

# Патогенетическая профилактика рецидива спаечного процесса в малом тазу

К.м.н., доц. Е.Д. ДУБИНСКАЯ<sup>1</sup>, д.м.н., проф. А.С. ГАСПАРОВ<sup>1</sup>, д.м.н., проф. В.А. БУРЛЕВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Российский университет дружбы народов; кафедра акушерства, гинекологии и репродуктивной медицины ФПК МР РУДН; <sup>2</sup>Федеральное государственное учреждение «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова», Москва

**Представлены результаты применения разработанной схемы патогенетической профилактики рецидива спаечного процесса в малом тазу, которые доказали ее высокую эффективность.**

*Ключевые слова: патогенетическая профилактика, спаечный процесс в малом тазу, метиленовый синий.*

В настоящее время продолжается активный поиск веществ, которые при введении в брюшную полость могли бы эффективно механически разделять травмированные поверхности друг от друга, что снизило бы вероятность формирования спаек. Идеальный «барьер» должен обладать противовоспалительными свойствами, не являться иммуногенным, находиться в брюшной полости на время ремезоэпителизации, находиться в нужном месте без использования швов, оставаться активным в присутствии крови и полностью биологически разрушаться в конце своего действия. С учетом новых данных о роли ангиогенеза в формировании спаек барьерный адьювант также должен иметь антиангиогенные свойства. Однако препарата, удовлетворяющего всем необходимым условиям, пока не найдено. Многие из них недостаточно длительно находятся в брюшной полости, некоторые теряют свою активность, взаимодействуя с кровью. Ограниченность использования противоспаечных барьеров связана также с их высокой стоимостью.

Значимыми являются данные литературы о положительном эффекте влияния метиленового синего в качестве средства для санации брюшной полости во время операции, используемого вместо традиционного физиологического раствора, на формирование спаек в послеоперационном периоде. Данный эксперимент был проведен на крысах, которым провоцировали образование спаек с использованием лапаротомического доступа. Наиболее эффективным явилось использование 1–2% раствора метиленового синего. Применение препарата в данной концентрации позволило снизить частоту послеоперационных спаек практически в 4 раза. В более высоких и токсичных концентрациях (5–7%) раствор данного красителя не обладал подобными свойствами [7]. Интраперитонеальное введение раствора метиленового синего вполне оправдано клинически, в связи с тем, что и процессы спайкообразования, и оптимальное время его воздействия совпадают по време-

ни и начинаются в течение первых суток послеоперационного периода [16]. Метиленовый синий является нетоксичным и безопасным красителем и может быть использован в дозах до 7 мг/кг у человека при отравлении цианидами [24].

К сожалению, подобные исследования до настоящего времени в гинекологии не проводились.

В последние годы особое внимание как в зарубежной, так и в отечественной литературе уделяется флавоноидам, а также их антиоксидантным и антиангиогенным свойствам. Известно, что многие патологические процессы в организме человека обусловлены развитием оксидативного стресса, который является результатом воздействия неблагоприятных факторов и повреждающих агентов, в том числе и кислорода. Флавоноиды оказывают разнонаправленное действие, но ключевыми являются антиоксидантные, антирадикальные свойства и способность устранять гипоксию. В связи с этим препараты, содержащие флавоноиды, могут быть включены в комплекс мероприятий, направленных на профилактику и лечение пролиферативных процессов эндометрия и молочных желез, эндометриоза и миомы матки [1]. Так, кверцетин, мирицетин и фузетин способны смягчать оксидативный стресс путем индукции глутатион-S-трансферазы, которая играет протективную роль в отношении рака путем детоксикации мутагенного потенциала ксенобиотиков [10].

Флавоноиды способны ингибировать рост и миграцию клеток эндотелия, вызывать супрессию клеточной пролиферации [3]. Обзор литературы, посвященный ангиогенезу в патогенезе спаечного процесса в малом тазу, представлен нами ранее [2].

Цель настоящего исследования — оценка эффективности разработанной схемы патогенетической профилактики рецидива спаечного процесса в малом тазу.

e-mail: Eka-dubinskaya@yandex.ru

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 60 пациенток с III—IV стадией распространения спаечного процесса в малом тазу различного происхождения (послеинфекционные, послеоперационные, связанные с эндометриозом), согласно классификации Американского общества фертильности, — основная группа. Группу контроля составили 40 пациенток с III—IV стадией распространения спаечного процесса в малом тазу, которым проводилась традиционная санация брюшной полости нормальным физиологическим раствором; терапия биофлавоноидами и энзимными препаратами не осуществлялась. Всем пациенткам через 3 мес выполнялась контрольная лапароскопия для сравнительной оценки полученных результатов.

На основании анализа данных литературы, представленных выше, собственных данных о роли ангиогенеза в патогенезе спаечного процесса в малом тазу была разработана следующая схема профилактики рецидива спаечного процесса.

1. Во время лапароскопии пациенткам со спаечным процессом в малом тазу:

а) проводилось разделение спаек с использованием биполярных ножниц фирмы «Karl Storz», особое внимание уделялось тщательному гемостазу перед рассечением;

б) в конце операции проводилась санация (обработка) органов малого таза 0,5% водным раствором метиленового синего и последующая аспирация введенного раствора. Условно данную манипуляцию можно назвать «смазыванием» брюшины малого таза. Органы малого таза при этом приобретали равномерную синюю окраску. Около 10 мл раствора оставляли в дугласовом пространстве. Объем вводимого вещества составил 100 мл.

Метиленовый синий (methylthionine chloride) является гетероциклическим ароматическим химическим веществом с молекулярной формулой  $(C_{16}H_{18}C_1N_3S, 3H_2O)$ . Он имеет глубокую голубую окраску в своей оксидантной форме и бесцветен в редуцированной форме (лейкометиленовый синий). Обе его формы существуют в состоянии окислительно-восстановительного равновесия и формируют оксидантно-редукционную систему или пару «электрон донор—акцептор».

Физические и химические свойства и фармакокинетика метиленового синего представлены в таблице [19]\*.

Приготовление раствора проводилось в аптеке, имеющей лицензию на приготовление стерильных растворов. 0,5 г порошка метиленового синего (Methylenum coeruleum) фармакопейной чистоты, разрешенного для использования на территории РФ, растворяются в 100 мл очищенной воды при комнатной температуре. Затем раствор разливается во флаконы 100,0 мл и подвергается стерилизации в авто-

clave при 121°C в течение 8 мин для емкости 100,0. Годность стерильного 0,5% водного раствора метиленового синего составляет 30 дней.

Стоимость 1 кг порошка метиленового синего в среднем составляет 4800 руб. Стоимость 0,5 г порошка, необходимого для приготовления 100 мл раствора, составляет 2,4 руб.

2. В раннем послеоперационном периоде со 2-го дня после проведения лапароскопии пациенткам назначалась следующая комбинация препаратов:

— кверцетин по 1 капсуле 2 раза в день во время еды в течение 1 мес;

— wobenzim по 5 таблеток 3 раза в сутки внутрь, за 30 мин до еды, не раскусывая, запивая стаканом воды (150 мл), в течение 1 мес.

Кверцетин — биофлавоноид, с молекулярной массой 302,236 г/моль и молекулярной формулой  $C_{15}H_{10}O_7$ . Кверцетин является агликоновой формой большого количества флавоноидов, таких как рутин и кверцетрин. К продуктам с высоким содержанием кверцетина относятся каперсы (1800 мг/кг), яблоки (440 мг/кг), лук (наиболее высокие концентрации в самых удаленных от сердцевинки кольцах), красные грейпфруты, брокколи, черри, малина и многие другие.

Доказано отрицательное взаимодействие кверцетина с фторхинолонами, поскольку кверцетин связывается с бактериальной ДНК. Почему данный эффект приводит к ингибированию или снижению действия фторхинолонов, до настоящего времени остается непонятным [14]\*\*.

Wobenzim (Wobenzym) — препарат, относящийся к следующим фармакологическим группам: ферменты и антиферменты; прочие ненаркотические анальгетики, включая нестероидные и другие противовоспалительные средства; другие иммуномодуляторы.

Анализ результатов осуществлялся с использованием статистической компьютерной программы SPSS (версия 10.0.7) 0) for Windows. Достоверность различий полученных результатов определялась с использованием парного либо непарного *t*-теста Стьюдента. Результаты исследования представлены как среднее  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ). Для оценки значимости расхождения частот использовался критерий  $\chi^2$ . Различия между группами считались достоверными при  $p < 0,05$ .

Эффективность лечения определялась по шкале балльной системы для оценки послеоперационных спаек при контрольной лапароскопии и повторном чревосечении [4].

\*Использование метиленового синего противопоказано у пациенток с аллергией или возможной аллергией на антисептики и дезинфицирующие средства.

\*\*В послеоперационном периоде препаратами выбора для антибактериальной терапии не должны являться фторхинолоны.

**Физические и химические свойства и фармакокинетика метиленового синего**

Физические и химические свойства	Фармакокинетика
Температура плавления: 180°C	Ионизация при желудочном pH: полная при нормальном желудочном pH
Температура кипения: нет данных	Абсорбция при пероральном приеме: 53—97%
Растворимость в воде: 35,5 г/л	Пиковые концентрации в плазме: через 30—60 мин
pH 3,0 (10 г/л H <sub>2</sub> O)	Объем распределения: 20 мл/кг
Молекулярная масса 319 г/моль	Период полувыведения из плазмы: 5—6 ч
Цвет: темно-синий в оксидантной форме, бесцветный — в редуцированной	Метаболизм: редукция в периферических тканях в лейкометиленовый синий
Химическая формула: C <sub>16</sub> H <sub>18</sub> C <sub>1</sub> N <sub>3</sub> S, 3H <sub>2</sub> O	Элиминация: с желчью, калом, мочой в виде лейкометиленового синего

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Согласно полученным данным, количество пациенток без спаечного процесса в малом тазу было выше в 3 раза в основной группе (15%) по сравнению с группой контроля (5%).

Плотность спаек, оцененная при проведении первой лапароскопии, достоверно не различалась у пациенток обеих групп и составила 10,3±0,6 и 9,4±0,8 балла в основной и контрольной группах больных соответственно. При проведении контрольной лапароскопии плотность послеоперационных спаек составила 0,9±0,02 балла у пациенток основной группы и 3,1±0,1 балла в группе контроля (p<0,05).

У всех пациенток после введения раствора метиленового синего отмечено окрашивание мочи в синий цвет, что не доставляло никакого дискомфорта обследованным. Аллергических реакций отмечено не было. Показатели прогестерона на 20—22-й день цикла, ФСГ и эстрадиола на 3—5-й день цикла находились в пределах референсных значений и не отличались от показателей, полученных в ходе предоперационного обследования.

**ОБСУЖДЕНИЕ**

Механизмы описанного эффекта метиленового синего до конца не известны. Показано, что метиленовый синий является неспецифическим блокатором NO-синтазы, действуя на все ее изоформы [18]. Возможно, воздействие на формирование спаек осуществляется посредством ингибирования оксида азота (NO). В то же время доноры оксида азота, такие как спермин оксида азота и L-аргинин, по данным многих авторов [12, 21], способны повышать вероятность формирования спаек.

Положительное воздействие метиленового синего на формирование спаек не ограничивается лишь влиянием на обмен NO. Так, он обладает антиоксидантными свойствами, ингибируя свободные радикалы кислорода, причем его эффективность значительно выше опробованных ранее препаратов с ан-

тиоксидантными свойствами для профилактики спаечного процесса (витамин E, супероксиддисмутаза, каталаза, аллопуринол) [23, 29].

В эксперименте доказано также, что интраперитонеальные аппликации метиленового синего значительно улучшают качество заживления послеоперационных ран. По всей вероятности, этот механизм также связан с подавлением активности оксида азота, однако он до конца не изучен. NO участвует в формировании коллагена, клеточной пролиферации, ангиогенезе и заживлении раны [33], при этом максимальный уровень его концентрации достигается на 3-и сутки после операции и связан с воспалительной фазой заживления раны [9]. Примечательно, что первичными эффектами NO являются следующие: вазодилатация, антимикробная активность, антиагрегантная активность, повышение проницаемости сосудов, что и составляет воспалительную фазу заживления. Установлено, что метиленовый синий действует активно в первые 3 дня послеоперационного периода на ранние стадии репарации ран посредством ингибирования NO-синтазы и снижения концентрации содержания NO [7]. По результатам экспериментальных исследований, внутрибрюшное введение метиленового синего не влияло на концентрации NO в сыворотке крови. Это объясняется тем, что данный краситель полностью ионизируется в брюшной полости до состояния физиологического раствора [8]. Более того, его абсорбция замедлена, и он может оставаться в заданной области в течение недели [13].

Метиленовый синий ингибирует метаболизм арахидоновой кислоты в тромбоцитах человека [26]. В этом качестве он является потенциальным ингибитором активации тромбоцитов, их адгезии и агрегации, параллельно с подавлением синтеза тромбосана A2 в тромбоцитах и эндотелиального простациклина I<sub>2</sub> [25, 27], роль которых в патогенезе спаечного процесса уже доказана.

Помимо этого, метиленовый синий является уникальным антиоксидантом, обладающим нейропротективными свойствами. Он блокирует железосодержащие ферменты (ксантиноксидазу), защища-

ет органы от токсических эффектов свободных радикалов кислорода, вступая в конкуренцию с молекулярным кислородом за транспорт электронов, что обуславливает его эффективность в условиях ишемически реперфузионного синдрома [19].

Одним из актуальных вопросов хирургии является вопрос о распределении терапевтических жидкостей с противоспаечным эффектом по брюшной полости и о том, какое количество жидкости будет достаточным для того, чтобы она покрывала все необходимые области. Исследований, посвященных данному вопросу, немного. В одном из них изучалось распределение жидкости у умерших людей с различной массой тела: при массе менее 60 кг 500 мл жидкости распределяются равномерно. При массе тела от 60 до 100 кг 1000 мл жидкости распределены равномерно только в 70% случаев, более 100 кг — в 75%. Наиболее важным фактором распределения жидкости считается диафрагмально-кишечная связка [17]. Однако это исследование не является особенно актуальным, поскольку в брюшной полости зарегистрировано различное давление. Так, в нижних отделах живота давление в 3 раза превышает показатели в верхних отделах живота, что в норме способствует движению растворов в подпеченочное и поддиафрагмальное пространство [31].

В последнее время появились сообщения о том, что 0,9% раствор NaCl, широко используемый для санации брюшной полости при хирургических вмешательствах, не является оптимальным [6] и может рассматриваться как дополнительный фактор фиброза в брюшной полости, влияющий на интраперитонеальный баланс между фибринолитической и антикоагулянтной системой.

0,9% раствор хлорида натрия, или «нормальный солевой раствор» содержит соду и хлорид в концентрациях 155 ммоль/л, однако соотношение  $\text{Na}^+$  и  $\text{Cl}^-$  в экстрацеллюлярном матриксе составляет 1,4. Неадекватное соотношение ионов в физиологическом растворе хлорида натрия может приводить к различным метаболическим и тканевым эффектам [32]. Более того, pH данного раствора варьирует от 5,5 до 6,5, что также не соответствует физиологическому гомеостазу.

В экспериментах на животных установлено, что использование физиологического раствора хлорида натрия для санации брюшной полости при нормальной температуре повышало количество послеоперационных спаек по сравнению с группой контроля, в которой ирригация не проводилась [22]. Подобный эффект не наблюдался при использовании данного раствора в условиях пониженной температуры [15].

Исследования *in vitro* показали, что 0,9% раствор NaCl снижает биосинтез интерлейкина-6, тканевого активатора плазминогена и ингибитора активатора плазминогена 1-го типа, что приводит к снижению

фибринолитической активности. Доказано также, что использование физиологического раствора для санации брюшной полости повреждает мезотелий брюшины, при этом данный эффект является зависимым от времени экспозиции.

Повторяющиеся инфузии приводят к истончению субмезотелиального слоя и активации неоваскуляризации, формированию перитонеального фиброза. Все эти изменения приводят к снижению ультрафильтрации, а также гиперплазии перитонеальных мезотелиальных клеток с повышением соотношения ядро:цитоплазма [28]. Согласно данным настоящего исследования, использование метиленового синего привело к достоверному снижению как количества, так и плотности послеоперационных спаек.

Анализ зарубежной литературы [29] показал, что флавоноиды в концентрациях 0,625 и 100 ммоль/л обладают способностью угнетать хемотаксис полиморфно-ядерных нейтрофилов, при этом наиболее выражены данные свойства у кверцетина и рутина. Данные вещества также обладают противовоспалительной, кардиопротекторной и противоопухолевой активностью [5]. Кверцетин также способен угнетать активность матриксных металлопротеиназ [11]. Протеолитические ферменты (матриксные металлопротеазы и активаторы плазминогена), выработка которых регулируется факторами роста, являются фундаментальными факторами всех стадий ангиогенеза, в том числе деградации периваскулярного матрикса и тканевой стромы, миграции и пролиферации эндотелиальных клеток сосудов. Препарат кверцетин зарегистрирован в России. (Номер и дата выдачи свидетельства: № 77.99.20.9160Б.000188.10.03).

В литературе представлены сведения о том, что системная энзимотерапия положительно влияет на частоту формирования послеоперационных спаек, существенно снижая ее. Авторы связывают наличие данного эффекта со снижением содержания ангиогенных факторов роста, в частности, сосудисто-эпителиального фактора роста A и фактора роста фибробластов-2, что подтверждает роль этих маркеров в развитии спаечного процесса и данные об этом, представленные в настоящем исследовании. В эксперименте на крысах установлено, что использование вобэнзима в течение 3—4 дней послеоперационного периода приводит к снижению формирования перитонеальных спаек. Подобный эффект наблюдался также при использовании бромелайна [20].

Таким образом, результаты проведенного исследования показали, что разработанная схема профилактики является патогенетически обоснованной, эффективной и недорогостоящей и может использоваться в комплексном лечении спаечного процесса в малом тазу.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бурлев В.А., Ледина А.В., Ильясова Н.А. Флавоноиды: значение антиоксидантных и антиангиогенных свойств в акушерстве и гинекологии. Пробл репрод 2010;1:24—31.
2. Бурлев В.А., Дубинская Е.Д., Гаспаров А.С. Перитонеальные спайки: от патогенеза до профилактики. Пробл репрод 2009;3:36—44.
3. Дигтярь А.В., Луценко Е.В., Луценко С.В., Фельдман Н.Б. Применение флаволигнанов для подавления избыточной и патологической пролиферации эндотелия сосудов. Бюл патол 2005.
4. Кулаков В.И., Адамян Л.В., Мынбаев О.А. Послеоперационные спайки. М: Медицина 1998;40.
5. Benavente-García O., Castillo J. Update on uses and properties of citrus flavonoids: new findings in anticancer, cardiovascular, and anti-inflammatory activity. J Agric Food Chem 2008;56:15:6185—6205.
6. Breborowicz A., Oreopoulos D.G. Is normal saline harmful to the peritoneum? Perit Dial Int 2005;25:Suppl 4:S67—S70.
7. Dinc Soykan, Ozaslan Cihangir, Kuru Bekir. Methylene blue prevents surgery-induced peritoneal adhesions but impairs the early phase of anastomotic wound healing. Can J Surg 2006;49:5.
8. DiSanto A.R., Wagner J.G. Pharmacokinetics of highly ionized drugs. II. Methylene blue—absorption, metabolism, and excretion in man and dog after oral administration. J Pharm Sci 1972;61:1086—1090.
9. Efron D.T., Thornton F.J., Steulten C. Expression and function of inducible nitric oxide synthase during rat colon anastomotic healing. J Gastrointest Surg 1999;3:592—601.
10. Fiander H., Schneider H. Dietary ortho phenols that induce glutathione S-transferase and increase the resistance of cells to hydrogen peroxide are potential cancer chemopreventives that act by two mechanisms: the alleviation of oxidative stress and the detoxification of mutagenic xenobiotics. Cancer Lett 2000;156:2:117—124.
11. Ganesan S., Faris A.N., Comstock A.T. et al. Quercetin prevents progression of disease in elastase/LPS-exposed mice by negatively regulating MMP expression. Respir Res 2010;11:131.
12. Gül A., Kotan Ç., Dilek I. et al. Effects of methylene blue, indigo carmine solution and autologous erythrocyte suspension on formation of adhesions after injection into rats. J Reprod Fertil 2000;120:225—229.
13. Haddad F.S. Methylene blue for x-ray localization. Surg Neurol 1998;49:338.
14. Hilliard J.J., Krause H.M., Bernstein J.I. et al. A comparison of active site binding of 4-quinolones and novel flavone gyrase inhibitors to DNA gyrase. Adv Exp Med Biol 1995;390:59—69.
15. Kappas A.M., Fatouros M., Papadimitriou K. et al. Effect of intraperitoneal saline irrigation at different temperatures on adhesion formation. Br J Surg 1988;75:854—856.
16. Liakakos T., Thomakos N., Fine P.M. et al. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management. Dig Surg 2001;18:260—273.
17. Mahmud T., Arastu M., Ellis H. Distribution of fluid within the peritoneal cavity: a cadaveric study. Clin Anat 2005;18:6:443—445.
18. Mayer B., Brunner F., Schmidt K. Inhibition of nitric oxide synthesis by methyleneblue. Biochem Pharmacol 1993;45:367—374.
19. Miculescu A., Wiklund L. Methylene blue, an old drug with new indications? J Roman de Anest Terapie Int 2010;17:1:35—41.
20. Minaev S.V., Obozin V.S., Barnash G.M., Obedin A.N. The influence of enzymes on adhesive processes in the abdominal cavity. Eur J Pediatr Surg 2009;19:6:380—383.
21. O'Reilly M.S., Holmgren L., Shing Y. et al. Angiostatin: A novel angiogenesis inhibitor of angiogenesis and tumor growth. Cell 1994;79:315—328.
22. Phillips R.K., Dudley H.A. The effect of tetracycline lavage and trauma on visceral and parietal peritoneal ultrastructure and adhesion formation. Br J Surg 1984;71:537—539.
23. Portz D.M., Elkins T.E., White R. et al. Oxygen free radicals and pelvic adhesion formation: I. Blocking oxygen free radical toxicity to prevent adhesion formation in an endometriosis model. Int J Fertil 1991;36:39—42.
24. Salaris S.C., Babbs C.F., Voorhees W.D. Methylene blue as an inhibitor of superoxide generation by xanthine oxidase. A potential new drug for the attenuation of ischemia/reperfusion injury. Biochem Pharmacol 1991;42:499—506.
25. Salvemini D., Currie M.G., Mollace V. Nitric oxide-mediated cyclooxygenase activation. J Clin Invest 1996;97:2562—2568.
26. Schafer A.I., Alexander R.W., Handin R.I. Inhibition of platelet function by organic nitrate vasodilators. Blood 1980;55:649—654.
27. Schror K., Grodzinska L., Darius H. Stimulation of coronary vascular prostacyclin and inhibition of human platelet thromboxane A2 after low-dose nitroglycerin. Thromb Res 1981;23:59—67.
28. Styszynski A., Podkowka R., Wieczorowska-Tobis K. et al. Glucose suppresses peritoneal inflammatory reactions and mesothelial hyperplasia caused by intraperitoneal saline infusion. Adv Perit Dial 2002;18:21—25.
29. Suyenaga E.S., Konrath E.L., Dresch R.R. Appraisal of the Antichemotactic Activity of Flavonoids on Polymorphonuclear Neutrophils. Planta Med 2010;5.
30. Tayyar M., Basbug M. The effects of intraperitoneal piroxicam and low molecular weight heparin in prevention of adhesion reformation in rat uterine horn. Res Exp Med (Berl) 1999;198:269—275.
31. Turco G., Chiesa G.M., de Manzoni G. Echographic anatomy of the greater peritoneal cavity and its recesses. Radiol Med 1988;75:1—2:46—55.
32. Veech R.L. The toxic impact of parenteral solutions on the metabolism of cells: a hypothesis for physiological parenteral therapy. Am J Clin Nutr 1986;44:519—520.
33. Witte M.B., Barbul A. Role of nitric oxide in wound repair. Am J Surg 2002;183:406—412.