

## **Местный гемостаз при экспериментальных гастродуоденальных кровотечениях**

Работа посвящена изучению эффективности применения поликапрана для эндоскопического гемостаза при экспериментальном язвенном кровотечении. Ключевые слова: местный гемостаз, язвенные кровотечения, поликапран, эндоскопия.

В последнем десятилетии в Республике наблюдается неуклонный рост числа больных с кровотечениями из язв желудка и двенадцатиперстной кишки на (43,8 %). В стационарах ежегодно растет количество хирургических вмешательств выполняемых по поводу желудочно-кишечных кровотечений. Расходы общества на лечение таких больных, особенно при необходимости выполнить операцию, значительны. В этой связи важное значение приобрела разработка новых эффективных и экономически выгодных подходов к лечению. Экстренная эндоскопия с идентификацией источника кровотечения и немедленной остановкой кровотечения через эндоскоп с помощью лекарственного обкалывания кровоточащей язвы не редко является обоснованной альтернативой хирургическому вмешательству.

Для эндоскопических инъекций с целью обеспечения местного гемостаза используются препараты, вызывающие спазм сосудов, усиливающие агрегацию тромбоцитов и тромбообразование, а также лекарственные вещества, обладающие другим механизмом гемостатического действия. Инъекции различных препаратов в область источника кровотечения обеспечивают гемостаз не только за счет местного влияния медикамента, но и благодаря инфильтрационной тампонаде сосудов, поэтому данный способ чаще других бывает эффективным. (5)

В клинической практике для этой цели часто используется этанол. Однако, как показали гистологические исследования (2), в местах введения этанола возникают мелкие очаги некроза, усиливающие воспалительную реакцию и вызывающие неблагоприятное течение язвенного процесса с задержкой заживления язвенного дефекта. Этанол не является гемостатиком и механизм его кровеостанавливающего эффекта при введении в стенку желудка связан с повреждением базальных мембран и эндотелия. При этом в области кровоточащей язвы не устраняется повышенный локальный фибринолиз, что в последующем может приводить к дезорганизации кровяного сгустка. Этанол в месте введения относительно быстро рассасывается, поэтому он не обеспечивает достаточно длительную инфильтрационную компрессию кровоточащих сосудов. Все это свидетельствует о несоответствии этанола требованиям, предъявляемым к средствам для эндоскопической остановки кровотечений. Средства для местного гемостаза должны обладать возможностью эндоскопической доставки и введения в стенку желудка или двенадцатиперстной кишки, иметь высокие гемостатические свойства, включая компрессию сосудов. Они не должны иметь антигенных и токсических свойств, вызывать выраженной отрицательной

реакции в окружающих тканях, при этом быть дешевыми и простыми и простыми в применении. (1, 6)

Таким образом, новые материалы должны иметь растворимую форму, проходить через эндоскопическую инжекторную систему, обладать комбинированным гемостатическим, антифибринолизным и, желательным, стимулирующим репаративные процессы действием.

Известно, что рассасывающееся кровеостанавливающее средство местного действия – оксицеллюлоза – способна образовывать довольно устойчивые аддукты со многими соединениями. По мере рассасывания оксицеллюлозной части высвобождается второй ингредиент, благодаря чему достигается пролонгирование действия биологически активных веществ. Местный гемостатик поликапран представляет собой оксицеллюлозный депо-препарат с включением ингибитора фибринолиза – эпсилонаминокапроновой кислоты (ЭАКК). Он имеет текстильную структуру (салфетка) и является полимер-лекарственным комплексом ЭАКК и полиангидроглюкуроновой кислоты (ПАГК). По мнению Капутского Ф.Н. и Юркштович Т.Л. (1989) прокуагулянтная активность ПАГК связывается с ионообменным механизмом, а гемостатическое действие ЭАКК основывается на ее антифибринолизных свойствах. Следовательно, поликапран представляет собой уникальный местный гемостатик, в котором ПАГК осуществляет ускорение тромбообразования, а ЭАКК снижает процессы тромболизиса, тем самым достигается эффективный гемостаз и профилактика повторных кровотечений.

Всестороннее изучение общей и местной реакции на имплантацию поликапрана в различные ткани организма показало полную биосовместимость, рассасываемость и отсутствие отрицательных влияний при достаточной гемостатической активности.(3, 4) Поликапран в виде рассасывающихся салфеток разрешен к клиническому использованию. При промышленном выпуске салфеток из полотна поликапрана возникают остатки, которые составляют до 30 % от общей массы производимого препарата. Путем переработки остатков поликапрана образуется его порошок и таким образом обеспечивается сырьем производство порошковой формы препарата. Клинические испытания выявили достаточную гемостатическую активность, однако порошок вызывал чувство жжения при присыпании раневой поверхности. Как выяснилось, это было обусловлено некоторым несоответствием рН порошка поликапрана физиологическому кислотно-щелочному состоянию раневой среды. При растворении порошка создавалась среда рН ниже 5.6, по этому необходимо было провести дополнительную нейтрализацию поликапрана. В результате была получена частично нейтрализованная водорастворимая порошковая форма поликапрана. При этом несколько изменилась химическая форма препарата. Это означает, что был создан практически новый лекарственный препарат, который может иметь другую лекарственную форму (раствор) с отличающимся способом использования. В соответствии с Фармакопейными требованиями возникла необходимость проведения дополнительных медико-биологических испытаний. Задачи настоящего исследования являлось проведение экспериментального испытания эффективности этого нового гемостатического материала при гастродуоденальных кровотечениях.

Материал и методы

Модель острого гастродуоденального кровотечения создавали путем образования дефекта слизистой оболочки и подслизистого слоя в антральном отделе желудка ближе к большой кривизне (зона ветвления правой желудочно- сальниковой артерии). При этом возникало кровотечение, остановку которого в контрольной серии (10 животных) не производили, а в опытных сериях осуществляли инъекционным методом с 0.85 % раствора NaCl, растворов оксицеллюлозы и растворов поликапрана. Гастротомическое отверстие и лапаротомную рану ушивали животных снимали с опыта на 1, 3, 7, 14, 21, 28 сутки, участок стенки желудка в месте введения растворов оксицеллюлозы и поликапрана подвергался морфологическому исследованию. Контролем морфологических исследований была стенка желудка, в которую вводили физиологический раствор. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, для изучения соединительной ткани – пикрофуксином по Ван-Гизон, а для визуализации введенных растворов срезы окрашивали по методике Марциус-Алый-Голубой (МАГ). Продолжительность кровотечения контролировали прикладыванием каждые 2 – 3 сек. кусочков фильтрованной бумаги к кровоточащей поверхности до полной его остановки. Время остановки кровотечения фиксировалось визуально по секундомеру. С учетом материалов опытов остановки гастродуоденальных кровотечений оценивали возможность его использования для инъекционного эндоскопического гемостаза.

#### Результаты и обсуждение

Эффективность инъекционного местного гемостаза с использованием растворов поликапрана при экспериментальном гастродуоденальном кровотечении исследована впервые. В контрольной серии, где каких-либо гемостатических мероприятий не проводилось, в течение первых двух часов после операции погибло 4 животных (40 %). При их вскрытии выявлены признаки состоявшегося гастродуоденального кровотечения: в желудке и ближайших к нему отделах кишечника находилась измененная кровь. В области дефекта слизистой оболочки желудка в 2-х случаях обнаружен фиксированный красный кровяной сгусток, в двух – дефект, напоминавший острую язву со следами темных частичек типа соляно-кислотного гематина на ее дне.

Во второй серии использовали физиологический раствор 0.3 - 0.5 мл при введении которого гемостатический эффект достигался только благодаря инфильтрационной тампонаде сосудов. Кровотечение из краев дефекта во всех случаях остановилось непосредственно в ходе введения физиологического раствора и создания инфильтрата, приподнимавшего слизистую оболочку в зоне инъекции. Эта серия эксперимента служила еще одним контролем для изучения патоморфологических изменений, происходящих в зоне источника гастродуоденального кровотечения в разные сроки. В данной серии в течение 1-х суток после операции умерло 2 животных (20 %), в желудке и начальном отделе кишечника которых была обнаружена измененная кровь.

В опытных сериях вблизи края кровоточащего дефекта в подслизистый слой инъекционным путем из 3-х равноудаленных точек периметра источника кровотечения вводили растворы оксицеллюлозы и поликапрана. При применении растворов оксицеллюлозы и поликапрана гемостаз достигнут в 100 % случаев, все животные выжили, рецидивов кровотечения не наблюдалось. Животных

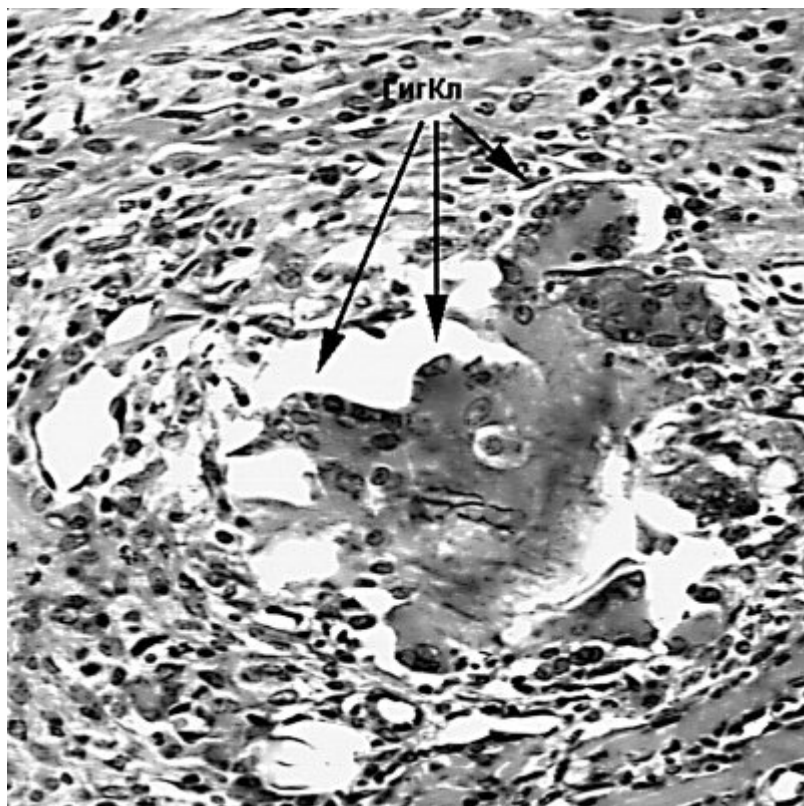
снимали с опыта на 1,3,7, 14 и 21 сутки, область введения растворов забирали для морфологического исследования.

Гистологически в 1-е сутки выявлено скопление раствора оксицеллюлозы и поликапрана в месте их инъекции в подслизистой основе стенки желудка. О нахождении введенных веществ можно было судить по резкому расширению подслизистого слоя. При этом волокнистые элементы соединительной ткани подслизистой основы, представленные коллагеновыми, ретикулярными и эластическими волокнами, были отечны и несколько разволокнены. Введение оксицеллюлозы сопровождалось развитием незначительной полиморфноклеточной инфильтрации подслизистой основы с преобладанием плазматических клеток. Введение поликапрана сопровождалось выраженным расширением подслизистой основы желудка, мышечная и серозная оболочка при этом не изменялись. При окраске МАГ введенный в стенку желудка раствор поликапрана окрашивали в сиреневый цвет, он заполнял значительную часть подслизистой основы, скапливаясь преимущественно в базальных ее отделах на границе с мышечной оболочкой. В некоторых участках определялись скопления нейтрофильных лейкоцитов.

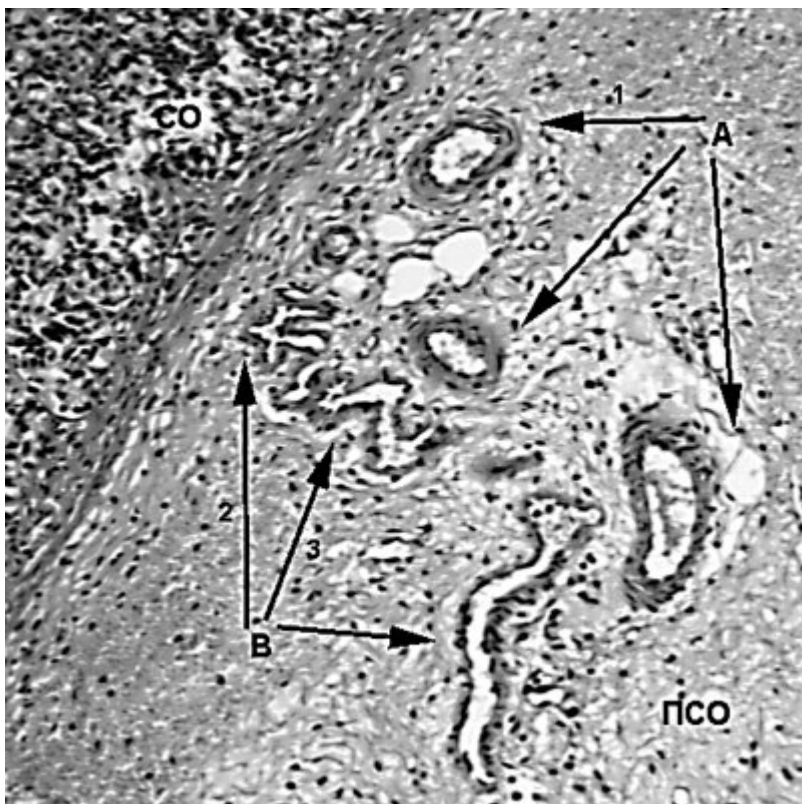
При введении раствора оксицеллюлозы и поликапрана происходит перестройка сосудов, изменяется ширина их просвета и строение микроциркуляторного русла. Сосудистая сеть в желудке, как известно, хорошо развита, и её сложная архитектура обеспечивает чрезвычайно адаптивное, меняющееся в широких пределах кровообращение. Это достигается анастомозированием сосудов и хорошо развитым подслизистым сплетением артерий и вен. При введении оксицеллюлозы и поликапрана возникала умеренная механическая компрессия сосудов всех калибров, степень которой для обоих растворов была почти одинаковой. Кровенаполнение одних сосудов было умеренным, других - слабым. Многие спавшиеся артериолы и капилляры имели вид клеточных тяжей. В сосудах среднего калибра можно было видеть гомогенную бледно-розовую массу с небольшим количеством эритроцитов, располагающихся большей частью эксцентрично. Сосуды большего калибра, преимущественно артериальные, находились в состоянии спазма с сужением просвета. Сужение просвета сосудов сопровождалось изменением соотношения просвета и стенки в виде «расширения» интимы и мышечного слоя, резкой извитости эластических волокон, что особенно хорошо было заметно при окраске МАГ. Эластические волокна выглядели складчатыми, в толще стенки сосуда они были сближены друг с другом. Очертания вен были причудливые. Местами они были змеевидно извиты, а на поперечном срезе имели звездчатую форму за счет складчатости внутренней и средней оболочек и наличия бухтообразных углублений и выступов. При введении физиологического раствора расширение подслизистой основы было значительно меньшим, что вероятно, можно объяснить быстрым рассасыванием введенной жидкости. Артерии и вены, а также сосуды микроциркуляторного русла находились в нормальном состоянии.

При введении физиологического раствора морфологическое строение стенки желудка на 3-й сутки было нормальным. После введения раствора оксицеллюлозы и поликапрана в месте их инъекции сохранялось расширение подслизистой основы, однако степень отека уменьшалась. В слизистой, мышечной и серозной оболочках изменений обнаружено не было.

Раствор оксицеллюлозы можно было видеть на обычных препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, в виде комковатых небольших и более крупных разрозненных скоплений. Вокруг них отмечалась незначительная полиморфноклеточная инфильтрация. Морфологическая картина при введении поликапрана характеризовалась умеренным отеком подслизистой основы желудка и скудной полиморфноклеточной инфильтрацией. Расширение подслизистой основы в случаях введения оксицеллюлозы и поликапрана сопровождалось умеренной компрессией сосудов, однако степень ее выраженности была несколько меньше, чем в 1 сутки (рис 1).



На 7-е сутки после введения физиологического раствора изменений в стенке желудка обнаружено не было. В области введения поликапрана сохранялось незначительное расширение подслизистой основы, просветы сосудов были не изменены. В слизистой, мышечной и серозной оболочках изменений также не обнаружено. Оксицеллюлоза определялась в виде компактных кристаллических масс. Вокруг них отмечалось умеренное продуктивное воспаление по типу гранулемы вокруг инородного тела. В воспалительном инфильтрате преобладали гигантские многоядерные клетки типа инородных тел (рис. 2).



На 14-е сутки после введения физиологического раствора изменений в стенке желудка обнаружено не было. В случаях применения поликапрана и оксицеллюлозы сохранялось некоторое расширение подслизистой основы, более выраженное, при использовании оксицеллюлозы. Основное вещество соединительной ткани характеризовалось некоторым увеличением плотности и незначительным скоплением единичных лимфоцитов и плазматических клеток. При окраске соединительной ткани по Ван-Гизон степень фиброза была незначительной и почти не отличалась от контроля (введение физиологического раствора). На 21-е и 28 сутки после введения различных растворов в стенку желудка морфологическая картина во всех трех сериях (введение физиологического раствора, оксицеллюлозы и поликапрана) была нормальной без патологических изменений в слизистой, мышечной, серозной оболочках и подслизистой основе желудка.

Таким образом, введение оксицеллюлозы и поликапрана в стенку желудка не вызывает никаких альтеративных изменений в его слоях. В первые сутки возникает незначительная инфильтрация нейтрофильными лейкоцитами в месте введения поликапрана, преимущественно плазматическими клетками в месте введения оксицеллюлозы. В случаях применения последней на 7-е сутки наблюдается кристаллизация раствора и развивается продуктивная воспалительная реакция. Однако в последующем происходит рассасывание вещества и структура ткани полностью восстанавливается. К 14 суткам после введения оксицеллюлозы и поликапрана морфология желудка не отличается от нормальной.

Наиболее важным и положительным является то, что растворы поликапрана и оксицеллюлозы вызывают длительную компрессию сосудов подслизистой основы. Поскольку оксицеллюлоза является биополимером, макромолекула которого состоит из ангидро-Д-глюкозных звеньев, она не имеет структурных единиц, обуславливающих нежелательное воздействие на окружающие ткани.

При её рассасывании имеет место явление химической биодеградации с распадом до составляющих, способных выводиться из организма. Это растянутый во времени процесс, благодаря чему после инъекции в стенку желудка обеспечивается достаточно длительная компрессия сосудов, что предотвращает развитие рецидива кровотечения. По мере рассасывания оксицеллюлозной части препарата освобождается второй ингредиент депо-препарата, которым является эпсилонаминокапроновая кислота, способная подавлять фибринолиз в области язвы и стабилизировать наступивший гемостаз. Сравнение острой перестройки сосудов, вызванной раствором поликапрана и оксицеллюлозы, с контролем (введение изотонического раствора хлорида натрия) показали, что гистологические критерии перестройки сосудистых стенок не является артефактом. Естественно, степень изменений сосудов в каждом конкретном случае будет зависеть от количества введенного раствора и индивидуальных особенностей стенки желудка. Отсутствие неблагоприятных морфологических реакций на введение поликапрана позволяют рекомендовать препарат для остановки язвенных кровотечений.

#### Заключение

Эндоскопический гемостаз при язвенном кровотечении тактически аргументирован у больных с наличием противопоказаний к операции и ее высоком риске при нестабильном гемостазе. Он оправдан как временная мера у больных с высокой вероятностью рецидива кровотечения для проведения более полной подготовки к операции. В настоящее время лучшие результаты дает эндоскопический гемостаз, осуществляемый инъекцией растворов в края кровоточащей язвы.

Раствор поликапрана обладает хорошим гемостатическим свойством при введении его в края источника гастродуоденального кровотечения. Его гемостатические свойства обусловлены прокоагулянтным действием оксицеллюлозы, антифибринолизным свойством эпсилонаминокапроновой кислоты и механическим сдавлением сосудов в краях язвы. Введение раствора поликапрана не вызывает повреждающего эффекта и выраженной реакции в тканях желудка, а его рассасывание через 7 – 14 дней обеспечивает гемостатическое действие в течение длительного времени. Создание отечественного местного гемостатика позволит широко применять его в лечебных учреждениях республики с хорошим эффектом и без больших валютных затрат.

#### Литература

1. Олещук В.Ю. Кровообращение и кислородный режим организма при лечении геморрагического шока кровезаменителем полиоксидином // Инфузионно-трансфузионная терапия при неотложных состояниях и травме на догоспитальном этапе и в клинике: Сб. науч. тр.- Л.: ЛенНИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе, 1990. - С. 94-100.
2. Пытель Е.В. Эндоскопический инъекционный метод остановки острых гастродуоденальных кровотечений этанолом: Автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.27. - М.. - 1996. - 18 с.
3. Стельмах В.А., Кондратенко Г.Г., Юркштович Т.Л. Поликапран 3. Гемостатическая активность при экспериментальных коагуляциях // Вестн. Белор. ун-та. Сер. 2. - 1993.- №3.- С. 48-52.

4. Стельмах В.А., Кондратенко Г.Г., Юркштович Т.Л. Поликапран. Особенности биодegradации локального гемостатика при имплантационном применении // Вестн. Белор. ун-та. Сер. 2. - 1994.- №1.- С. 31-35.
5. Endoscopic control of gastrointestinal hemorrhage by local injection of absolute ethanol: A basic assessment of the procedure / S. Asaki, T. Nishimura, A. Satoh, Y. Goto // Tohoku J. Exp. Med.- 1983.- Vol. 140, №4.- P. 339-352.
6. Soehendra N., Grimm H., Berger B. N-butyl-2-Cyanocrylate: a supplement to endoscopic sclerotherapy // Endoscopy.- 1987.- Vol. 19, №6.- P. 221-224.