

ОСОБЕННОСТИ БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА ОКСИЦЕЛАНИМ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОЧАГА ГНОЙНО-ПРОЛИФЕРАТИВНОГО ВОСПАЛЕНИЯ У БЕЛЫХ КРЫС

The paper presents results of investigating morphological and functional characteristics of white rats with underrxn Staphylococcus induced granuloma subjected to surgery with implantation of the drug Oxycelanim into the centre of pyogenic proliferative inflammation. It has been established that this treatment allows to significantly reduce the formation of granuiative-fibrous tissue, to quickly dean the wounds of the pathogenic flora and to normalise overall condition of laboratory animals as well as to activate some factors of unspecific resistance.

Лекарственное средство Оксицеланим предназначено для использования в клинической практике при комплексном лечении и профилактике различных гнойно-септических заболеваний [1, 2]. С химико-фармацевтических позиций создание Оксицеланима означает переход от разработки бинарных лекарственных средств, обладающих длительным патогенетически направленным действием, к внедрению в медицинскую практику многокомпонентных (трех- и более) полимерлекарственных комплексов, составляющие которых в совокупности способны наиболее полно, в том числе и синергически, длительно реализовывать свои фармакотерапевтические свойства со снижением риска проявления возможных побочных эффектов.

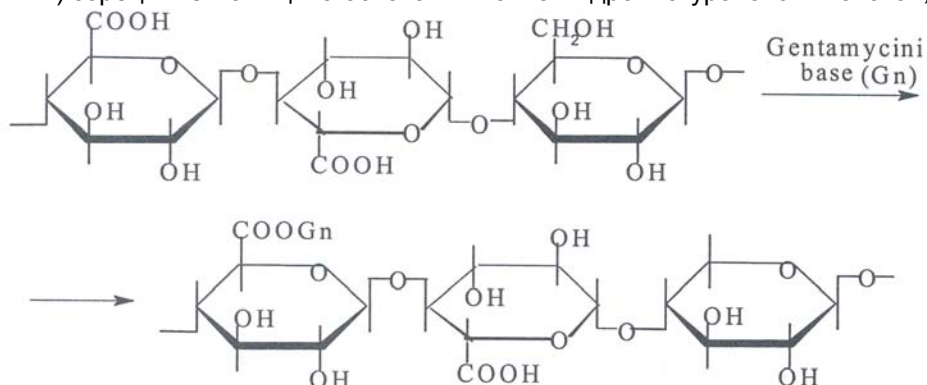
Оксицеланим представляет собой салфетки для местного и имплантационного применения, наделенные гемостатическим, пролонгированными антимикробным и иммуностимулирующим действиями. Антимикробный эффект препарата обусловлен иммобилизованным на полиангидроглюкуроновой кислоте антибиотиком из группы аминогликозидов гентамицином, а иммуностимулирующий - тимогеном (синтетический тимический пептид). В этой связи значительный практический интерес представляет экспериментальное выявление эффектов взаимодействия антибиотика и иммуномодулятора в составе Оксицеланима на модели местного гнойно-пролиферативного воспаления у белых крыс с оценкой влияния препарата на иммунный статус организма.

Доклиническими испытаниями установлено, что Оксицеланим является практически нетоксичным химическим соединением. Его применение не вызывает кумулятивных, местно-раздражающих, сенсибилизирующих и кожно-резорбтивных реакций [3]. Благоприятные результаты токсиколого-фармакологического изучения лекарственного средства позволили рекомендовать его к практическому применению в медицине и промышленному выпуску.

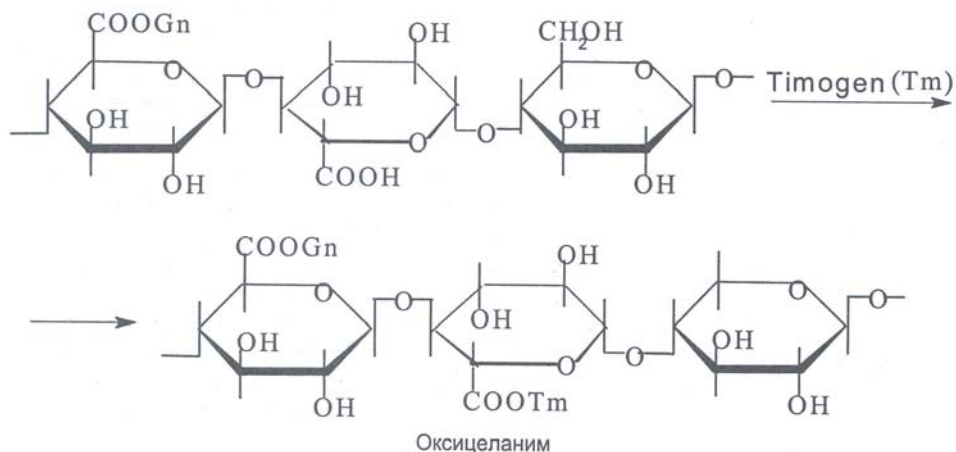
Материал и методика

Экспериментальные исследования проводили с использованием тканевой формы препарата Оксицеланим в виде белых с желтым оттенком салфеток размером 1x1 см, массой ≈ 15 мг, содержащих тимоген и гентамицин в количествах 1,2 мг/см² и 3,5 мг/см² соответственно. Основу Оксицеланима составляет окисленная оксидом азота(IV) целлюлоза (полиангидроглюкуроновая кислота), по карбоксильным группам которой иммобилизованы гентамицин и тимоген. Схематично получение препарата может быть представлено следующим образом:

- 1) сорбция гентамицина основания полиангидроглюкуроновой кислотой;



- 2) сорбция тимогена продуктом взаимодействия гентамицина и полиангидроглюкуроновой кислоты:



Взаимодействие именно карбоксильных групп полиангидроглюкуроновой Кислоты с гентамицином и тимогеном при их сорбции из водных растворов подтверждается результатами ИК-спектроскопии. На ИК-спектрах Оксигеланима по сравнению с ИК-спектром полиангидроглюкуроновой кислоты наблюдается увеличение интенсивности полос поглощения симметричных (1420 см^{-1}) и асимметричных (1600 см^{-1}) валентных колебаний карбоксилат-иона (COO^-) и практически полностью исчезает полоса поглощения C=O карбоксильных групп (1740 см^{-1}), что свидетельствует о солеобразовании. Сопоставление этого факта с количеством гентамицина в препарате Оксигеланим доказывает, что данный антибиотик, содержащий в каждой молекуле пять аминогрупп, сорбируется полиангидроглюкуроновой кислотой по механизму многоточечного электростатического взаимодействия, в котором участвуют все или почти все аминогруппы. Такой тип взаимодействия предполагает сшивку макромолекул целлюлозы, что подтверждается уменьшением степени набухания в воде Оксигеланима по сравнению с исходным немодифицированным носителем.

Медико-биологические эксперименты выполнены на 60 белых рандомных крысах обоего пола массой 180-240 г. Моделирование инфекционного процесса проводили по модифицированному методу Г. Селье [4] путем создания гнойно-воспалительной стафилококковой подкожной гранулемы. Для этого под предварительно лишенную шерстного покрова кожу спины животных вводили 0,5 мл воздуха и через эту же иглу 0,5 мл суточной культуры патогенного стафилококка (*St. aureus*, штамм Lepin, 10^{10} микробных тел в 1 мл) на стерильном изотоническом растворе NaCl.

На стадии формирования гранулемы (3-й сут после инфицирования) животных под гексеналовым наркозом (80 мг/кг внутривенно) подвергали оперативному лечению: над гранулемой выполняли разрез кожи длиной около 2 см, рассекали капсулу гранулемы (гранулемотомия) и наглухо ушивали рану двумя шелковыми швами. В результате создавался очаг хронического гнойно-воспалительного процесса (подкожная гранулема) и первично инфицированная рана.

Животные, подвергнутые гранулемотомии, были разделены на три равные группы. В первой (контрольной) дополнительные лечебные манипуляции не проводились; во второй перед ушиванием раны в полость гранулемы вводился гентамицина сульфат в дозе 3,5 мг; в третьей перед ушиванием раны в полость гранулемы вводили салфетки препарата Оксигеланим, содержащие эквивалентную дозу антибиотика.

Показателями терапевтической активности препарата служили: оценка общего состояния животных, температура и масса их тела, качественный и количественный состав клеток периферической крови [5]. На 5, 10 и 30-е сут после операционного вмешательства животных выводили из опыта, гранулемы извлекали, измеряли их массу и геометрические размеры, в сыворотке крови определяли показатели, характеризующие состояние неспецифической резистентности организма, - бактерицидную активность крови, содержание лизоцима, фагоцитарные функции нейтрофилов (активность и индекс фагоцитоза, индекс и коэффициент переваривания) [6], а также ряд показателей биохимического состояния печени и организма в целом [5].

Результаты и их обсуждение

В течение 30 сут на модели подкожной гранулемы у крыс в сравнительном аспекте изучали эффективность оперативного лечения, сопровождаемого местным применением гентамицина или имплантациями Оксигеланима. Исследованиями установлено, что на 3-й сут после инфицирования у всех животных под кожей возникла типичная стафилококковая гранулема [8]: шарообразное, эластичное образование диаметром от 2,5 до 3,0 см, тесно спаянное с кожей и подлежащими фасциями спинных мышц, средней массой $0,376 \pm 0,07$ г.

В это время у крыс диагностируются повышенная до $39,5 \pm 0,14$ °С температура тела и выраженный лейкоцитоз.

При гранулемотомии срок разрешения гранулемы у животных составляет 15-16 сут, а средняя скорость ее уменьшения в диаметре не превышает 1,2-1,3 мм/сут. Нормализация температуры тела происходит на 8-10-е сут послеоперационного периода, состава лейкоцитов в крови - на 10-е сут, очищение раны от стафилококка - на 12-15-е сут. Сочетанное с гранулемотомией местное применение антибиотика уменьшает сроки разрешения гранулемы до 12-14 сут (скорость уменьшения ее в диаметре составила 1,9-2,0 мм/сут); исчезновение признаков воспаления происходит на 7-8-е сут послеоперационного периода, а культуры стафилококка в раневом содержимом - на 10-12-е сут.

Имплантационное применение при гранулемотомии препарата Оксигелан является наиболее эффективным способом лечения экспериментального инфекционно-пролиферативного очага воспаления. Так, скорость уменьшения в диаметре патологического образования достигает 2,8-3,2 мм/сут, его лизис завершается к 8-10-м сут, а процесс очищения от патогенной микрофлоры - к 7-9 сут. На 5-6-е сут после операции наблюдается нормализация температуры тела, количественного и качественного состава лейкоцитов в периферической крови подопытных животных. Местное применение антибиотика на фоне гранулемотомии на 10-е сут послеоперационного периода приводит к снижению массы гранулемы в 1,21 раза ($p > 0,05$) по сравнению с аналогичными показателями у животных первой группы. В этот же период у крыс, подвергнутых имплантационному лечению препаратом Оксигеланом, масса гранулемы была в 1,95 раза ($p < 0,01$) меньше, чем у животных первой, и в 1,59 раза меньше ($p < 0,05$), чем у крыс второй экспериментальной группы.

При изучении биохимического статуса организма подопытных животных существенных сдвигов в уровне изучаемых показателей во всех экспериментальных группах не выявлено. Отмечены спорадические (только на 5-е сут послеоперационного периода) и незначительные колебания адаптационно-приспособительного характера в активности супероксиддесмутаза в гемолизатах крови и гомогенатах печени животных.

Развитие локального гнойно-пролиферативного очага воспаления, его оперативное и медикаментозное лечение с помощью антибиотика и препарата Оксигелан вызывают ряд сдвигов в иммунобиологическом статусе организма животных.

Так, на 5-е сут у животных из второй и третьих групп наблюдается статистически достоверное увеличение бактерицидной активности сыворотки крови (соответственно на 13,9 и 14,4 %, $p < 0,05$) по сравнению с данным показателем у животных первой (контрольной) группы. В этот же период у животных, получавших только антибиотик (вторая группа), отмечается снижение функциональной активности лизоцима на 11,7 % ($p < 0,05$). В иные сроки послеоперационного периода у всех подопытных животных изменений бактерицидной активности сыворотки крови и активности в ней лизоцима не отмечено.

Изучение антимикробной и поглощательной функций нейтрофилов периферической крови, которая является ведущей для клеток этого класса [7], показывает значительное увеличение фагоцитарной активности при совместном применении хирургического и медикаментозного методов лечения локального очага воспаления у белых крыс (таблица). Так, во все сроки наблюдения фагоцитарная активность нейтрофилов у белых крыс с инфекционной гранулемой, подвергнутых оперативному лечению с имплантационным применением Оксигелана, несколько выше, чем у животных из других экспериментальных групп. Например, индекс и коэффициент перева-

ривания на 10-е сут послеоперационного периода соответственно в 2,3 и 2,5 раза ($p < 0,05$) превышают аналогичные показатели у животных первой (контрольной) группы. Введение в полость гранулемы антибиотика также способствует усилению фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови.

Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови белых крыс, подвергнутых экспериментальной терапии локального инфекционного процесса лекарственным средством Оксигепалим, $M \pm m$

Показатели	Сроки изучения, сутки после гранулемотомии	Группы животных, подвергнутых		
		гранулемотомии	гранулемотомии в сочетании с местным применением гентамицина сульфата	гранулемотомии в сочетании с имплантацией Оксигепалима
Активность фагоцитоза, %	5	66,3 $\pm$ 3,4	64,5 $\pm$ 1,8	66,9 $\pm$ 2,7
	10	68,6 $\pm$ 2,2	69,7 $\pm$ 1,9	64,0 $\pm$ 2,3
	30	69,3 $\pm$ 2,0	70,0 $\pm$ 2,7	72,4 $\pm$ 1,5
Индекс фагоцитоза, усл. ед.	5	1,82 $\pm$ 0,17	2,50 $\pm$ 0,15*	2,60 $\pm$ 0,13*
	10	2,60 $\pm$ 0,17	3,10 $\pm$ 0,13*	3,40 $\pm$ 0,13*
	30	3,70 $\pm$ 0,17	3,70 $\pm$ 0,26	3,90 $\pm$ 0,14
Индекс переваривания, усл. ед.	5	0,33 $\pm$ 0,21	0,67 $\pm$ 0,17	0,78 $\pm$ 0,14
	10	0,81 $\pm$ 0,27	1,72 $\pm$ 0,18*	1,89 $\pm$ 0,14*
	30	1,00 $\pm$ 0,31	1,29 $\pm$ 0,30	1,54 $\pm$ 0,15
Коэффициент переваривания, %	5	14,3 $\pm$ 7,43	25,2 $\pm$ 4,89	28,9 $\pm$ 4,25
	10	21,7 $\pm$ 8,20	46,7 $\pm$ 8,40*	55,1 $\pm$ 2,10*
	30	25,8 $\pm$ 6,40	34,2 $\pm$ 5,90	39,0 $\pm$ 3,40

Примечание.* Статистически достоверные отличия от показателей животных, подвергнутых гранулемотомии, $p \leq 0,05$.

Таким образом, с помощью имплантационного применения Оксигепалима при оперативном лечении очага локального гнойно-пролиферативного воспаления у экспериментальных животных достигается значительное снижение роста грануляционно-фиброзной ткани, быстрая нормализация общего состояния и активизация неспецифической резистентности организма белых крыс.

Развитие иммунодефицитных состояний у больных с гнойно-воспалительными заболеваниями и осложнениями является актуальной проблемой современной клинической медицины [8], поэтому патогенетически обусловленное местное и имплантационное применение лекарственного средства Оксигепалим позволит улучшить эффективность хирургического лечения.

1. Гаин Ю.М., Стельмах В.А., Половинкин Л.В. и др. // Современные технологии в хирургии: Материалы науч.-практ. Конф. Мн., 2002. С. 206.
2. Смирнова Т.А. // Международная научная конференция «Новые лекарственные средства: синтез, технология, фармакология, клиника: Тез. докл. Мн., 2001. С. 135.
3. Половинкин Л.В., Ушков А.А., Гаин Ю.М. и др. // Лекарственные препараты на основе модифицированных полисахаридов: Тез. докл. междунар. науч. конф. Мн., 1993 С. 87.
4. Чернух А.М. Инфекционный очаг воспаления. М., 1965.
5. Лифшиц В.М., Сидельникова В.И. Медицинские лабораторные анализы: Справ. М., 2000.
6. Хаитов Р.М., Гуцин И.С., Зебрев А.И. // Ведомости Фармакол. комитета. 1999. №1. С- 31.
7. Хаитов Р.М., Пинегин Б.В. // Иммунология.2000. №1.С.61.
8. Кириллов В.Н. //Практикующий врач. 1998. № 12. С. 9.

Поступила в редакцию 16.11. 06.

Виктор Александрович Стельмах - кандидат медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник НИИФХП БГУ.

Леонид Васильевич Половинкин - кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией промышленной токсикологии Республиканского научно-практического центра гигиены

Татьяна Лукинична Юрштович - кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией лекарственных средств на основе модифицированных полисахаридов НИИФХП БГУ.

Наталья Степановна Бутрим - младший научный сотрудник лаборатории лекарственных средств на основе модифицированных полисахаридов НИИФХП БГУ.