

ВЛИЯНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, ДЕПОНИРОВАННЫХ В СРЕДСТВЕ «МЕЗОГЕЛЬ», НА ЕГО ПРОТИВОСПАЕЧНУЮ АКТИВНОСТЬ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Звягин И.Н.¹, Фролова О.Г.¹, Липатов В.А.¹, Хвостовой В.В.¹, Инархов М.А.¹

¹ГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, e-mail: kurskmed@mail.ru

Спаечная болезнь брюшины остается одним из распространенных хирургических заболеваний брюшной полости. Отдельного внимания заслуживают пациенты, прооперированные по поводу злокачественных опухолей брюшной полости и органов малого таза. Перитонеальный канцероматоз остается наиболее опасным осложнением и является одной из причин смерти пациентов с онкологическими заболеваниями брюшной полости, зачастую это связано с развитием метастатической (канцероматозной) кишечной непроходимости в сочетании со спайками брюшной полости. В настоящий момент для профилактики спаечного процесса в брюшной полости используются средства, обладающие доказанным «барьерным» эффектом, в частности противовоспалительное средство «Мезогель». Изучение возможности одновременной профилактики спайкообразования в брюшной полости, предупреждения канцероматоза брюшины в сочетании с системным применением препарата с антиоксидантной, противоишемической активностью у пациентов онкологического профиля является актуальным вопросом онкологической хирургии. В ходе экспериментального исследования на крысах-самцах линии Вистар на модели спаечного процесса брюшной полости показано, что введение в структуру «Мезогеля» цисплатина в дозе 4 мг/кг не вызывает повреждения мезотелиальных клеток брюшины, не влияет на выраженность противовоспалительных свойств «Мезогеля». Оценка выраженности спаечного процесса брюшной полости проводилась по разработанной методике семантического дифференциала. Также выявлено, что применение препарата «Мексикор» в дозе 60 мг/кг в эксперименте не влияет на степень абдоминальной адгезии противовоспалительного средства «Мезогель».

Ключевые слова: цисплатин, спаечный процесс брюшной полости, противовоспалительное средство «Мезогель», внутрибрюшное введение цитостатика.

EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECTIVENESS OF THE DRUG PROTIVOKRAZHNOGO "MESOGEL" DEPOSITED FORMS OF CYTOSTATICS

Zvyagin I.N.¹, Frolova O.G.¹, Lipatov V.A.¹, Khvostovoy V.V.¹, Inarkhov M.A.¹

¹Kursk state medical university Ministry Of Health Of Russia, Kursk, e-mail: kurskmed@mail.ru

Adhesive disease of the peritoneum remains one of the most common surgical diseases of the abdominal cavity. Individual attention should be paid to patients operated on for malignant tumors of the abdominal cavity and pelvic organs. Peritoneal carcinomatosis remains the most dangerous complication, and is one of the causes of death in patients with cancer of the abdominal cavity, often due to the development of metastatic (carcinomatous) intestinal obstruction in combination with adhesions of the abdominal cavity. At the moment, for the prevention of adhesions in the abdominal cavity, means are used that have a proven "barrier" effect, in particular the anti-adhesive agent "Mesogel". The study of the possibility of simultaneous prevention of adhesions in the abdominal cavity, prevention of peritoneal carcinoma in combination with systemic use of the drug with antioxidant, anti-ischemic activity in cancer patients is a pressing issue of oncological surgery. In an experimental study on male Wistar rats on the adhesions model of the abdominal cavity, it was shown that the introduction of cisplatin at a dose of 4 mg / kg into the Mesogel structure does not cause damage to the peritoneal mesothelial cells and does not affect the severity of Mesogel. Evaluation of the severity of adhesions of the abdominal cavity was carried out according to the developed method of semantic differential. It was also found that the use of the drug "Mexicor" at a dose of 60 mg / kg in the experiment does not affect the degree of abdominal adhesion of the adhesion agent "Mesogel".

Keywords: Cisplatin, abdominal adhesions, "Mesogel", intraperitoneal introduction of a cytostatic agent.

Спаечная болезнь брюшины (СББ) остается одним из распространенных хирургических заболеваний живота. Ежегодно по поводу острой спаечной кишечной непроходимости в хирургических стационарах лечится не менее 2-10% ранее оперированных

больных [1, с. 17].

С учетом неоспоримого факта, что в процессе формирования спаек значительная роль отводится адгезивному процессу, выполнение оперативного вмешательства при злокачественных новообразованиях органов брюшной полости и малого таза, проводимое на фоне вторичного иммунодефицита и состояния гиперкоагуляции, может потенцировать образование у пациентов данной категории спаек брюшной полости в большей степени выраженности.

Следует отметить, что в последние годы наблюдается тенденция к росту числа онкологических заболеваний органов брюшной полости с первичным выявлением пациентов с распространенной формой заболевания, а именно – с наличием перитонеального канцероматоза [2]. По различным данным, поражение брюшины канцероматозными бляшками встречается у 20-35% пациентов с впервые выявленными злокачественными новообразованиями: примерно в четверти случаев данное осложнение обнаруживается при опухолях желудочно-кишечного тракта, в 30% - при раке яичников [3]. Результаты многоцентрового проспективного исследования естественной истории развития канцероматоза EVOCAPЕ 1 оказались неутешительными: медиана общей выживаемости больных с перитонеальным канцероматозом составила 3,1 мес., а средняя общая продолжительность жизни - 6,0 мес. [4]. С учетом имплантационной теории метастазирования - перитонеальный канцероматоз является одним из вариантов локального метастазирования злокачественных новообразований и рассматривается как следствие отсутствия у клеток опухоли факторов межклеточной адгезии.

Канцероматоз брюшины зачастую является основной причиной развития метастатической (канцероматозной) кишечной непроходимости на фоне спаек брюшной полости, у пациентов ранее оперированных по поводу солидных опухолей брюшной полости. В настоящий момент для профилактики спаечного процесса в брюшной полости применяется комплекс мероприятий: используются средства, обладающие доказанным «барьерным» эффектом; совершенствуется методика оперативных вмешательств с уменьшением травматизации брюшины; применяются малоинвазивные технологии вмешательств; проводятся лечебные манипуляции, направленные на восстановление перистальтики кишечника в ранние сроки; используются фармакологические препараты для уменьшения гипоксии органов брюшной полости и снижения реакции воспаления в зоне операции и др.

Принимая во внимание, что ведущим в механизме формирования спаек брюшной полости считается не только непосредственная травматизация брюшины, но и воспалительная реакция с ишемизацией тканей в зоне операции, представляется актуальным

изучение средств с доказанным «барьерным» эффектом в сочетании с системным применением препаратов с антиоксидантной, антиишемической активностью. «Барьерные» противоспаечные средства способствуют разобщению травмированных поверхностей на некоторое время, что способствует регенерации брюшины. В качестве противоспаечного средства с «барьерным» эффектом широко используется отечественный имплант «Мезогель» (производство ООО «Линтекс», Санкт-Петербург), представляющий собой стерильный 4% водный раствор на основе карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ). Средство «Мезогель» зарегистрировано в РФ, внесено в государственный реестр изделий медицинского назначения и медицинской техники (Регистрационное удостоверение № ФС 01262006/3224-06 от 25.04.2006). Создавая «барьерную пленку» между травмированными участками брюшины, имплант «Мезогель» не оказывает патогенетическое воздействие на механизмы спайкообразования. Однако отсутствие токсичности КМЦ, способность к образованию вязких, устойчивых растворов дает возможность рассматривать полимер КМЦ в качестве носителя лекарственных веществ, в частности противоопухолевого цитостатика - цисплатина.

Иммобилизация цисплатина на полимере-носителе «Мезогель» направлено на одновременную реализацию профилактики образования спаек брюшной полости, а также раннее начало локальной химиотерапии. При этом обеспечивается длительное и равномерное поступление препарата-цитостатика к канцероматозным бляшкам.

Цель исследования - экспериментальное изучение влияния полимерной лекарственной формы - иммобилизованного препарата-цитостатика (цисплатина) и препарата «Мексикор®» (ООО «ЭкоФармИнвест») на противоспаечные свойства импланта «Мезогель».

Методы исследования

Эксперименты были выполнены в лаборатории экспериментальной хирургии научно-исследовательского института экологической медицины ГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет». Экспериментальные животные – 72 самца нелинейных белых крыс массой от 200 до 250 г - содержались при световом режиме 12x12, температуре $+22\pm 2$ °С при постоянном доступе к корму и воде. Для эксперимента были отобраны животные без внешних признаков заболевания, прошедшие карантин. Проведение экспериментов, эвтаназия, содержание и уход за животными осуществлялись согласно требованиям Европейской конвенции по защите экспериментальных животных (86/609 ЕЕС), «Правил лабораторной практики» (2016).

В эксперименте животные были разделены на 4 группы. В каждой группе выполнялось моделирование спаечного процесса брюшной полости (СПБП) по

разработанной методике [5]. После выполнения срединной лапаротомии первоначально формировался дефект брюшины на вентральной стенке: после предварительного гидравлического препарирования 3 мл 0,9% раствора хлорида натрия брюшина иссекалась на площади 1 см³. Затем путем скарификации по поверхности слепой кишки добивались получения эффекта «кровоной росы». Лапаротомная рана ушивалась наглухо. В последующем фиксировалось образование сращений между травмированными поверхностями и развитием плоскостных спаек. Основным наркозом в эксперименте являлся эфирный.

Животные были разделены на 4 группы (одна – контрольная, три - опытные), по 18 крыс в каждой группе.

- 1-я группа – контрольная, модель СПБП.
- 2-я группа – модель СПБП + «Мезогель» (10,7 мг/кг).
- 3-я группа – модель СПБП + «Мезогель» (10,7 мг/кг) + цисплатин (4 мг/кг).
- 4-я группа – модель СПБП + «Мезогель» (10,7 мг/кг) + цисплатин (4 мг/кг) в сочетании с внутримышечным ежедневным введением препарата «Мексикор®» (60 мг/кг) в течение 14 суток.

Доза вводимых препаратов (цисплатин и «Мексикор®») была рассчитана с учетом коэффициента пересчета для животных, в частности крыс. Фармакологическая эффективность препарата «Мексикор®» исследовалась в дозе 60 мг/кг. Так как максимальная суточная доза исследуемого препарата для человека массой 70 кг не должна превышать 800 мг, т.е. 11,43 мг/кг, а коэффициент пересчета на площадь поверхности тела человека - 39,0, коэффициент для крысы массой 250 г равен 7,0, то максимальная терапевтическая доза для крыс равнялась 63,7 мг/кг. Таким образом, исследуемая эффективность препарата «Мексикор®» проводилась при ежедневном внутримышечном введении в течение 14 суток в дозе, приближенной к максимальной суточной. Аналогично произведен перерасчет введения цисплатина (из расчета максимальной дозы введения 100 мг/сут и 1,43 мг/кг). Максимальная терапевтическая доза при однократном внутрибрюшном введении для цисплатина составила 4 мг/кг.

Имплант «Мезогель» после моделирования СПБП вводили внутрибрюшинно в объеме 10,7 мл/кг, что является минимальным количеством, необходимым для покрытия поверхности брюшины экспериментального животного (по таблице G.DiZeregaG.S., 1999) [6].

В группах животных, которым вводился цисплатин в «Мезогеле», перед внутрибрюшным введением в асептических условиях выполнялось соединение препаратов в дозировках: цисплатин (4 мг/кг)+ «Мезогель» (10,7 мг/кг).

Животные выводились из эксперимента на 5-е и 14-е сутки. Выбор данного срока нами обусловлен следующими соображениями. Несмотря на то что к 14 суткам новообразованная соединительная ткань полностью не сформировалась и, учитывая концепцию морфогенеза спаек на более поздних сроках, выраженность СПБП может уменьшиться или увеличиться, их морфологическое изучение на данном сроке позволяет оценить степень зрелости новообразованной соединительной ткани.

Перед выведением животных из эксперимента проводилась оценка их общего состояния. Выведение из эксперимента животных осуществлялось путем передозировки эфирного наркоза.

Оценка спаечного процесса проводилась с использованием разработанного нами метода семантического дифференциала. В оценку спаечного процесса включались следующие параметры: распространенность спаечного процесса (от отсутствия спаек от спаечного процесса, занимающего более половины пространства брюшной полости); степень выраженности спаек (от отсутствия спаек до многочисленных); наличие деформации органов брюшной полости (от отсутствия деформации до выраженной деформации с нарушением функции органа). Выраженность каждого учитываемого показателя оценивается в баллах (от 1 до 5) [6].

Следующим этапом выполнялось умножение полученной оценки (в баллах) на соответствующий ему коэффициент значимости (таблица 1). При сложении полученных произведений получали степень выраженности спаечного процесса. Полученное значение определялось для каждого выводимого из эксперимента животного и регистрировалось в протоколе эксперимента.

Таблица 1

Коэффициенты значимости показателей выраженности спаечного процесса

Показатели выраженности спаечного процесса	Коэффициент значимости
Распространенность спаечного процесса	0,4555556
Деформация органов	0,3388889
Плоскостные спайки	0,0662346
Перепончатые спайки	0,0461358
Тракционные спайки	0,045679
Шнуровидные спайки	0,0315185
Сальниковые спайки	0,0159877

Полученные результаты подвергали статистической обработке: данные анализировали с помощью методов описательной статистики путем определения среднего арифметического, стандартного отклонения и стандартной ошибки. В качестве основного способа определения уровня статистической значимости отличий между средними величинами использовали методику определения границ доверительного интервала (t) при допустимом уровне $p < 0,05$ для экспериментальных медико-биологических исследований [6; 7].

Результаты исследования и их обсуждение

Полученные данные по уровню спайкообразования в исследуемых группах представлены в таблице 2.

Таблица 2

Выраженность спаечного процесса брюшной полости ($M \pm m$, $n=18$) методом семантического дифференциала в баллах

№ п/п	Группа животных	5-е сутки	14-е сутки
1	Контрольная, модель СПБП	3,59±0,11	3,79±0,12
2	Модель СПБП+ «Мезогель»	0,42±0,06*	0,52±0,01*
3	Модель СПБП + Цисплатин + «Мезогель»	0,41±0,03*	0,53±0,08*
4	Модель СПБП + Цисплатин + «Мезогель» +в/м Мексикор®	0,37±0,09*	0,47±0,1*

Примечание: *- при $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой животных.

При аутопсии животных в контрольной группе у всех животных отмечалась выраженная деформация слепой кишки с выраженными геморрагическими изменениями на 5-е сутки эксперимента. В 8 случаях на 14-е сутки эксперимента к слепой кишке были подпаяны пряди сальника и петли тонкой кишки. У всех животных контрольной группы к окончанию эксперимента слепая кишка была фиксирована плоскостной спайкой к брюшной стенке. Таким образом, при моделировании СПБП с последующим применением для его оценки метода семантического дифференциала, уровень спайкообразования в контрольной группе на 5-е и 14-е сутки составил 3,59±0,11 и 3,79±0,12 балла соответственно. Во второй группе животных к 14-м суткам эксперимента в 3 случаях обнаружена деформация слепой кишки; у одного животного – фиксация купола слепой кишки к вентральной стенке в месте её десерозирования. В анализируемой группе исследуемый показатель был достоверно меньше в 8,5 раз на 5-е сутки и в 7,2 раза на 14-е сутки по сравнению с группой контроля. В 3-й группе с применением иммобилизованных форм цисплатина выраженность СПБП

составила на 5-е сутки $0,41 \pm 0,03$ и $0,53 \pm 0,08$ балла на 14-е сутки. Статистически достоверных отличий выраженности СПБП между 2 и 3 группами не выявлено, что подтверждает отсутствие клинически значимого влияния цитостатика цисплатина на противоспаечные свойства и сохранение эффективности противоспаечного средства «Мезогель» в условиях комбинированного использования.

В группе 4 с применением системного введения «Мексикора®» в дозе 60 мг/кг отмечается снижение выраженности СПБП на 22% в сравнении со 2 группой и на 10% снижение показателя в сравнении с группой 3.

На 14-е сутки эксперимента выраженность СПБП в группе 2 составила $0,52 \pm 0,1$ балла. В группе 3 исследуемый показатель выраженности СПБП достоверно не отличается от данного показателя во второй группе. Использование в течение 14 суток «Мексикора®» к окончанию эксперимента выявило более значительное снижение показателей спайкообразования: в группе 4 показатель ниже на 10% в сравнении с группой 2 и на 8,8% в сравнении с группой 3.

Учитывая теоретическую основу профилактики СПБП и результаты настоящего исследования, сочетанное внутрибрюшное введение цитостатика с барьерными противоспаечными полимерными имплантатами в форме рассасывающихся гелей под «прикрытием» антиоксиданта, можно считать рациональным подходом в лечении пациентов с солидными опухолями брюшной полости, осложненными канцероматозом брюшины, а также в качестве профилактики имплантационного метастазирования.

По данным литературы известно, что цитостатики увеличивают выраженность адгезивного процесса при внутрибрюшинном введении. В связи с тем что «Мезогель» обладает противоспаечным действием в группе с применением комбинации цисплатина с «Мексикором®», выраженность спаечного процесса брюшной полости проявляется меньше, чем в группе без применения «Мезогеля». Это основывается на барьерном, антиадгезивном, гидрофлотирующем действии средства «Мезогель», а введение цитостатика в данную комбинацию не вызывает повреждения мезотелиальных клеток в силу описанных выше протекторных действий Na-карбоксиметилцеллюлозы.

Таким образом, применение иммобилизованных форм цитостатиков является перспективным направлением при лечении пациентов с канцероматозом брюшины, требующим проведения дальнейших разработок в клинических условиях.

Выводы

1. Иммобилизация в структуру «Мезогеля» цисплатина в дозе 4 мг/кг не снижает выраженность противоспаечного действия «Мезогеля».

2. Применение препарата «Мексикор®» в дозе 60 мг/кг в течение 14 суток эксперимента статистически достоверно не влияет на степень абдоминальной адгезии импланта «Мезогель».

Список литературы

1. Чекмазов И.А. Спаечная болезнь брюшины. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2008. 160 с.
2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Состояние онкологической помощи населению России в 2015 году. М.: МНИОИ им. П.А. Герцена филиал ФГБУ «НМИРЦ» Минздрава России, 2016. 236 с.
3. Степанов И.В., Падеров Ю.М., Афанасьев С.Г. Перитониальный канцероматоз // Сибирский онкологический журнал. 2014. №5. С.45-53.
4. Di Vita M., Cappellani A., Piccolo G. The role of HIPEC in the treatment of peritoneal carcinomatosis from gastric cancer: between lights and shadows. *Anticancer Drugs*. 2015. Vol. 26. P. 123-138.
5. Липатов В.А., Бежин А.И., Мясников А.Д., Панкрушева Т.А., Веденьев Ю.И. Способ моделирования спаечного процесса брюшной полости // Патент РФ 2217801. Патентообладатель Липатов В.А. 2003. Бюл. № 33.
6. Липатов В.А. Концепция профилактики послеоперационного спаечного процесса брюшной полости с применением барьерных средств (экспериментально-клиническое исследование): автореф. дис. ... докт. мед. наук. Курск, 2013. 48 с.
7. Кочетов А.Г., Лянг О.В., Масенко В.П., Жиров И.В., Наконечников С.Н., Терещенко С.Н. Методы статистической обработки медицинских данных: метод. рекомендации для ординаторов и аспирантов мед. учеб. заведений, науч. работников. М.: Книга по Требованию, 2012. 42 с.