

ДОКЛИНИЧЕСКИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА «АСПАЙК»

Рузметова З.С., Нажмутдинова Д.К., Юсупбаев Р.Б.,

Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр
акушерства и гинекологии.

✓ Резюме

Препарат «Аспайк» разработан в Институте химии и физики полимеров АН РУз, его строение предполагает возможность связывать ионы кальция, причем антиадгезивные свойства карбоксиметилцеллюлозы обычно связывают только с её физическим состоянием в виде геля, данных же о биохимическом механизме действия препарата нет. В связи с этим актуально изучение Аспайка, а прежде всего проведение комплекса доклинических экспериментальных исследований.

Ключевые слова: «Аспайк», гидрогель, спаечный процесс, доклинический эксперимент.

PRE-CLINICAL EXPERIMENTAL STUDIES OF THE DRUG «ASPIKE»

Ruzmetova Z.S., Nazhmutdinova D.K., Yusupbaev R.B.,

Republican specialized scientific and practical medical center of obstetrics
and gynecology Tashkent, Uzbekistan.

✓ Resume

The drug «Aspike» was developed at the Institute of Chemistry and Physics of Polymers of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, its structure suggests the ability to bind calcium ions, and the antiadhesive properties of carboxymethylcellulose are usually associated only with its physical state in the form of a gel, while there is no data on the biochemical mechanism of action of the drug. In this regard, it is important to study Aspike, and above all to carry out a complex of preclinical experimental studies.

Key words: «Aspike», hydrogel, adhesive process, preclinical experiment.

«ASPIKE» DORI-VOSITASINING KLINIKASIDAN OLDINGI EKSPERIMENTAL TADQIQOTLARI

Ruzmetova Z.S., Najmutdinova D.K., Yusupbaev R.B.,

Respublika ichtisoslashtirilgan akusherlik va ginekologiya ilmiy-amaliy tibbiyot markazi.

✓ Rezyume

«Aspike» preparati O'zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasining Kimyo va polimerlar fizikasi institutida ishlab chiqilgan bo'lib, uning tuzilishi kaltsiy ionlarini bog'lash qobiliyatini nazarda tutadi va karboksimetilselulozaning yopishqoqlikka qarshi xususiyatlari odatda faqat fizik holati bilan gel shakliga bog'liq, ammo preparatning biokimyoviy ta'sir mexanizmi to'g'risida ma'lumot yo'q. Shu munosabat bilan "Aspike"ni o'rganishda, avvalambor klinikadan oldingi eksperimental tadqiqotlar kompleksini o'tkazish muhimdir.

Kalit so'zlar: «Aspike», gidrogel, yopishqoq jarayon, klinikadan oldingi tajriba.

Актуальность

Спаечный процесс после операций на органах брюшной полости привлекает неослабевающее внимание абдоминальных хирургов и акушер-гинекологов. Это связано с большой частотой его развития – 67-93% [1,2].

Послеоперационные спайки вызывают значительное число серьёзных осложнений. Наиболее частое и грозное осложнение – острая спаечная кишечная непроходимость, составляющая более 40% среди различных видов приобретенной непроходимости кишечника [2,5] летальность при этом достигает 8-19 % [3,7].

Со спайкообразованием, также связано около 20% случаев бесплодия [3,6]. Кроме того, спайки относятся к наиболее вероятной причине послеоперационных болей в животе и дисфункции пищеварения, что отмечают до 40% пациентов, оперированных на органах брюшной полости [5,8].

Спайки могут изменять нормальное расположение органов брюшной полости, чем объясняется ра-

стущая частота осложнений при повторных операциях – повреждения кишки, мочевого пузыря и т.д. [4,5]. В результате увеличивается сложность оперативных вмешательств (особенно эндовидеохирургических) и длительность как самой операции, так и анестезии. Все это требует значительных финансовых вложений, так в 1988 году в США расходы на лечение спаечной болезни был оценен в 1,2 млрд. долларов [7].

На сегодняшний день предложено множество способов борьбы со спайкообразованием. Из хирургических методов наиболее эффективно лапароскопическое разделение спаек [8]. Однако, даже при использовании малоинвазивных методик, как при первичных, так и при повторных вмешательствах, спаечный процесс может, тем не менее, развиваться [9]. В связи с этим предложено использовать различные лекарственные средства профилактики спайкообразования. Наибольшее распространение получила концепция применения временного "барьера", который вводится в брюшную полость во время операции.

"Барьер" покрывает поврежденные участки брюшины на время восстановления мезотелия, а затем рассасывается. Среди "барьеров" наиболее эффективны мембрана Seprafilm (Genzum), состоящая из гиалуроновой кислоты и карбоксиметилцеллюлозы, мембрана Interceed (Ethicon) - нетканый материал, полученный из целлюлозы, гель Oxiplex (FzioMed) - состоит из карбоксиметилцеллюлозы и оксида полиэтилена [10].

Однако, эти препараты, к сожалению, не имеют на сегодняшний день широкого распространения, в частности в Узбекистане из-за дороговизны и недоступности. В связи с чем, продолжает оставаться актуальным поиск доступного, недорого и эффективного средства.

В Узбекистане и в странах СНГ для профилактики спайкообразования наиболее распространены методики электрофореза и фонофореза, с помощью которых вводятся различные препараты, такие как гиалуронидаза, лидаза, иодит калия, трилон Б, гидрокортизон, гепарин. Механизм воздействия многих из этих препаратов на спайкообразование неизвестен. В то же время роль такого препарата, связывающего ионы кальция, например трилона Б (комплексообразователь для иона кальция) в процессе гемокоагуляции, а, следовательно, спайкообразования трудно переоценить.

Тем не менее, в доступной литературе нет работ, посвященных исследованию зависимости формирования спаек брюшной полости от активности иона кальция в биологических жидкостях.

Несмотря на результаты многочисленных исследований, посвященных проблеме спайкообразования, действенная методика предупреждения и лечения этого осложнения отсутствует.

В нашей работе мы использовали гель натриевой соли карбоксиметилцеллюлозные (NaКМЦ 3,0%; NaКМЦ 3,5%) - полимера входящего в состав применяемых в клинике препаратов (Seprafilm, Oxiplex). В чистом виде в клинике карбоксиметилцеллюлоза не применяется. В связи с этим актуально экспериментальное изучение этого полимера, выявление механизмов действия и разработка оптимальной методики применения препарата.

Послеоперационные спайки вызывают значительное число серьезных осложнений. Одним из путей предотвращения спайкообразования является создание временного "барьера" посредством покрытия поврежденных участков брюшины на время восстановления мезотелия гидрогелем, который во времени подвержен разложению и рассасыванию.

Известные в настоящее время в мире "барьеры" Seprafilm (Genzum), Ynterceed, Oxiplex (FzioMed) не имеют широкого распространения в Узбекистане из-за дороговизны и недоступности.

В настоящее время сотрудниками Института химии и физики полимеров АН РУз разработан отечественный полимерный достаточно дешевый биоразлагаемый биогель "Аспайк" на основе местных источников сырья - производных полисахаридов, представляющих интерес как противоспаечное лекарственное средство.

Цель работы - оценка кумулятивных свойств и хронического действия Аспайка.

Материал и методы

Исследования проводилось в рамках проекта "Доклинические экспериментальные исследования лекарственного средства "Аспайк". Впервые проведен комплекс доклинических экспериментальных исследований нового лекарственного противоспаечного средства "Аспайк". Разработан препарат в Институте химии и физики полимеров АН РУз. Изучением острой внутрижелудочной токсичности препарата на белых мышцах установлена средне-смертельная доза (ЛД₅₀) препарата "Аспайк" на уровне 5730 (6204,4 ÷ 5255,6) мг/кг. Следовательно, по классификации лекарственных средств по токсичности препарат "Аспайк" относится к не токсичным веществам.

Препарат Аспайк - гель натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (NaКМЦ 3,0%; NaКМЦ 3,5%) - полимер входящий в состав применяемых в клинике препаратов (Seprafilm, Oxiplex).

Лекарственное средство "Аспайк" и явился объектом настоящих исследований.

Результат и обсуждение

Исследования проведены на различных видах лабораторных животных обоего пола: на 80 белых мышцах, 162 белых крысах, 20 морских свинках и 27 кроликах.

Исследования кумулятивного и хронического внутрижелудочного действия препарата "Аспайк" проводились на 24 белых крысах с массой тела 130-140 грамм в течении 1 месяца. Для оценки кумулятивных свойств и хронической токсичности учитывалась малая токсичность препарата, установленная в остром эксперименте, а также предполагаемая длительность курса лечения (одноразовое внутрибрюшинное введение), поэтому выбран срок хронического эксперимента 1 месяц (в соответствии с методическими рекомендациями "Доклиническое изучение безвредности лекарственных средств"). Препарат Аспайк вводился в виде водной суспензии внутрижелудочно 3-м группам опытных белых крыс, разбитых на 4 группы в следующих дозах: 1 -ая группа 100 мг/кг м.т.; 2-ая группа - 50 мг/кг м.т.; 3-ья группа - 10 мг/кг м.т. ; 4-ая группа белых крыс из 6 особей служили контролем. Критериями токсичности служили: поведение животных, выживаемость, время наступления смертельных исходов, появление симптомов интоксикации, местные изменения на коже. динамика массы тела, "норковый рефлекс", частота дыхания, частота сердечных сокращений, активность щелочной фосфатазы, АСТ и АЛТ, содержание общего и прямого билирубина в сыворотке крови, гексеналовый сон. Исследования физиологических и биохимических показателей проводили после завершения эксперимента.

Физиологические показатели определяли общепринятыми традиционными методами. Биохимические исследования (активность щелочной фосфатазы, АСТ и АЛТ, содержание общего и прямого билирубина в сыворотке крови) определяли с помощью тест-наборов НИИХОЛ, РУз.

После окончания хронического эксперимента часть животных опытной и контрольной групп забивалась путем декапитации под легким эфирным наркозом, и проводились макроскопические и микроскопические исследования внутренних органов. Объекта-

ми изучения были: головной мозг, легкие, сердце, печень, почки, надпочечники, селезенка, желудок, поджелудочная железа, тонкий и толстый кишечник, матка, яйчники, яйцо. Материал фиксировали в 12% формалине с последующей, стандартной проводкой по спиртам восходящей концентрацией и заливкой парафином. Срезы из органов толщиной 6-7 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Для оценки результатов в качестве критериев лечения спаечного процесса у белых крыс и кроликов служили: общая морфологическая визуализация развития спаечного процесса в брюшной полости; показатели периферической крови: содержание лейкоцитов и СОЭ; биохимические показатели: с реактивный белок, СМР (280 нм, 254 нм и общий), оксипролин общий, связанный и свободный в сыворотке крови.

Исследования многократного внутрижелудочного действия препарата "Аспайк" и его кумулятивных свойств проводились на 24 белых крысах с массой тела 130-140 грамм в течении 1 месяца. При оценке кумулятивных свойств и хронической токсичности учитывалась малая токсичность препарата, установленная в остром эксперименте, а также предполагаемая длительность курса лечения (одноразовое внутривентральное введение), поэтому выбран срок хронического эксперимента 1 месяц (в соответствии с методическими рекомендациями "Доклиническое изучение

безвредности лекарственных средств"). Препарат Аспайк вводился в виде водной суспензии внутрижелудочно 3-м группам опытных белых крыс, разбитых на 4 группы в следующих дозах: 1 -ая группа 100 мг/кг м.т.; 2-ая группа - 50 мг/кг м.т.; 3-ья группа - 10 мг/кг м.т. ; 4-ая группа белых крыс из 6 особей служили контролем. Показателями токсичности служили: поведение животных, выживаемость, время наступления смертельных исходов, появление симптомов интоксикации, местные изменения на коже, динамика массы тела, "норковый рефлекс", частота дыхания, активность щелочной фосфатазы, АСТ и АЛТ, содержание общего и прямого билирубина в сыворотке крови, гексеналовый сон. Исследования показателей проводили после завершения эксперимента.

За время эксперимента общее состояние опытных животных не нарушалось, симптомов интоксикации не выявлено, гибели животных не было. На коже местных изменений не обнаруживалось, мест очагового облысения и язв не отмечалось. Животные были опрятны, шерстяной покров гладкий, блестящий, корм охотно поедали, активны, адекватно реагировали на внешние раздражители. Динамика массы тела у белых крыс при многократном внутрижелудочном воздействии препаратом "Аспайк" представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Динамика массы тела у белых крыс после многократного внутрижелудочного воздействия препаратом "Аспайк".

Статистические показатели	Группы животных*			
	1	2	3	4
М	122	124	123	123
±m	3,0	2,3	2,6	2,0
P	>0,05	>0,05	>0,05	

Примечание: * в таблице 5.6.1. и далее: 1 -ая группа - 100 мг/кг м.т.; 2-ая группа - 50 мг/кг м.т.; 3-ья группа - 10 мг/кг м.т.; 4-ая группа белых крыс служила контролем.

Результаты исследований показали, что прирост массы тела опытных животных от контрольных крыс не отличался.

Состояние "норкового рефлекса" у опытных и контрольных животных представлено на таблице 2.

Таблица 2.

Состояние "норкового рефлекса" у белых крыс после многократного внутрижелудочного воздействия препаратом "Аспайк", (время измерения 3 минуты)

Статистические показатели	Группы животных			
	1	2	3	4
М	9	8	9	9
±m	0,6	0,6	0,4	0,6
P	0	>0,05	0	

Статистически значимых отличий по состоянию "норкового рефлекса" между опытными и контрольными животными не установлено.

Результаты подсчета частоты дыхания у белых крыс после многократного внутрижелудочного воздействия препаратом "Аспайк" представлены на таблице 3., из которой видно отсутствие различий числа дыханий у опытных групп от контроля.

Выявление возможного цитолитического синдрома при хроническом воздействии изучаемого препара-

та проводилось по определению активности ферментов щелочной фосфатазы, АСТ и АЛТ в сыворотке крови экспериментальных животных. Данные этих показателей представлены в таблицах 4.- 5.

Полученные данные позволили сделать вывод о том, что препарат "Аспайк" не оказывает отрицательного эффекта на активность щелочной фосфатазы, АСТ и АЛТ в сыворотке крови, так как статистически достоверных изменений у животных опытной группы по сравнению с контрольными особями не наблюдалось.

Таблица 3.

Частота дыхания у белых крыс после многократного внутрижелудочного воздействия препаратом «Аспайк», число в минуту

Статистические показатели	Группы животных			
	1	2	3	4
M	88,0	89,0	87,0	89,0
±m	1,6	2,0	1,9	2,6
P	>0,05	>0,05	>0,05	

Таблица 4.

Активность щелочной фосфатазы в сыворотке крови у белых крыс после многократного внутрижелудочного воздействия препаратом "Аспайк", ммоль/л.ч.

Статистические показатели	Группы животных*			
	1	2	3	4
M	0,44	0,43	0,45	0,42
±m	0,016	0,019	0,025	0,02
P	>0,05	>0,05	>0,05	

Таблица 5.

Активность АСТ в сыворотке крови у белых крыс после многократного внутрижелудочного воздействия препаратом "Аспайк", ммоль/л.ч.

Статистические показатели	Группы животных*			
	1	2	3	4
M	0,28	0,23	0,22	0,21
±m	0,01	0,01	0,01	0,01
P	>0,05	>0,05	>0,05	

Таблица 6.

Активность АЛТ в сыворотке крови у белых крыс после многократного внутрижелудочного воздействия препаратом "Аспайк", г.

Статистические показатели	Группы животных*			
	1	2	3	4
M	0,16	0,16	0,18	0,17
±m	0,008	0,014	0,008	0,01
P	>0,05	>0,05	>0,05	

Показатели холестаза в крови (содержание билирубина прямого и билирубина общего) представлены в таблицах 7 и 8.

Таблица 7.

Содержание билирубина общего в сыворотке крови у белых крыс после многократного внутрижелудочного воздействия препаратом "Аспайк".

Статистические показатели	Группы животных			
	1	2	3	4
M	3,21	3,16	3,16	3,19
±m	0,048	0,035	0,03	0,43
P	>0,05	>0,05	>0,05	

Таблица 8.

Содержание билирубина прямого в сыворотке крови у белых крыс после многократного внутрижелудочного воздействия препаратом "Аспайк".

Статистические показатели	Группы животных			
	1	2	3	4
M	1,15	1,13	1,14	1,11
±m	0,027	0,03	0,029	0,022
P	>0,05	>0,05	>0,05	

Анализ полученных данных указывает на отсутствие статистически значимых изменений в содержании в крови билирубина как прямого, так и общего.

Динамика длительности гексеналового сна характеризует состояние гепатотоксического влияния изучаемых веществ. Результаты исследований этого показателя представлены на таблице 9.

Таблица 9.

Состояние гексеналового сна у белых крыс после многократного внутрижелудочного воздействия препаратом "Аспайк".

Статистические показатели	Группы животных			
	1	2	3	4
М	25,7	26,0	26,0	25,8
±m	0,23	0,27	0,36	0,49
P	>0,05	>0,05	>0,05	

Из представленных в таблице данных следует, что препарат не обладает гепатотоксическим эффектом.

Выводы

Таким образом, проведенный комплекс токсикологических, физиологических и биохимических исследований позволяет сделать вывод о том, что препарат "Аспайк" не токсичное вещество, не обладающее кожно-резорбтивным, местно раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки, при многократном хроническом воздействии на кожу не раздражает кожные покровы. Аспайк не вызывает сенсibilизации и анафилактической активностью не обладает. Препарат не обладает кумулятивным эффектом, а хроническое внутрижелудочное воздействие Аспайка в дозах 100 мг/кг м.т., 50 мг/кг м.т. и 10 мг/кг м.т. не вызывают интоксикации и гибели животных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Meuleman T, Schreinemacher MH, van Goor H et al. Adhesion awareness: a nationwide survey of gynaecologists. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2013; 169: 353-9.
2. Pathogenesis, consequences, and control of peritoneal adhesions in gynecologic surgery. The Practice Committee of the American

- Society for Reproductive Medicine in collaboration with the Society of Reproductive Surgeons. Fertil Steril 2013; 99 (6): 1550-5.
3. Mutsaers SE, Pringle CM, Pengelly S et al. Mesothelial cells and peritoneal homeostasis. Fertil Steril 2016; 106 (5): 1018-24.
4. Van Baal JO, van de Vijver KK, Nieuwland R et al. The histophysiology and pathophysiology of the peritoneum. Tissue Cell 2017; 49 (1): 95-105.
5. Marshall CD, Hu MS, Leavitt T et al. Creation of Abdominal Adhesions in Mice. J Vis Exp 2016; 114.
6. Kulakov V.I., Adamian L.V., Mynbaev O. A. Posleoperatsionnye spaiki (etiologiya, patogenez i profilaktika). M.: Meditsina, 1998.
7. Arung W, Drion P, Cheramy JP et al. Intraperitoneal adhesions after open or laparoscopic abdominal procedure: an experimental study in the rat. J Laparoendosc Adv Surg Tech A 2012; 22: 651-7.
8. Rybalka A.N., Sulima A.N., Davydova A.A. i dr. Osobennosti ekspressii provospalitel'nykh tsitokinov v tkani tazovykh spaek u zhenshchin s khronicheskimi vospalitel'nymi zabolevaniyami organov malogo taza. Juvenis Scientia. 2016; 3: 29-31.
9. Sulima A, Davydova A, Litvinov V. Proinflammatory cytokines TNF-α and IL-1 in pelvic peritoneal adhesions of various etiology at reproductive age women. 32nd Annual Meeting of ESHRE. Helsinki, July 3rd - 6th, 2016. v. 31 (Suppl. 1). Helsinki, 2016; p. 463-4.
10. Ten Broek RP, Stommel MW, Strik C et al. Benefits and harms of adhesion barriers for abdominal surgery: a systematic review and meta-analysis. Lancet 2014; 383: 48-59.

Поступила 09.10. 2020