

Коррекция иммунологических расстройств при использовании противоспаечных профилактических имплантатов в эксперименте

В.А.ЛАЗАРЕНКО, А.И.КОНОПЛЯ, А.И.БЕЖИН, В.А.ЛИПАТОВ, М.С.ГОМОН, А.Л.ЛОКТИОНОВ, В.А.ЖУКОВСКИЙ

Correction of the immunity infringements in use antiadhesive polymeric implants in experiment

V.A.LAZARENKO, A.I.KONOPLYA, A.I.BEZHIN, V.A.LIPATOV, M.S.GOMON, A.L.LOKTIONOV, V.A.ZHUKOVSKY

Курский государственный медицинский университет

Хирургическое вмешательство, особенно проведенное на фоне тяжелого заболевания, наркоз, применение лекарственных веществ, в частности антибиотиков, способствуют развитию иммуносупрессии. При этом спаечная болезнь брюшины является самым частым осложнением полостных операций, приводящим к снижению качества жизни пациентов. По данным некоторых авторов, имплантация наиболее эффективных противоспаечных профилактических средств на основе полимеров целлюлозы также вызывает угнетение неспецифических средств защиты организма. В опытах на белых крысах изучены изменения показателей иммунитета при экспериментальном спаечном процессе брюшной полости и при абдоминальной имплантации профилактического полимерного рассасывающегося средства "Мезогель". Доказана эффективность применения иммуномодуляторов дерината и лонгидазы для коррекции возникающих в послеоперационном периоде иммунологических расстройств.

Ключевые слова: брюшина, спайка, спаечная болезнь, спаечный процесс, брюшная полость, полимер, гель, имплантат, целлюлоза

Deficiency of immunity after every surgical intervention? Which is accompanied with a serious illness, anesthesia, many drugs (antibiotics), develop deficiency of immunity. And adhesive disease of peritoneum is the most frequent complication of surgical operations. In accordance with some scientist, - implantation of the most effective antiadhesive polymeric agents, can be the cause of development deficiency of immunity too. In experiments in white rats were studies indexes of immunity in experimental abdominal adhesive process with implantation of prophylactic agent Mesogel. Were proved by experiments, that immunomodulators. Derinat and Longidasa can correct the disorders of immunity in postoperative period.

Key words: peritoneum, adhesive formations, adhesive illness, adhesive process, abdominal cavity, polymer, gel, implant, cellulose

Профилактика послеоперационного спаечного процесса в брюшной полости (СПБП) является актуальной проблемой современной хирургии, в связи с высокой частотой возникновения спаечной болезни, преимущественным поражением лиц молодого трудоспособного возраста, низкой эффективностью консервативного и хирургического методов лечения, высоким процентом рецидивов адгезивного процесса, частыми осложнениями в виде спаечной кишечной непроходимости, летальность при которой достигает 13-55% [1, 2, 6, 12, 17, 18].

Любое оперативное вмешательство, особенно проведенное на фоне тяжелого заболевания, наркоз, большинство применяемых после этого антибиотиков способствуют развитию иммуносупрессии. При возникающем иммунодефиците угнетаются процессы регенерации, что может способствовать спайкообразованию [9, 16].

Имеющиеся в литературе данные о состоянии и роли иммунитета у больных со спаечным процессом в брюшной полости неоднозначны. Известно, что существует дисбаланс между системной и локальной

продукцией цитокинов, изменяется функциональная активность нейтрофилов и перитонеальных макрофагов [11, 13, 18, 19]. При этом практически не изучены взаимосвязи системного и локального иммунитета, механизмы участия иммунокомпетентных клеток в регуляции репаративных процессов, способы их фармакологической и нефармакологической коррекции.

Одним из перспективных способов, направленных на профилактику послеоперационного спаечного процесса брюшной полости, считается применение барьерных средств, разобщающих раневые поверхности для восстановления морфофункциональной целостности поврежденной во время оперативного вмешательства брюшины [2, 12, 17]. Однако влияние на иммунитет барьерных средств не изучалось, а многочисленные литературные источники свидетельствуют об их иммуносупрессирующей активности [16]. В связи с этим можно предположить, что нарушения иммунитета могут способствовать патологическому спайкообразованию и развитию спаечной болезни.

Таким образом, важным направлением при спаечном процессе брюшной полости является установ-

ление возможности применения и эффективности иммунотропных препаратов. Перспективными для этих целей являются деринат и лонгидаза, обладающие, помимо иммуномодулирующего действия, выраженными регенераторными свойствами.

Цель исследования: оценить иммуно-морфологическую эффективность применения дерината и лонгидазы при экспериментальном спаечном процессе в брюшной полости на фоне использования мезогеля.

Материалы и методы

Эксперименты проводили на 529 здоровых половозрелых крысах линии Вистар, массой 150-200 г. В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария Курского государственного медицинского университета и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний.

Все животные содержались в одинаковых условиях, на обычном пищевом режиме. Для получения статистически достоверных результатов группы

формировали из 10-12 животных. В контрольные и опытные группы входили животные одного возраста, полученные из питомника одновременно. Разброс в группах по исходной массе не превышал $\pm 10\%$. Все исследования проводили в одно и то же время суток, с 8 до 12 ч, с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986) и согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г.).

Расчет дозировок препаратов для введения экспериментальным животным проводили при помощи коэффициентов пересчета доз (мг/кг на мг/м^2) для крысы и человека в зависимости от массы тела по Freireich E.J. (1966). Мезогель вводили в брюшную полость в дозе 10 мг/кг (по таблице DiZerega G.S., Camreau J.D., (2001)). Способы, дозировки и кратность введения препаратов экспериментальным животным представлены в таблице 1.

Таблица 1

Использованные препараты, дозировки, способы и кратность их введения крысам с моделируемым СПБП

Группа животных	Кол-во животных	Введение мезогеля, дерината и лонгидазы	Доза	Способ введения	Кратность введения
Здоровые животные	29	—	—	—	—
Здоровые животные	68	Мезогель	10,7 мл/кг	Внутрибрюшинно	Однократно
Моделирование СПБП	69	—	—	—	—
Моделирование СПБП	74	0,15 М раствор хлорида натрия	10,7 мл/кг	Внутрибрюшинно	Однократно
Моделирование СПБП	70	Мезогель	10,7 мл/кг	Внутрибрюшинно	Однократно
Моделирование СПБП	73	Мезогель	10,7 мл/кг	Внутрибрюшинно	Однократно
		Деринат	1,5 мг/кг	Внутримышечно	Через 24 ч, № 10
Моделирование СПБП	74	Мезогель	10,7 мл/кг	Внутрибрюшинно	Однократно
		Лонгидаза	1500 МЕ/кг	Внутримышечно	Через 72 ч, № 5
Моделирование СПБП	72	Мезогель	10,7 мл/кг	Внутрибрюшинно	Однократно
		Деринат	1,5 мг/кг	Внутримышечно	Через 24 ч, № 10
		Лонгидаза	1500 МЕ/кг	Внутримышечно	Через 72 ч, № 5
Всего	529				

Спаечный процесс брюшной полости воспроизводили асептическим травматическим способом по способу В.А.Липатова (2004). После срединного лапаротомного разреза выполнялось гидравлическое препарирование брюшины вентральной стенки с последующим ее иссечением на площади $1,0 \times 1,0 \text{ см}$, отступая $1,0 \text{ см}$ от края срединной раны; слепая кишка подвергалась скарификации на всей поверхности до появления «кровоав росы» с помощью специального устройства. Животных выводили из опыта путем передозировки наркоза на 3, 7 и 14-е сутки.

Забор крови осуществлялся внутрисердечно, под наркозом. Выделение нейтрофилов проводили на градиенте плотности фиколл-урографина ($\rho=1,078$). Пе-

ритонеальные смывы осуществляли 2 мл среды 199; полученную клеточную взвесь центрифугировали в течение 10 мин. при 1000 об./мин. Полученную в осадке клеточную суспензию исследовали цитологически, культивировали на пластиковых планшетах в стандартных условиях в течение 2 часов. Не прилипшие к пластику клетки удаляли 3-кратным промыванием средой 199, прилипшие клетки, состоящие на 80-85% из перитонеальных макрофагов, использовали для дальнейших исследований.

В качестве антигенов в опытах использовались эритроциты барана (ЭБ). Для развития гуморального иммунного ответа (ГИО) ЭБ вводили внутрибрюшинно однократно из расчета 2×10^9 клеток на 1 кг массы

тела. Выраженность ГИО оценивали на пятые сутки после иммунизации путем определения в селезенке числа антителообразующих клеток (АОК) [5].

Гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ) у крыс индуцировали внутрибрюшинным введением 10^8 ЭБ в 0,5 мл 0,15 М раствора натрия хлорида (сенсibiliзирующая доза). Через 4-о суток в подушечку стопы правой лапки вводили 10^6 ЭБ в 0,1 мл физраствора (разрешающая доза). Спустя 24 ч выделяли регионарный (по месту введения ЭБ) и контрлатеральный подколенный лимфоузлы. О выраженности ГЗТ судили по разнице масс (РМ) регионарного и контрлатерального лимфатических узлов и по разнице количества в них кариоцитов (РК) [10].

Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови и перитонеальных макрофагов оценивалась по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитоза (ИАФ) [8]. Кислородзависимая активность – по реакции восстановления нитросинего тетразолия (НСТ), спонтанной и стимулированной опсонизированным и неопсонизированным зимозаном, а также коэффициентам активации на опсонизированный (КАо) и неопсонизированный (КАн) зимозан, коэффициенту опсонизации (КО) [15].

Морфологические изменения в брюшной полости изучались с использованием визуально-описательного метода и оценки выраженности СПБП методом семантического дифференциала по способу В.А.Липатова (2004). Методика представляет собой систему перевода качественных характеристик СПБП в цифровые значения. Показатели (распространенность процесса, деформация органов брюшной полости и выраженность конкретных видов спаек в соответствии с собственной классификацией) оценивались тремя экспертами, не информированными о сущности эксперимента, но владеющими методикой оценки выраженности спаикообразования (слепое исследование). Полученные средние значения умножались на коэффициенты значимости одноименных показателей, произведения суммировались.

Органы, вовлеченные в СПБП, а также печень, селезенка, лимфатические узлы средостения и брыжейки изымались из трупов экспериментальных животных, фиксировались в 10% буферном растворе нейтрального формалина с последующим изготовлением парафиновых срезов и их окраской гематоксилин-эозином, пикро-сириус красным и по Маллори в модификации Гайденайна.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя непараметрические методы: критерии Вилкоксона-Манна и Уитни, Крускала-Уоллиса, Фридмана, а также коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

Для редукации количества данных был проведен факторный анализ. Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$.

По всем показателям рассчитывали коэффициент диагностической ценности, с его помощью определяли формулу расстройств, путем выбора из всех изученных параметров трех ведущих, наиболее отличающихся от уровня нормы. После расчета степени расстройств для лабораторных показателей, устанавливали рейтинговый алгоритм степени расстройств, для чего исследованные лабораторные показатели выстраивали в порядке снижающейся значимости отличий от заданных значений. Для каждой схемы лечения вычисляли собственные корректирующие эффекты препаратов и сумму показателей степеней коррекции [3].

Результаты и их обсуждение

Одну из важнейших ролей в обеспечении противоинфекционного иммунитета и в развитии гнойных осложнений играет гуморальный иммунный ответ. В связи с этим, первым этапом работы стала оценка влияния мезогеля на формирование ГИО у интактных животных и у крыс со СПБП.

При подсчете количества иммунных АОК в селезенке животных с СПБП оказалось, что на 3-и сутки показатель был таким же, как и в контрольной группе, а его снижение наблюдалось на 7-й и 14-й дни эксперимента. Аналогичные изменения ГИО выявлены у крыс со СПБП, которым, помимо операции, внутрибрюшинно вводился 0,15 М раствор хлорида натрия. Внутрибрюшинное введение мезогеля уже на 3-и сутки приводило к снижению количества АОК, которое продолжало регистрироваться на 7-й и 14-й дни эксперимента. Аналогичная иммуносупрессия установлена у животных с моделью СПБП, получавших мезогель (табл. 2).

Реакция ГЗТ является защитной формой реагирования организма, представляя собой эффекторную фазу специфического клеточного иммунного ответа, опосредованного, в основном, Т-лимфоцитами, их продуктами – цитокинами и привлеченными в качестве эффекторных клеток макрофагами [5, 14].

У животных со СПБП без или с введением 0,15 М раствора хлорида натрия наблюдалось снижение показателей ГЗТ на 3-и и 7-е сутки, с последующей нормализацией их к 14-му дню эксперимента. В группах животных с введением мезогеля и крыс с СПБП, которым вводили мезогель, снижение РМ и РК отмечалось на всех исследуемых сроках.

Развитие адгезивного процесса любой локализации обязательно сопровождается местной воспалительной реакцией, а при воспалительном процессе, в том числе и при асептическом, развивающемся после оперативных вмешательств, из кровеносных сосудов в полость брюшины начинают мигрировать нейтрофильные гранулоциты, вслед за которыми в очаге появляются перитонеальные макрофаги [7, 11].

Перитонеальные макрофаги являются основными регуляторами адгезивного процесса в брюшной по-

Таблица 2

Формирование ГИО у крыс со СПБП и интактных животных после введения мезогеля

Группа животных	АОК		
	Сутки после моделирования СПБП		
	3	7	14
1 – Здоровые	36,7±4,5		
2 – Моделирование СПБП	38,9±1,9	23,3±4,4 ^{*1}	22,4±0,6 ^{*1}
3 – Моделирование СПБП + физраствор	35,1±3,3	25,1±3,5 ^{*1}	22,5±0,8 ^{*1}
4 – Введение мезогеля	17,5±4,1 ^{*1,2}	21,7±3,0 ^{*1}	24,8±2,8 ^{*1}
5 – Моделирование СПБП + мезогель	16,5±2,2 ^{*1-3}	20,9±2,6 ^{*1}	21,4±2,1 ^{*1}

Примечание: 1) * – $p < 0,05$;

2) – цифра рядом со звездочкой указывает на группу, по отношению к которой различия достоверны.

лости. Начиная с 5-х суток, с момента возникновения воспалительного процесса, они сменяют нейтрофилы в патологическом очаге и привлекают фибробласты, которые отвечают за выработку коллагеновых волокон – основного матрикса для спайки. В то же время, при стихании воспалительного процесса макрофаги способны останавливать спайкообразование, выделяя ряд факторов, замедляющих миграцию фибробластов и продукцию ими коллагеновых волокон [13, 19].

Учитывая это, была исследована динамика изменений функциональной активности нейтрофилов периферической крови и перитонеальных макрофагов у экспериментальных животных с СПБП при введении мезогеля.

На 3-и сутки эксперимента у животных с СПБП без или после введения 0,15 М раствора хлорида натрия установлено снижение фагоцитарной активности полиморфноядерных лейкоцитов, причем ФП и ИАФ продолжали оставаться сниженными на всех временных промежутках, а ФЧ нормализовалось с 7-го дня эксперимента. Введение мезогеля интактным животным угнетало все показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови, на 14-й день нормализовалось только ФЧ. Введение мезогеля крысам со СПБП угнетало фагоцитарную активность полиморфноядерных лейкоцитов на всех сроках опыта.

При оценке кислородзависимой активности нейтрофилов у животных с СПБП без или с внутрибрюшинным введением 0,15 М раствора хлорида натрия, с 3-х по 14-е сутки отмечалось снижение показателей НСТ-тестов, за исключением нормальных значений НСТ-ст. неопсонизированным зимозаном на 7-й день. На фоне введения мезогеля интактным животным или крысам со СПБП установлено еще большее снижение кислородзависимой активности нейтрофилов периферической крови на всех сроках эксперимента.

В отличие от полиморфноядерных лейкоцитов, функциональная активность перитонеальных макрофагов у крыс со СПБП оказалась повышенной на исследованных временных промежутках. Аналогичная картина наблюдалась после введения мезогеля интактным животным и у крыс со СПБП, получавших мезогель.

Таким образом, на фоне спаечного процесса брюшной полости установлено угнетение формирования гуморального и клеточного иммунитета, функциональной активности нейтрофилов периферической крови, при повышении активности перитонеальных макрофагов с нормализацией отдельных показателей только на 14-й день после операции. Мезогель оказывает выраженный иммуносупрессорный эффект как при отдельном применении, так и у животных с моделируемым спаечным процессом в брюшной полости. Активность перитонеальных макрофагов, напротив, повышается у крыс с СПБП без и после введения мезогеля. В связи с этим, в комплексном лечении спаечного процесса в брюшной полости необходимо использование препаратов, обладающих не только иммуномодулирующими, но и репаративными свойствами.

На втором этапе работы исследовали эффекты дерината и лонгидазы при экспериментальном спаечном процессе брюшной полости. Введение дерината животным со СПБП на фоне применения мезогеля корректировало число иммунных АОК в селезенке на 3-и и 14-е сутки, не оказывая влияния на их сниженное число на 7-й день эксперимента. Лонгидаза не влияла на сниженные показатели ГИО на всех изученных промежутках времени. Только совместное применение двух препаратов на 3-и и 7-е сутки корректирует, а на 14-е – нормализует развитие ГИО, индуцируемое ЭБ.

При исследовании динамики развития ГЗТ у крыс с СПБП установлено, что деринат оказывает корректирующие эффекты на развитие ГЗТ, начиная с 7-го дня, а лонгидаза – только к 14-м суткам после моделирования СПБП, но не до уровня здоровых животных. После совместного применения дерината и лонгидазы корректирующее влияние на показатели ГЗТ установлено на 3-й и 7-й дни, с последующей нормализацией РК и РМ к 14-м суткам после моделирования СПБП (табл. 3).

Применение дерината у крыс со СПБП на фоне введения мезогеля приводило к постепенной нормализации фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови, начиная с ФП, который нормализовался к 3-му дню, а затем ФЧ и ИАФ – к 14-му.

На фоне введения лонгидазы только на 7-е сутки регистрировался сниженный процент фагоцитирующей

Развитие ГЗТ на ЭБ у крыс со СПБП на фоне применения иммуномодуляторов и мезогеля
(динамика изменений разницы массы лимфоузлов (РМ) и разницы кариоцитов (РК))

Группа животных	Сутки после моделирования СПБП					
	3		7		14	
	РМ	РК	РМ	РК	РМ	РК
1-Здоровые	2,40±0,02	1,90±0,03	—	—	—	—
2-СПБП	1,36±0,14* ¹	0,76±0,20* ¹	1,59±0,21* ¹	0,85±0,12* ¹	1,40±0,22* ¹	0,77±0,04* ¹
3-СПБП +деринат	1,4±0,2* ¹	0,82±0,13* ¹	1,95±0,1* ^{1,2}	1,21±0,08* ^{1,2}	2,03±0,12* ^{1,2}	1,21±0,06* ^{1,2}
4-СПБП +лонгидаза	1,31±0,13* ¹	0,74±0,21* ¹	1,6±0,09* ^{1,3}	0,79±0,1* ^{1,3}	2,1±0,04* ^{1,2}	1,03±0,04* ^{1,2}
5-СПБП +деринат +лонгидаза	1,94±0,11* ¹⁻⁴	1,22±0,1* ¹⁻⁴	2,0±0,03* ¹⁻⁴	1,87±0,09* ¹⁻⁴	2,43±0,04* ²⁻⁴	2,03±0,1* ²⁻⁴

Примечание: 1) * – $p < 0,05$;

2) – цифра рядом со звездочкой указывает на группу, по отношению к которой различия достоверны.

щих клеток и ИАФ, а в остальные сроки фагоцитарная активность не отличалась от показателей здоровых животных. При совместном применении препаратов динамика показателей фагоцитарной активности полиморфноядерных лейкоцитов была почти такой же, как и в группе, получавшей деринат.

При изучении кислородзависимой активности нейтрофилов периферической крови установлено, что применение дерината и лонгидазы как по отдельности, так и совместно на различных сроках частично нормализовало изученные показатели.

Функциональную активность перитонеальных макрофагов ни одна из изученных схем не нормализовала ни на каких сроках; только совместное применение иммуномодуляторов корригировало показатели функциональной активности этих клеток к 14-м суткам эксперимента.

Таким образом, по отдельности деринат и лонгидаза на фоне применения мезогеля оказывают частичные корригирующие эффекты на показатели ГИО, ГЗТ, функциональной активности нейтрофилов периферической крови и перитонеальных макрофагов у крыс со СПБП. Совместное введение препаратов оказалось более эффективным, поскольку в различные сроки нормализует отдельные показатели, а по сравнению с раздельным применением дерината и лонгидазы корригирует их большее число.

Изучение морфологических изменений при моделировании спаечного процесса в брюшной полости и использовании дерината и лонгидазы показало, что после моделирования СПБП на всех сроках исследования у животных отмечалась деформация и вздутость слепой кишки, во всех случаях саесит плоскостной спайкой была связана с вентральной стенкой в месте ее перитонеальной травмы. В группе с моделированием СПБП и последующей его профилактикой мезогелем количество животных с деформацией слепой кишки имело тенденцию к снижению; в 30% случаев

к поверхности слепой кишки были подпаяны пряди сальника и петли тонкой кишки.

В группах с введением дерината, а также лонгидазы у половины животных сохранялась незначительная деформация слепой кишки и только в 20-30% случаев слепая кишка была фиксирована к вентральной стенке в месте ее перитонеальной травмы. При совместном применении дерината и лонгидазы, на фоне внутрибрюшинной имплантации мезогеля, помимо рубцовой деформации слепой кишки в 20% случаев на 3, 7 и 14-е сутки, других признаков спаечного процесса обнаружено не было, саесит практически не отличалась от интактных животных.

При гистологическом исследовании в группе без лечения между вентральной стенкой и слепой кишкой выявлены динамические изменения созревающей волокнистой соединительной ткани с явлениями затухания инфильтративных процессов и прогрессивным неангиогенезом. При изучении слепой кишки и вентральной стенки, подвергшихся травмированию, но не вовлеченных в спаечный процесс, новообразованная брюшина по морфологической структуре не отличалась от таковой у интактных животных и весьма плотно прилежала к мышечной оболочке. Отек и инфильтрация не были выражены на всех сроках.

При изучении было установлено, что наибольшая ее выраженность определялась в группе без лечения (2,5 балла); в остальных группах показатель снижался, и наименьший результат мы получили в группе с совместным применением профилактических средств (0,2 балла) (табл. 4).

Следующим этапом работы стала сравнительная оценка иммуно-морфологической эффективности применения дерината и лонгидазы СПБП. При моделировании СПБП установлено нарушение 6 из 12 изученных показателей в различной степени, причем в формулу расстройств иммунной системы (ФРИС) вошли РМ и АОК со II степенью расстройств и РК –

Таблица 4

Выраженность СПБП в баллах методом семантического дифференциала

Группа животных	M±m	p*	p**	p***
СПБП	2,32±0,14	-	-	-
	1,87±0,18	-	-	-
	2,55±0,22	-	-	-
СПБП + мезогель	0,83±0,23	<0,001	-	-
	0,37±0,25	<0,001	-	-
	0,76±0,18	<0,001	-	-
СПБП + мезогель + деринат	0,76±0,37	<0,001	>0,05	>0,05
	0,27±0,17	<0,001	>0,05	>0,05
	0,36±0,18	<0,001	>0,05	>0,05
СПБП + мезогель + лонгидаза	0,5±0,19	<0,001	>0,05	>0,05
	0,24±0,16	<0,001	>0,05	>0,05
	0,35±0,17	<0,001	>0,05	>0,05
СПБП + мезогель + деринат + лонгидаза	0,23±0,09	<0,001	<0,05	-
	0,16±0,11	<0,001	>0,05	-
	0,2±0,11	<0,001	<0,05	-

Примечание: p* – достоверность различий между группой с СПБП и введением препаратов по отношению к группе с СПБП; p** – достоверность различий между группой с СПБП и введением препаратов по отношению к группе с СПБП на фоне введения мезогеля; p*** – достоверность различий между группой с СПБП и комбинированным применением дерината и лонгидазы по отношению к группам с СПБП и применением дерината и лонгидазы по отдельности.

с I СР. После введения животным со СПБП мезогеля количество нарушенных показателей возрастало до 10 из 12, а ФРИС состояла из ИАФ, РМ и НСТ-ст. опсонизированным зимозаном со II степенью расстройств. Дополнительное включение в схему дерината снижало количество нарушенных показателей до 6, а ФРИС состояла из АОК и РМ со II и КО – с I степенью расстройств. Лонгидаза снижала количество нарушенных показателей до 8 из 12, причем ФРИС включала АОК, РМ и РК со II степенью расстройств. Сочетанное применение трех фармакологических средств снижало количество измененных показателей до 6 из 12, а ФРИС составили АОК и НСТ-ст. опсонизированным зимозаном со II и РК – с I степенью расстройств.

Вычисление суммы собственных корректирующих эффектов показало, что при включении в схему дерината показатель был равен 776, при применении лонгидазы – 552, а при использовании сразу двух препаратов – 1234.

При помощи факторного анализа установлено, что наиболее чувствительными факторами к воздействию использованных схем оказались АОК и ФП. Именно эти показатели являются основными точками приложения влияния дерината и лонгидазы.

После вычисления коэффициентов корреляции Спирмена положительные корреляционные связи обнаружены между степенью выраженности спаечного процесса в брюшной полости и АОК, РК, РМЛ, ФП нейтрофилов и перитонеальных макрофагов, а отрицательные – между кислородзависимой активностью нейтрофилов периферической крови и выраженностью СПБП. Полученные корреляционные связи позволяют рекомендовать для последующего изучения в клини-

ке следующие показатели, с целью установления их связи со степенью выраженности спаечного процесса в брюшной полости и возможности прогнозирования его развития: фагоцитарный показатель нейтрофилов и перитонеальных макрофагов, показатели кислородзависимой активности полиморфноядерных лейкоцитов.

Следовательно, в условиях эксперимента, по возрастанию степени эффективности, препараты можно расположить в следующей последовательности: лонгидаза → деринат → деринат + лонгидаза.

Таким образом, при развитии адгезивного процесса в брюшной полости наблюдаются нарушения иммунитета, которые, в зависимости от степени изменений и выраженности могут приводить к развитию спаечной болезни и ее осложнений. Применение мезогеля в качестве барьерного средства еще больше усугубляет нарушения иммунитета, возникающие при СПБП. Это обстоятельство требует включения иммуномодулирующих препаратов. В настоящем исследовании на экспериментальной модели была установлена высокая иммуномодулирующая и противовоспалительная эффективность дерината и лонгидазы при совместном применении этих препаратов, что обусловлено различными точками приложения их эффектов. Проведенные эксперименты открывают новые перспективы для расширения поиска иммуностропных препаратов с противовоспалительной активностью.

Выводы

1. Развитие спаечного процесса в брюшной полости супрессирует формирование гуморального иммунного ответа, гиперчувствительности замедленно-

го типа, функциональную активность нейтрофилов периферической крови и повышает функцию перитонеальных макрофагов.

2. Введение мезогеля животным со спаечным процессом в брюшной полости дополнительно угнетает гуморальную и клеточную формы иммунного ответа, функциональную активность нейтрофилов периферической крови и не влияет на функцию перитонеальных макрофагов.

3. Введение дерината или лонгидазы, в большей степени их сочетание, на фоне применения мезогеля, нормализует или корректирует показатели иммунной реактивности, функциональной активности нейтрофилов и перитонеальных макрофагов.

4. В условиях экспериментального спаечного процесса на фоне введения мезогеля степень выражен-

ности адгезиогенеза ниже в 3,35 раза, а при сочетанном применении с деринатом и лонгидазой – в 12,4 раза по сравнению с группой животных со спаечным процессом брюшной полости, не получавших мезогеля и препаратов.

5. По степени возрастания иммунокорректирующая и противоспаечная эффективность использованных фармакологических средств располагается в следующей последовательности: мезогель + лонгидаза → мезогель + деринат → мезогель + деринат + лонгидаза.

6. Для прогнозирования развития и оценки выраженности спаечного процесса в брюшной полости наиболее диагностически ценными являются: фагоцитарная функция нейтрофилов и перитонеальных макрофагов, показатели кислородзависимой активности полиморфноядерных лейкоцитов.

Список литературы

1. Андрейцев И.Л., Берелавичус С.В., Горский В.А., Кригер А.Г. Профилактика осложнений при лапароскопических операциях по поводу острой спаечной кишечной непроходимости. Эндоскопическая хирургия 2002; 2; 10.
2. Бебуришвили А.Г., Михин И.В., Воробьев В.А. Лапароскопические операции при спаечной болезни. Хирургия 2004; 6: 27-30.
3. Земсков А.М., Передерий В.Г., Земсков В.М. Иммунокорректирующие препараты и их клиническое применение. Киев: Здоров'я 1994; 239.
4. Конопля А.И., Пискунов С.З., Разиньков С.П., Ерофеева Л.Н. Экспериментальное исследование влияния натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы на иммунологическую реактивность организма. Журн. ушных, носовых и горловых болезней 1986; 3: 13-17.
5. Липатов В.А. Обоснование применения геля метилцеллюлозы для профилактики послеоперационного спаечного процесса брюшной полости: дис. ... канд. мед. наук. Курск 2004: 34-35.
6. Ляхова А.В. Пути профилактики послеоперационного спайкообразования брюшной полости. Вестник экспериментальной и клинической хирургии 2010; 3: 1: 72-81.
7. Мальберг К., Зигль Э. Метод локального гемолиза. Иммунологические методы: пер. с нем. Под ред. Г.Фримеля. М.: Мир 1987: 57-72.
8. Манько В.М., Петров Р.В., Хаитов Р.М. Иммуномодуляция: история, тенденции развития, современное состояние и перспективы. Иммунология 2002; 23; 3: 132-137.
9. Медведев А.Н., Чаленко В.В. Способ исследования погложительной фазы фагоцитоза. Лабораторное дело 1991; 2: 19-20.
10. Разиньков С.П., Конопля А.И., Лазарев А.И. Влияние производных целлюлозы и поливинилового спирта при введении их в верхнечелюстную пазуху на формирование иммунного ответа. Тез. докл. науч.-практ. конф. "Современные методы диагностики и лечения заболеваний верхних дыхательных путей". Курск 1987: 69-72.
11. Симбирцев А.С. Цитокины: классификация и биологические функции. Цитокины и воспаление 2004; 3; 2: 16-21.
12. Слесаренко С.С., Коссодич М.А., Коршунов С.Н. Современные методы хирургического лечения спаечной болезни. Эндоскопическая хирургия 2006; 2: 125-128.
13. Соколов Д.И., Солодовникова Н.Г., Павлов О.В. Исследование цитокинового профиля и ангиогенного потенциала перитонеальной жидкости больных с наружным генитальным эндометриозом. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины 2005; 140; 11: 552-555.
14. Суфияров И.Ф., Матигуллин Р.М., Бакиев И.М. Способ профилактики и лечения спаечной болезни брюшины. Эндоскопическая хирургия 2007; 1: 77-79.
15. Федосеева В.Н., Порядин Г.В., Ковальчук Л.В. и др. Руководство по иммунологическим и аллергологическим методам в гигиенических исследованиях. М. 1993; 320.
16. Щербаков В.И. Применение НСТ-теста для оценки чувствительности нейтрофилов к стимуляторам. Лабораторное дело 1989; 2: 30-33.
17. Ghassan M.S., Diamond M.P. Effect of glucose on the expression of type 1 collagen and transforming growth factor - b1 in cultured human peritoneal fibroblasts. Fertility and Sterility 2003; 79; 1:158-163.
18. Mettler L., Hucke J., Bojahr B. et al. A safety and efficacy study of a resorbable hydrogel for reduction of post-operative adhesions following myomectomy. Hum. Reprod. 2008; 23: 1093-1100.
19. Nasser C., Kotseos K., Zhao Y. et al. Expression of matrix metalloproteinase (MMP-1) and tissue inhibitor of MMP in serosal tissue of intraperitoneal organs and adhesions. Fertility and Sterility 2001; 76; 6: 1212-1219.

Поступила 19.09.2010 г.

Информация об авторах

1. Лазаренко Виктор Анатольевич – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней ФПО, ректор Курского государственного медицинского университета; e-mail: drli@yandex.ru
2. Конопля Александр Иванович – д.м.н., профессор кафедры биологической химии Курского государственного медицинского университета; e-mail: drli@yandex.ru
3. Бежин Александр Иванович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой оперативной хирургии и топографической анатомии Курского государственного медицинского университета; e-mail: drli@yandex.ru
4. Липатов Вячеслав Александрович – к.м.н., доцент кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии Курского государственного медицинского университета; e-mail: drli@yandex.ru
5. Гомон Марина Сергеевна – к.м.н., ассистент кафедры анатомии человека Курского государственного медицинского университета; e-mail: drli@yandex.ru
6. Локтионов Алексей Леонидович – к.м.н., ассистент кафедры хирургических болезней №2; e-mail: drli@yandex.ru
7. Жуковский Валерий Анатольевич – кандидат химических наук, научный руководитель ООО «Линтекс», г. Санкт-Петербург; e-mail: drli@yandex.ru