – С. 36–40.

Shurygina IA, Shurygin MG, Zelenin NV, Granina GB. (2009). Role of MAP-kinase mechanisms in the regulation of cell growth [Rol' MAP-kinaznykh mekhanizmov v regulyatsii kletochnogo rosta]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*, 89 (6), 36-40.

7. Amid PK. (2002). Hyaluronate does not prevent adhesions. *J. Surg. Res.*, 107 (2), 219-222.

8. Aydin C. (2006). Effect of temporary abdominal closure on colonic anastomosis and postoperative adhesions in experimental secondary peritonitis. *World J. Surg.*, 30 (4), 612-619.

9. Di Zerega GS, Verco SJ, Young P, Kettel M, Kobak W, Martin D, Sanfilippo J, Peers EM, Scrimgeour A, Brown CB. (2002). A randomized, controlled pilot study of the safety and efficacy of 4% icodextrin solution in the reduction of adhesions following laparoscopic gynaecological surgery. *Hum. Reprod.*, 17 (4), 1031-1038.

10. Glantz SA, Slinker BK (2000). Primer of applied regression and analysis of variance. N.Y., 949.

11. Shurygin MG, Shurygina IA. Compounds, pharmaceutical compositions and a method for the prophylaxis and treatment of the adhesion process. *Patent WO2012156938*, March 20, 2014.

Сведения об авторах
Information about the authors

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1; тел. (3952) 29-03-69; e-mail: irinashurygina@gmail.com)

Shurygina Irina Aleksandrovna – Doctor of Medical Sciences, Professor of RAS, Deputy Director for Science of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (664003, Irkutsk, ul. Bortsov Revolyutsii, 1; tel. (3952) 29-03-69; e-mail: irinashurygina@gmail.com)

Аюшинова Наталья Ильинична – кандидат медицинских наук, врач-хирург отделения гнойной хирургии № 1 ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100; тел. (3952) 40-78-74; e-mail: katnatlove@mail.ru)

Ayushinova Nataliya Ilyinichna – Candidate of Medical Sciences, Surgeon at the Unit of Purulent Surgery N 1 of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel. (3952) 40-78-74; e-mail: katnatlove@mail.ru)

Кинаш Ирина Николаевна – кандидат биологических наук, врач лаборатории клинической диагностики ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (тел. (3952) 29-03-50; e-mail: scrrs.irk@gmail.com)

Kinash Irina Nikolaevna – Candidate of Biological Sciences, Doctor at the Laboratory of Clinical Diagnostics of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (tel. (3952) 29-03-50; e-mail: scrrs.irk@gmail.com)

Чепурных Елена Евгеньевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, специалист по учебно-методической работе научно-учебно-организационного отдела ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; тел. (3952) 40-77-19; e-mail: chepurnikh_ee@rambler.ru)

Chepurnykh Elena Evgenyevna – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor at the Department of Hospital Surgery of Irkutsk State Medical University, Specialist in Teaching and Guiding Work at the Scientific, Teaching and Organizational Department of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (664049, Irkutsk, ul. Krasnogo Vosstaniya, 1; tel. (3952) 40-77-19; e-mail: chepurnikh_ee@rambler.ru)

Шурыгин Михаил Геннадьевич – доктор медицинских наук, заведующий научно-лабораторным отделом ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», директор по науке и инновациям АО «Фармасинтез» (664007, г. Иркутск, ул. Красногвардейская, 23, оф. 3; тел. (3952) 550-355; e-mail: shurygin@rambler.ru)

Shurygin Mikhail Gennadyevich – Doctor of Medical Sciences, Head of the Scientific Laboratory Department of Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Director for Science and Innovations of Pharmasyntez, J.S.C. (664007, Irkutsk, ul. Krasnogvardeyskaya, 23, office 3; tel. (3952) 550-355; e-mail: shurygin@rambler.ru)