

Г. В. Зайченко<sup>1</sup>, М. О. Стахорська<sup>2</sup>, О. В. Файзуллін<sup>2</sup>

## Лейкоцитарна реакція в білих щурів за умов моделювання хронічної анальної тріщини та лікування ректальним кремом комбінованого складу

<sup>1</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ<sup>2</sup>Національний фармацевтичний університет, м. Харків

*Ключові слова: хронічна анальна тріщина, ректальний крем, лейкоцитарна реакція*

Хронічна анальна тріщина зустрічається в 1–2 % дорослого населення розвинених країн, за деякими даними частота виникнення анальної тріщини складає 20–23 випадки на 1000 дорослого населення, і понад третини хворих припадає на людей працездатного віку. Питома вага пацієнтів з анальними тріщинами серед хворих колоректального профілю за даними різних авторів становить від 8,5 до 16,0 %, а за поширеністю серед колоректальних захворювань поступається лише геморою та коліту [1–5]. Спеціалісти визнають, що лікування гострих та хронічних анальних тріщин необхідно починати з призначення засобів «медикаментозної сфінктеротомії». Такий підхід є достатньо ефективним і значно зменшує частоту оперативних втручань [6–8]. Зазвичай препарати, що використовуються з цією метою містять у своєму складі нітрати, блокатори кальцієвих каналів або ботулотоксин [9–11]. Вітчизняна фармацевтична промисловість зовсім не випускає препаратів зазначеної спрямованості дії. Отже, розробка та впровадження в клінічну практику таких засобів може розглядатися як одна з актуальних проблем вітчизняної фармакології та фармації.

*Мета дослідження* – вивчення лікувальної дії ректального крему комбінованого складу (РККС) на моделі хронічної анальної тріщини в щурів та особливостей лейкоцитарної реакції в піддослідних тварин за умов модельної патології та на фоні лікування.

**Матеріали та методи.** Досліджуваний крем розроблений колективом співробітників НДІ монокристалів НАН України під керівництвом доктора фармацевтичних наук, професора М. О. Ляпунова. Він містить як активні фармацевтичні інгредієнти дилтіазем, лідокаїн і метилурацил. Препарат пропонується для лікування проктологічних захворювань, зокрема, анальної тріщини.

Дослідження проведено на 48 білих нелінійних щурах-самицях, що були розподілені на 4 експериментальні групи (по 12 тварин у кожній): інтактні тварини; група контрольної патології; тварини з хронічною анальною тріщиною, лікування яких здійснювали досліджуваним препаратом; тварини з хронічною анальною тріщиною, лікування яких здійснювали препаратом порівняння «Проктозан».

Хронічну анальну тріщину відтворювали за допомогою методики, що була запропонована Р. Ф. Адієвим та співавт. [12]. Сутність методики полягала в тому, що по задній стінці анального каналу в області переходу шкіри в анoderму в підслизову оболонку анального каналу вводиться 0,7 мл розчину, що складається з суміші: 2 частин скипидару і 1 частини 2 % розчину новокаїну. Утворений уздовж анального каналу інфільтрат прошивають шовком стібком завдовжки 10 мм і глибиною 2–3 мм до внутрішнього сфінктера. Кінці ниток щільно зав'язують для прорізання тканин. Додатково під шов на глибину 0,5–0,7 мм вводять 0,3–0,4 мл суміші розчину скипидару з новокаїном. Лікування починали через 24 год після відтворення анальної тріщини. Досліджуваний крем та препарат

порівняння вводили в анальний канал за допомогою інсулінового шприца – 0,3 мл один раз на одну добу протягом 14 днів.

Оцінку розвитку патології та ефективність лікування РККС проводили за показниками лейкоцитарної відповіді на 14 добу експерименту. З цією метою підраховували загальну кількість лейкоцитів у камері Горяєва та лейкоцитарну формулу в абсолютному (профіль Машковського) і відносному (лейкограма) вираженні [13]. З метою більш глибокого аналізу змін лейкоцитарного профілю крові піддослідних тварин були використані деякі розрахункові коефіцієнти: індекс зсуву лейкоцитів крові (ІЗЛК) та індекс Кребса (ІК) [14] обчислювалися за наступними формулами з урахуванням видових особливостей лейкоцитарної ланки імунітету піддослідних тварин:

$$\text{ІЗЛК} = \frac{\text{Е} + \text{Б} + \text{Н} (\text{С} + \text{П} + \text{Мц} + \text{Юн})}{\text{Лімф} + \text{Мон}};$$

$$\text{ІК} = \frac{\text{П} + \text{С}}{\text{Лімф}};$$

де Е – еозинофіли, Б – базофіли, Лімф – лімфоцити, Н – нейтрофіли, П – паличкоядерні, С – сегментоядерні, Мц – мієлоцити, Юн – юні форми, Мон – моноцити.

Дослідження проведені відповідно до положень «Директиви Європейського союзу 2010/63/EU про захист тварин, які використовуються для наукових цілей» [15].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою непараметричних методів статистики (критерій Манна-Уїтні) [16].

**Результати та їх обговорення.** На 14 добу експерименту в тварин з хронічною анальною тріщиною відзначався лейкоцитоз, вираженість якого суттєво відрізнялась у тварин різних експериментальних груп (таблиця, рис. 1). Так, у нелікованих тварин з хронічною анальною тріщиною вміст лейкоцитів в периферичній крові в 1,6 разу перевищував значення цього показника в групі тварин інтактного контролю. Лейкоцитарна реакція в щурів з групи контрольної патології характеризувалася наступни-

Таблиця

*Показники лейкоцитарної відповіді в щурів за умов хронічної анальної тріщини, впливу ректального крему комбінованого складу та препарату порівняння «Проктозан»*

Експериментальна група	Загальна кількість лейкоцитів, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Паличкоядерні нейтрофіли, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Сегментоядерні нейтрофіли, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Еозинофіли, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Моноцити, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Лімфоцити, ( $\times 10^9/\text{л}$ )	Мієлоцити, ( $\times 10^9/\text{л}$ )
Інтактний контроль	17,67 ± 1,17	0,05 ± 0,03	2,00 ± 0,24	0,38 ± 0,06	0,22 ± 0,03	15,03 ± 1,01	0 ± 0
Контрольна патологія	28,96 ± 1,87*	0,20 ± 0,07*	6,62 ± 0,85*	0,47 ± 0,18	1,44 ± 0,16*	20,23 ± 1,41*	0 ± 0
Ректальний крем комбінованого складу	20,25 ± 2,28**	0,07 ± 0,05	3,35 ± 0,49*/**	0,37 ± 0,15	0,87 ± 0,16*	15,60 ± 1,76**	0 ± 0
Проктозан	25,60 ± 1,67*	0,11 ± 0,07*	4,62 ± 1,01	0,58 ± 0,23	0,93 ± 0,11*	19,36 ± 1,55*	0 ± 0

*Примітка. Тут і на рис. 2: \*відхилення достовірне відносно групи інтактного контролю, \*\*відхилення достовірне відносно групи контрольної патології.*

ми особливостями: рееструвався виражений нейтрофіліоз (абсолютна кількість нейтрофілів перевищувала показники інтактних тварин більше ніж у 3 рази). Крім того, спостерігали значне зростання кількості моноцитів як абсолютної, так і відносної, що, ймовірно, може бути свідченням хронізації запалення. Кількість еозинофілів практично не змінювалася. Лімфоцитарна ланка лейкоцитарної реакції характеризувалася помірним зростанням абсолютної кількості лімфоцитів, втім спостерігали помітне (на 18 %) зменшення відносної кількості лімфоцитів, що вочевидь пояснюється багаторазовим збільшенням кількості нейтрофілів.

Застосування досліджуваного крему протягом 14 днів супроводжувалося зниженням загальної кількості лейкоцитів приблизно на 30 % порівняно з нелікованими тваринами, при цьому відмінність щодо групи інтактного контролю не мала статистично достовірного характеру. У той самий час застосування препарату порівняння «Проктозан» не супроводжувалося статистично значущим відносно групи контрольної патології зменшенням кількості лейкоцитів. На фоні терапії, яка проводилася, відбувався також перерозподіл компонентів лейкоцитарної формули. Так, у разі застосування РККС кількість сегментоядерних нейтрофілів зменшувалася вдвічі. Суттєво знижувався показник абсолютної кількості моноцитів, та значень фізіологічної норми набував показник лімфоцитів. Застосування препарату «Прокто-

зан» практично не впливало на жодну ланку лейкоцитарної реакції.

Більш конкретно сутність зазначених змін можна тлумачити на підставі порівняння розрахункових лейкоцитарних індексів (рис. 2). Так, у тварин з групи контрольної патології відзначали підвищення ІЗЛК більше ніж у 2 рази порівняно з інтактним контролем. Його збільшення зумовлене значним нейтрофіліозом і свідчить про активний розвиток системного запального процесу. У разі застосування досліджуваного крему з дилтіаземом у тварин з хронічною анальною тріщиною показник ІЗЛК зменшувався відносно групи контрольної патології на 31 %, що відображає зниження активності запальної реакції на фоні терапії. У той самий час застосування препарату порівняння «Проктозан» не призводило до статистично значущого зменшення ІЗЛК. Необхідно зазначити, що ІЗЛК не завжди відповідає тяжкості ендогенної інтоксикації, тому завжди повинен розглядатися в комплексі з показниками ендогенної інтоксикації. З цієї метою розраховували індекс Кребса, який за даними багатьох дослідників об'єктивно відображає ступінь інтоксикації, хоча він і не отримав значного поширення в клінічній практиці, оскільки не враховує зміни всіх елементів лейкоцитарної формули [14]. Так, значення ІК у тварин групи контрольної патології зростало в 2,5 рази порівняно з інтактним контролем, що дозволяє оцінювати ступінь ендогенної інтоксикації як помірний. У разі застосування РККС також спостерігали зменшення показника ІК

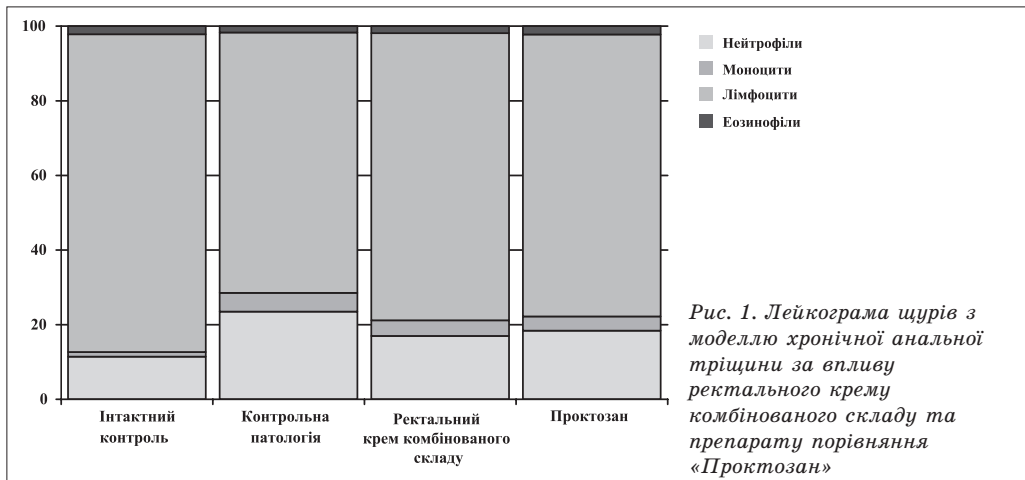
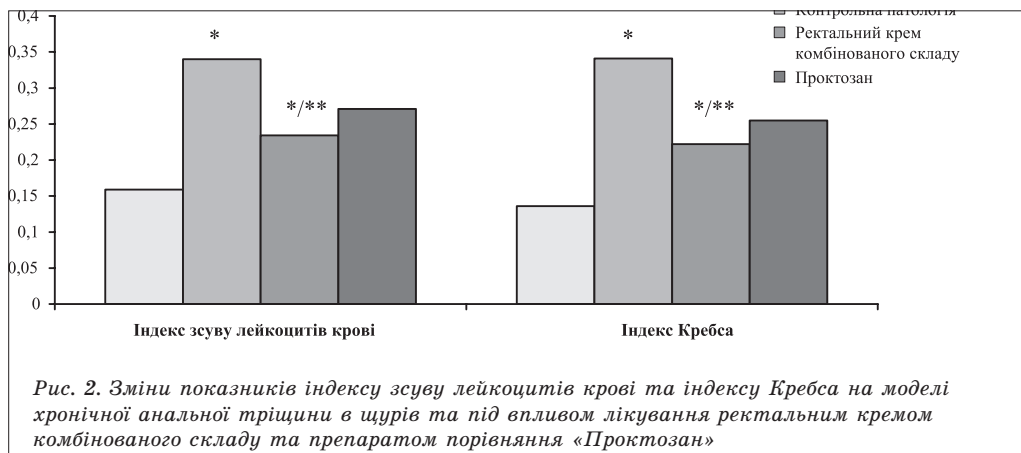


Рис. 1. Лейкограма щурів з моделлю хронічної анальної тріщини за впливу ректального крему комбінованого складу та препарату порівняння «Проктозан»



на 35 % порівняно з групою контрольної патології, а застосування мазі «Проктозан» не призводило до статистично значущого зменшення ІК. Односпрямована динаміка змін показників ІЗЛК та ІК дозволяє зробити висновки щодо зменшення проявів системного запального процесу в тварин з хронічною анальною тріщиною та підтвердити ефективність терапії зазначеної патології РККС.

## Висновки

1. Аналіз показників лейкоцитарної відповіді свідчить, що на фоні хронічної анальної тріщини в піддослідних тварин розвивається помірний лейкоцитоз, обумовлений підвищен-

ням абсолютної кількості всіх типів клітин, і, у першу чергу, нейтрофілів – це віддзеркалюється зростанням індексу зсуву лейкоцитів крові. Рівень ендогенної інтоксикації в піддослідних тварин на фоні хронічної анальної тріщини також можна охарактеризувати як помірний, про що свідчить зростання індексу Кребса.

2. Лікування хронічної анальної тріщини РККС супроводжується регресією лейкоцитозу, зменшенням ознак запалення та проявів ендогенної інтоксикації. За впливом на перебіг хронічної анальної тріщини в щурів, зокрема на показники лейкоцитарної реакції, РККС переважав препарат порівняння «Проктозан».

1. Воробьев Г. И. Основы колопроктологии / Г. И. Воробьев. – Ростов-на-Дону : Феникс, 2001. – 414 с.
2. Крылов, Н. Н. Хроническая анальная трещина / Н. Н. Крылов // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2008. – № 1. – С. 5–11.
3. Ривкин В. Л. Руководство по колопроктологии / В. Л. Ривкин, А. С. Бронштейн, С. Н. Файн. – Москва : Изд-во «Медпрактика», 2001. – 300 с.
4. Семионкин Е. И. Колопроктология / Е. И. Семионкин. – Москва : ИД Медпрактика-М, 2004. – 224 с.
5. Clinical Practice Guideline for the Management of Anal Fissures / D. B. Stewart Sr, W. Gaertner, S. Glasgow [et al.] // Dis. Colon Rectum. – 2017. – V. 60, № 1. – P. 7–14.
6. Are we following an algorithm for managing chronic anal fissure? A completed audit cycle / N. Farakas, K. Solanki, A. E. Frampton [et al.] // Ann Med Surg (Lond). – 2015. – V. 5, № 25. – P. 38–44.
7. Conservative and surgical treatment of chronic anal fissure: prospective longer term results / P. Sileri, V. M. Stolfi, L. Franceschilli [et al.] // J. Gastrointest Surg. – 2010. – V. 5, № 14. – P. 773–780.
8. Long-term prospective randomised clinical and manometric comparison between surgical and chemical sphincterotomy for treatment of chronic anal fissure / H. M. Abd Elhady, I. H. Othman, M. A. Hablus [et al.] // S Afr J. Surg. – 2009. – V. 4, № 47. – P. 112–114.
9. Partial lateral internal sphincterotomy versus combined botulinum toxin A injection and topical diltiazem in the treatment of chronic anal fissure: a randomized clinical trial / H. Gandomkar, A. Zeinodini, R. Heidari, H. A. Amoli // Dis Colon Rectum. – 2015. – V. 2, № 58. – P. 228–234.
10. Non surgical therapy for anal fissure / R. L. Nelson, K. Thomas, J. Morgan, A. Jones // Cochrane Database Syst Rev. – 2012. – CD003431.
11. Schlichtemeier S. Anal fissure / S. Schlichtemeier, A. Engel // Aust Prescr. – 2016. – V. 1, № 39. – P. 14–17.
12. Экспериментальная модель хронической анальной трещины / Р. Ф. Адиев, Д. С. Куклин, Х. И. Латыпов [et al.] // Весник молодых ученых республики Башкортостан. – 2012. – № 5. – С. 5–8.

13. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник; под ред. В. В. Меньшикова. – Москва, 1987. – С. 310–311.
14. Сперанский И. И. Общий анализ крови — все ли его возможности исчерпаны? Интегральные индексы интоксикации как критерии оценки тяжести течения эндогенной интоксикации, ее осложнений и эффективности проводимого лечения / И. И. Сперанский, Г. Е. Самойленко, М. В. Лобачева // Острые и неотложные состояния в практике врача. – 2009. – Т. 19, № 6 – С. 37–45.
15. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. // Official Journal of the European Union. – 2010. – L276. – P. 33–79.
16. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – [3-е изд.]. – Москва : МедиаСфера, 2006. – 312 с.

**Г. В. Зайченко, М. О. Стахорська, О. В. Файзуллин**  
**Лейкоцитарна реакція в білих щурів за умов моделювання хронічної анальної тріщини та лікування ректальним кремом комбінованого складу**

На моделі хронічної анальної тріщини в щурів було проведено порівняльне вивчення впливу ректального крему комбінованого складу, розробки НДІ монокристалів НАН України, та препарату «Проктозан» на показники лейкоцитарної відповіді.

Встановлено, що на фоні хронічної анальної тріщини в піддослідних тварин розвивається помірний лейкоцитоз, обумовлений підвищенням абсолютної кількості всіх типів клітин, і, у першу чергу, нейтрофілів. Рівень ендогенної інтоксикації в піддослідних тварин на фоні хронічної анальної тріщини також можна охарактеризувати як помірний. Застосування ректального крему комбінованого складу на фоні хронічної анальної тріщини супроводжується регресією лейкографічних критеріїв запалення та проявів ендогенної інтоксикації. Встановлено також, що за впливом на виразність запальної реакції та ендогенної інтоксикації досліджуваний крем виявляв очевидну перевагу перед препаратом порівняння «Проктозан».

*Ключові слова: хронічна анальна тріщина, ректальний крем, лейкоцитарна реакція*

**А. В. Зайченко, М. А. Стахорская, А. В. Файзуллин**  
**Лейкоцитарная реакция у белых крыс в условиях моделирования хронической анальной трещины и лечения ректальным кремом комбинированного состава**

На модели хронической анальной трещины у крыс было проведено сравнительное изучение влияния ректального крема комбинированного состава разработки НИИ монокристаллов НАН Украины, и препарата «Проктозан» на показатели лейкоцитарного ответа.

Установлено, что на фоне хронической анальной трещины у подопытных животных развивается умеренный лейкоцитоз, обусловленный повышением абсолютного количества всех типов клеток, и в первую очередь, нейтрофилов. Уровень эндогенной интоксикации у подопытных животных на фоне хронической анальной трещины также можно охарактеризовать как умеренный. Применение ректального крема комбинированного состава на фоне хронической анальной трещины сопровождается регрессией лейкографических критериев воспаления и проявлений эндогенной интоксикации. Установлено также, что по влиянию на выраженность воспалительной реакции и эндогенной интоксикации исследуемый крем имеет очевидное преимущество перед препаратом сравнения «Проктозан».

*Ключевые слова: хроническая анальная трещина, ректальный крем, лейкоцитарная реакция*

**G. V. Zaychenko, M. O. Stakhorskaya, O. V. Faizullin**  
**Leukocytic reaction in rats under chronic anal fissure and treatment by combined rectal cream**

Comparative studying of effect of combined rectal cream and «Proktozan» on indicators of the leukocytic response under chronic anal fissure in rats was carried out. It was established that chronic anal fissure followed to moderate leukocytosis in experimental animals. The leukocytosis caused by increasing of absolute counts of all cell-types and first of all neutrophils. The level of endogenous intoxication in experimental animals can also be characterized as moderate. Use of combined rectal cream under chronic anal fissure followed by regression of inflammation and endogenous intoxication signs. It also was established that combined rectal cream has advantages over «Proktozan» effect by indicators of the leukocytic response and endogenous intoxication under chronic anal fissure in rats.

*Key words: chronic anal fissure, rectal cream, leukocytic reaction*

*Надійшла: 12 травня 2017 р.*

**Контактна особа:** Зайченко Ганна Володимирівна, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, буд. 34, просп. Перемоги, м. Київ. Тел.: +38 0 99 124 32 20.