

Государственное Образовательное Учреждение  
Высшего Профессионального Образования  
Курский Государственный Медицинский Университет  
Министерство Здравоохранения Российской Федерации  
Кафедра Оперативной хирургии и топографической анатомии  
Заведующий кафедрой: д.м.н., профессор Бежин А. И.  
Кафедра Онкологии  
Заведующий кафедрой: к.м.н., доцент Хвостовой В. В.

# Дипломная работа

Эффективность применения препаратов с цитостатическим эффектом для профилактики послеоперационного спаечного процесса в брюшной полости (экспериментальное исследование).

Руководители: д.м.н., профессор  
Липатов Вячеслав Александрович  
к.м.н., ассистент

Фролова Оксана Геннадьевна

Выполнил:

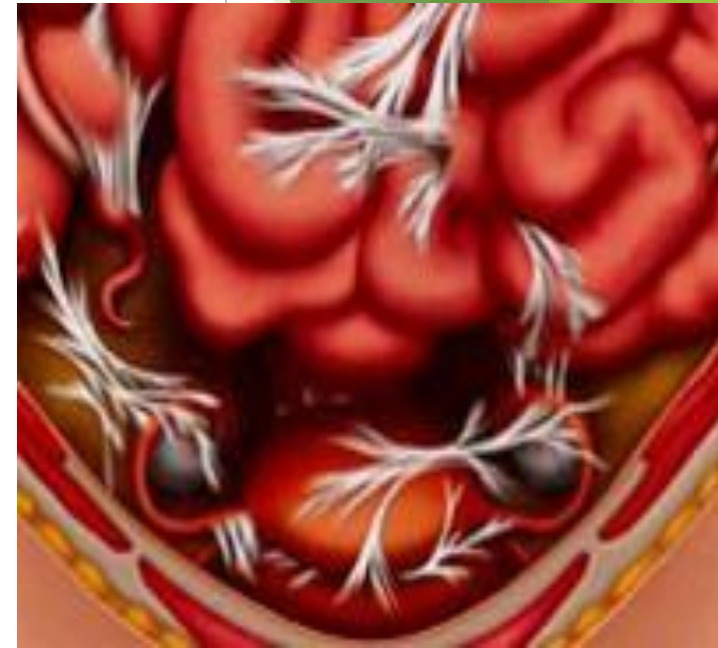
Студент 6 курса 9 группы Михеев Дмитрий Владимирович

Курск-2016г

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования.

Спаечная болезнь брюшины остается одним из распространенных хирургических заболеваний живота. По данным Международного общества по изучению спаек послеоперационный спаечный процесс в брюшной полости одним из самых частых осложнений абдоминальных оперативных вмешательств. По поводу спаечной болезни ежегодно в хирургических отделениях оперируется до 1% ранее прооперированных больных, у 50% из которых развивается спаечная кишечная непроходимость с летальностью от 10 до 15%.



## **ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Изучить влияние применения депонированных в полимерном средстве «Мезогель» препаратов с цитостатическим действием и препарата «Мексикор<sup>®</sup>» на вероятность послеоперационного СПБП в эксперименте.

## **ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ**

1. Оценить в эксперименте *in vitro* инертность компонентов системы депонированных в противоспаечном «Мезогеле».
2. Оценить в ходе эксперимента *in vivo* эффективность противоспаечных свойств «Мезогеля» с иммобилизованными в нем цитостатическими препаратами.
3. Оценить в эксперименте на животных противоспаечную эффективность препарата «Мексикор<sup>®</sup>» на фоне применения цитостатических препаратов, депонированных в «Мезогеле».

# Анализ литературных данных

Вне зависимости от используемой техники сохраняются нерешенные вопросы в оперативных приемах проведения любого варианта внутрибрюшной химиотерапии.

Остается актуальным вопрос поиска новых способов системной и локальной химиотерапии, направленного на предупреждение развития и прогрессирования канцероматоза с одномоментной профилактикой спаечной болезни у пациентов онкологического профиля.

В связи с невозможностью определенных классов препаратов, механизм действия которых связан с подавлением роста сосудов в опухолевых тканях, локального ингибирования ангиогенеза в опухолевых тканях определенный интерес представляет изучение возможности коррекции микроциркуляторных нарушений путем применения препарата «Мексикор®» (2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат) ООО ЭкоФармИнвест, обладающего антиоксидантной, противоишемической, антигипоксической активностью, а также способностью регулировать метаболические процессы в сердечно-сосудистой системе.

# МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование носило экспериментальный характер и было выполнено на базе кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии научно-исследовательского института экологической медицины ГБОУ ВПО Курского государственного медицинского университета Минздрава РФ, и на кафедре высокомолекулярных соединений и коллоидов Воронежского государственного университета.



## ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ

### ПРЕПАРАТЫ

*Мексикор* – (Oxymethylethylpyridine succinate, 2-Этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат). Фармакологическое действие - антиоксидантное, мембраностабилизирующее, ноотропное, церебропротективное, адаптогенное, анксиолитическое.

*Цисплатин* (Cisplatin, цис-Диаминдихлорплатина) противоопухолевый препарат. Образует поперечные связи одинарной и двойной цепей ДНК, нарушает ее матричную функцию и подавляет биосинтез нуклеиновых кислот, вызывая гибель клетки; влияет на иммунную систему, вызывает регрессию первичных опухолей и метастазов. Содержит тяжелый металл платину.

*Циклофосфан* (Cyclophosphamide, N,N-бис(2-Хлорэтил)тетрагидро-2Н-1,3,2-оксазафосфорин-2-амин-2-оксид). Фармакологическое действие - противоопухолевое (цитостатическое), алкилирующее, иммунодепрессивное.

## Экспериментальный блок исследования *in vitro*

С целью установления возможных изменений физико-химических свойств основного компонента «Мезогеля» - карбоксиметилцеллюлозы - с исследуемыми препаратами (цисплатин, циклофосфан) проведено исследование смесей «Мезогеля» с цитостатиками методами ультрафиолетовой (УФ) и инфракрасной (ИК) спектроскопии. Предварительно регистрировали УФ- и ИК-спектры исследуемых препаратов, а затем их смесей. Проведены 2 серии физико-химических исследований *in vitro* (таблица 2).



# Схема по изучению инертности компонентов смесей эксперимента in vitro

Серия эксперимента	Схема анализируемой инертности компонентов смесей при УФ- и ИК-спектроскопии	Число опытов
1	100 мл «Мезогеля» + 100 мл (50 мг) Цисплатин-Эбеве (производство Австрия)	10
2	100 мл «Мезогеля»+ 200 мг Циклофосфан-ЛЭНС быстрорастворимый (производство «Верофарм» Россия)	10

## **Экспериментальный блок исследования in vivo**

Экспериментальный блок исследования был выполнен на 104 белых лабораторных крысах-альбиносах линии Вистар мужского пола массой 250-300 г. Для исследования отбирались животные без внешних признаков заболевания. Животные содержались в одинаковых условиях на стандартном пищевом и питьевом режиме.

Были сформированы шесть групп животных (таблица 3).

Таблица 3

№ группы	Характеристика группы	Количество животных
1	Модель СПБП	16
2	Модель СПБП с введением «Мезогеля»	16
3	Модель СПБП+ Цисплатин	18
4	Модель СПБП + Циклофосфан	18
5	Модель СПБП+ Цисплатин+ «Мексикор®»	18
6	Модель СПБП + циклофосфан+ «Мексикор®»	18

Во всех экспериментальных группах до и после экспериментов у всех животных оценивалось общее состояние по предложенной методике, представленной в таблице 4.

Показатели	Баллы
Реакция на внешние раздражители отсутствует, рефлексы и фотореакция зрачков отсутствуют, дыхание редкое, аритмичное	1
Реакция на раздражители отсутствует, рефлексы угнетены, дыхание частое, поверхностное	2
Реакция на сильные внешние раздражители, животное заторможено. Не пьет, пищу не принимает	3
Животное адекватно реагирует на внешние раздражители, пьет воду, пищу не принимает, вялое, передвигается по клетке с неохотой	4
Поведение животного не отличается от поведения здорового (интактного) животного: активно передвигается по клетке, пьет и принимает пищу	5

Метод объективной оценки выраженности спаечного процесса брюшной полости представляет собой многофакторную балльную систему, которая учитывает коэффициенты значимости каждого оцениваемого признака и позволяет с применением принципов морфометрии и математического анализа в каждом конкретном случае интегрально оценить выраженность данного патологического явления с высокой дисперсией оценки.

## Качества, характеризующие выраженность спаечного процесса в брюшной полости и их коэффициенты весомости

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

## Оценка каждого качества СБП производилась по пятибалльной шкале

Баллы	Характеристика
0 баллов	Спайки отсутствуют
1 балл	Единичные спайки (без вовлечения в процесс внутренних органов)
2 балла	Единичные локализованные спайки с вовлечением в процесс внутренних органов
3 балла	Ограниченный одной анатомической областью спаечный процесс
4 балла	Спаечный процесс выходит за пределы одной анатомической области, захватывает не более 1/2 брюшной полости
5 баллов	Спаечный процесс захватывает более 1/2 брюшной полости или носит характер тотального спайкообразования

# Оценка деформации органов, вовлеченных в СПБП

Баллы	Характеристика
0 баллов	Деформация органов отсутствует
1 балл	Деформация выявляется лишь при применении специальных методов исследования или при нагрузке: перистальтика и т.д. (функциональная деформация)
2 балла	Незначительная, едва заметная деформация органов
3 балла	Заметная деформация внутренних органов
4 балла	Выраженная деформация внутренних органов
5 баллов	Выраженная деформация внутренних органов с нарушением пассажа (другой функции органа)



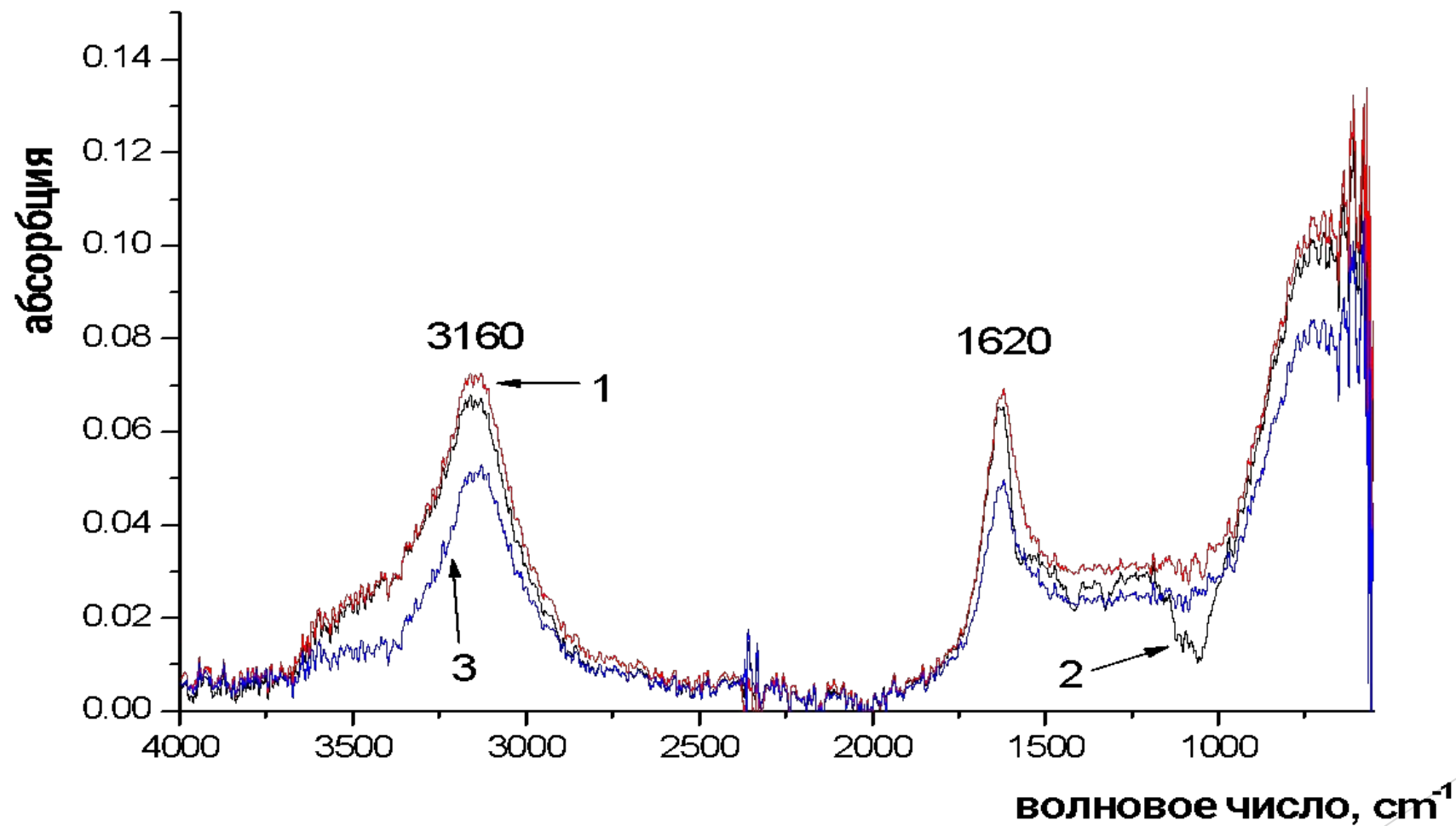
## Оценка выраженности различных видов спаек (оценивается по каждому виду спаек отдельно)

Баллы	Характеристика
0 баллов	Данный вид спаяк отсутствует
1 балл	Единичные локализованные спайки без вовлечения в СПБП внутренних органов
2 балла	Единичные висцеро-висцеральные и/или висцеро-париетальные спайки
3 балла	Множественные, локализованные в пределах одной анатомической области, спайки
4 балла	Множественные распространенные спайки, которые выходят за пределы одной анатомической области, но занимают менее 1/2 брюшной полости
5 баллов	Множественные распространенные спайки, занимающие более 1/2 или всю брюшную полость

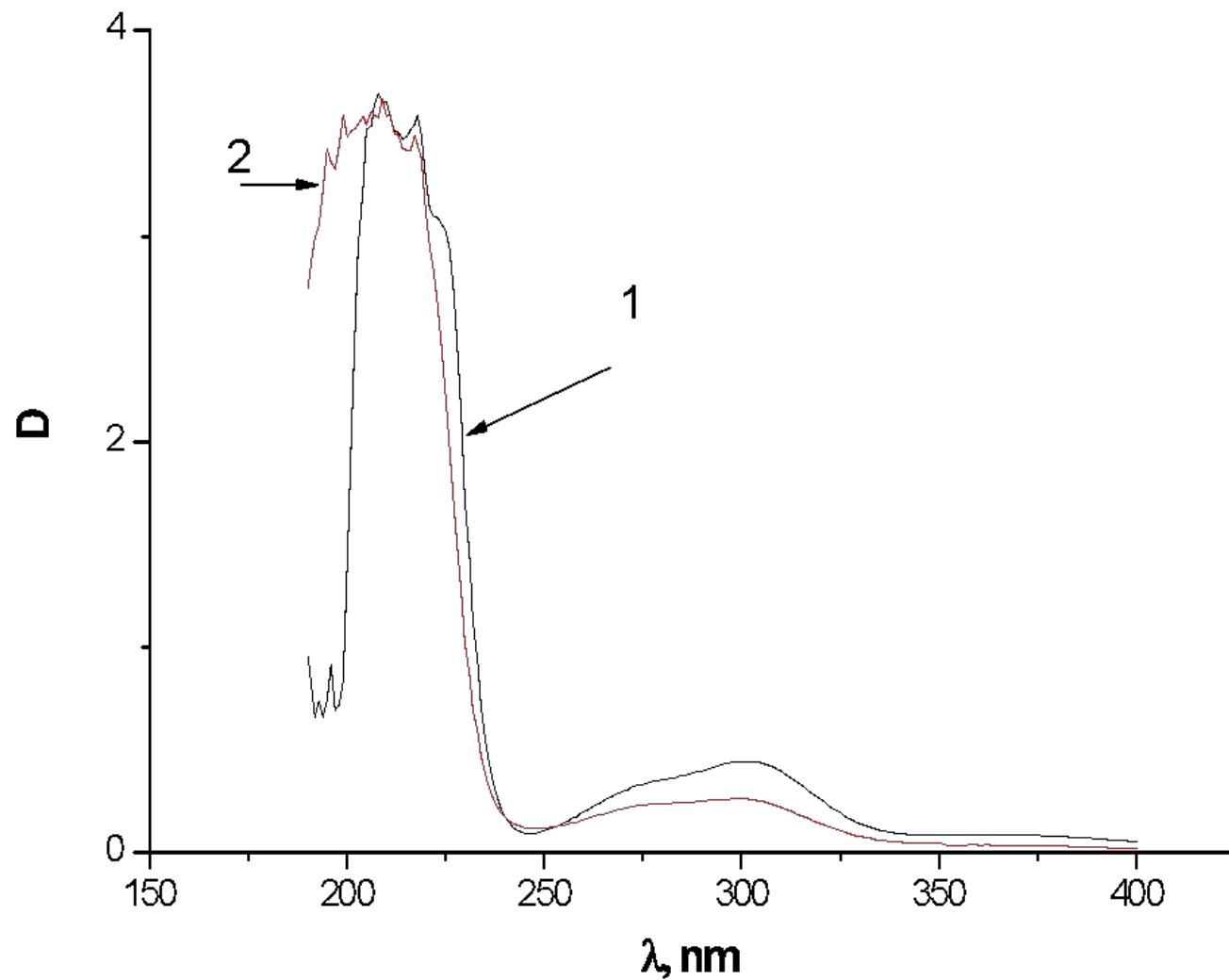
Цифровые данные обрабатывались статистически с целью изучения статистической значимости расхождений средних величин в сравниваемых группах и подгруппах исследований. Эта часть работы выполнена в соответствии со стандартами ИСО 3534-3-99 и ГОСТ Р 50779.10-2000 ( ИСО 3534-1-93) (Государственный стандарт Ростехрегулирования от 01 сентября 2007 года № ГОСТ Р ИСО 11462-1-2007). После определения показателей описательной статистики (среднее арифметическое, медиана, мода) и обнаружение существенных отклонений от кривой Гауссова распределения нами было принято решение в качестве основной методики определения уровня статистической значимости отличий использовать определение границ доверительного интервала (t) при допустимом для экспериментальных медико-биологических исследований *in vivo* уровня  $p \leq 0,05$  [9].

# РЕЗУЛЬТАТЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

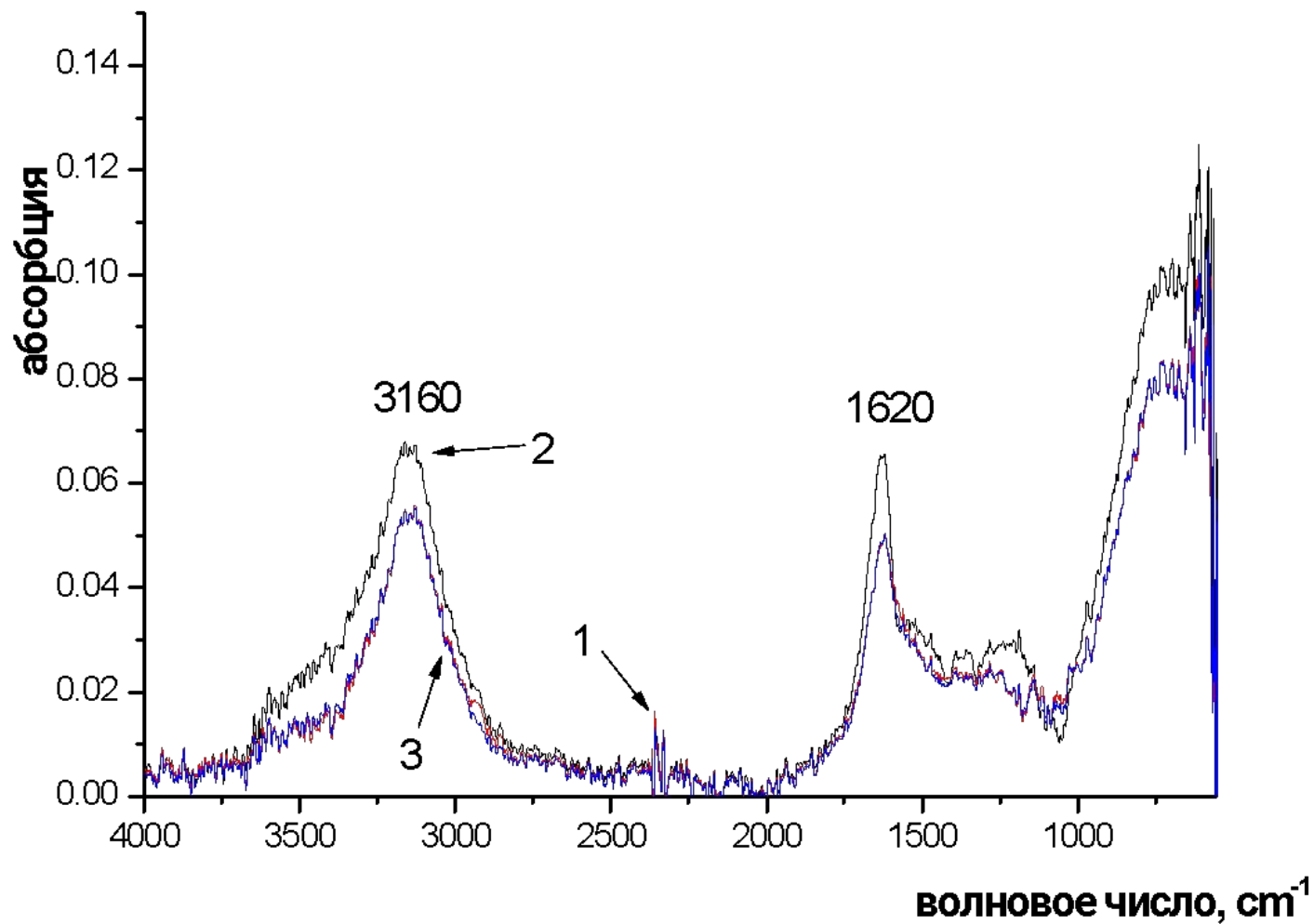
## Результаты экспериментального исследования *in vitro*



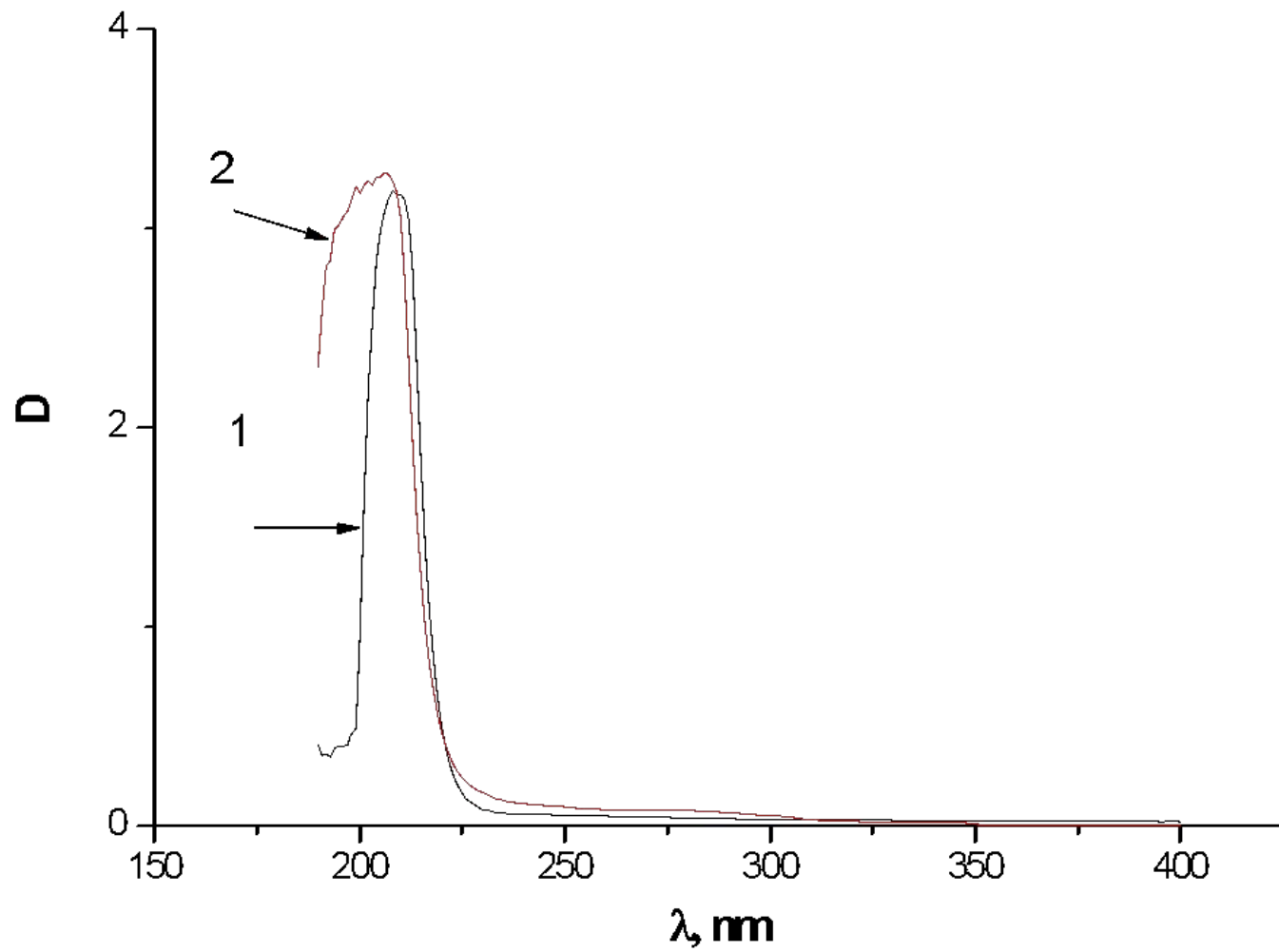
ИК-спектры: цисплатина(1); Na-КМЦ (2); смеси цисплатин + Na-КМЦ (3).



УФ - спектры: цисплатина (1); смеси цисплатин + КМЦ (2).



ИК-спектр: циклофосфана (1); Na- КМЦ (2); смеси циклофосфан + Na-КМЦ (3).



УФ - спектры: циклофосфана (1) и смеси циклофосфан + Na-KMЦ(2)

# Результаты экспериментального исследования in vivo

## Выраженность спаечного процесса брюшной полости

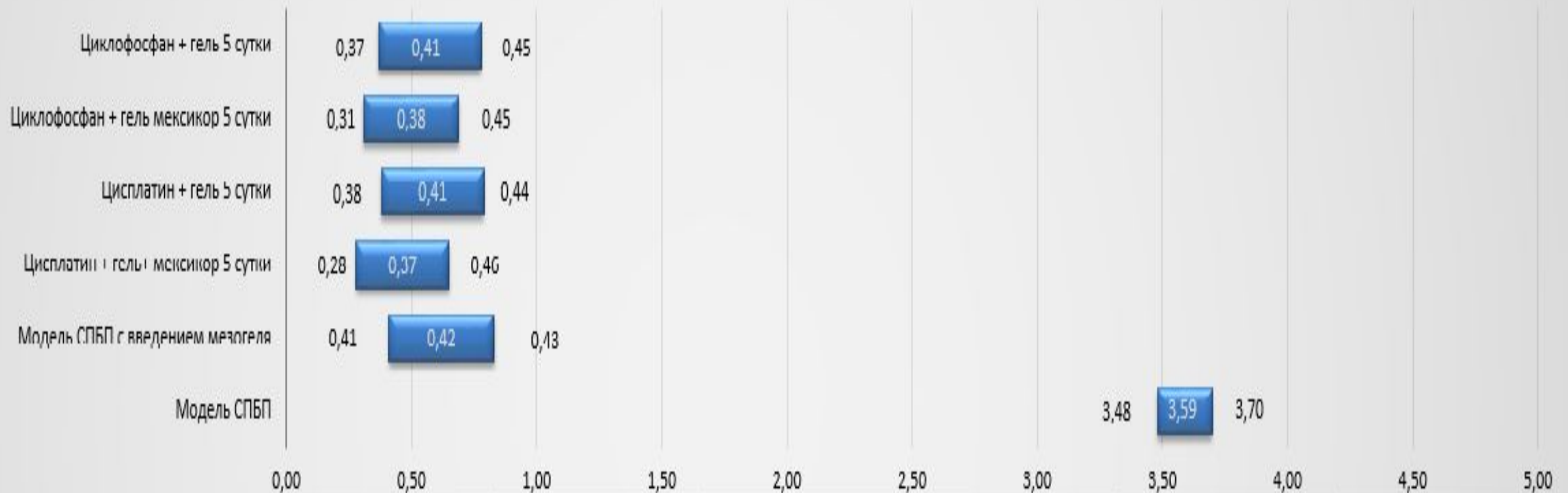
Срок	Группа 1 Модель СПБП		Группа 2 Модель СПБП+ Мезогель		Группа 3 Модель СПБП+ Цисплатин + гель		Группа 4 Модель СПБП+ Цисплатин + гель +в/м Мексикор®		Группа 5 Модель СПБП+ Циклофосфан + гель		Группа 6 Модель СПБП+ Циклофосфан + гель + в/м Мексикор®	
	М	t	М	t	М	t	М	t	М	t	М	t
5 сутки	3.59	0.11	0.42	0.01	0.37	0.09	0.41	0.03	0.41	0.04	0.38	0.07
14 сутки	3.79	0.11	0.52	0.01	0.47	0.1	0.53	0.03	0.52	0.04	0.49	0.07

## Заключение

Выполненные исследования *in vitro* выявили инертность «Мезогеля» на основе Na-КМЦ в отношении исследуемых цитостатиков – циклофосфана и цисплатина, а именно отсутствие формирования стойких химических соединений между КМЦ и цитостатиками. Иммобилизация циклофосфана и цисплатина в «Мезогеле» обеспечивает «внутрибрюшинное депо» цитостатика и постепенное высвобождение лекарственного вещества; уменьшается общая токсичность химиопрепарата. Карбоксиметилцеллюлоза препятствует формированию спаечно-опухолевых конгломератов и развитию спаечной кишечной непроходимости.



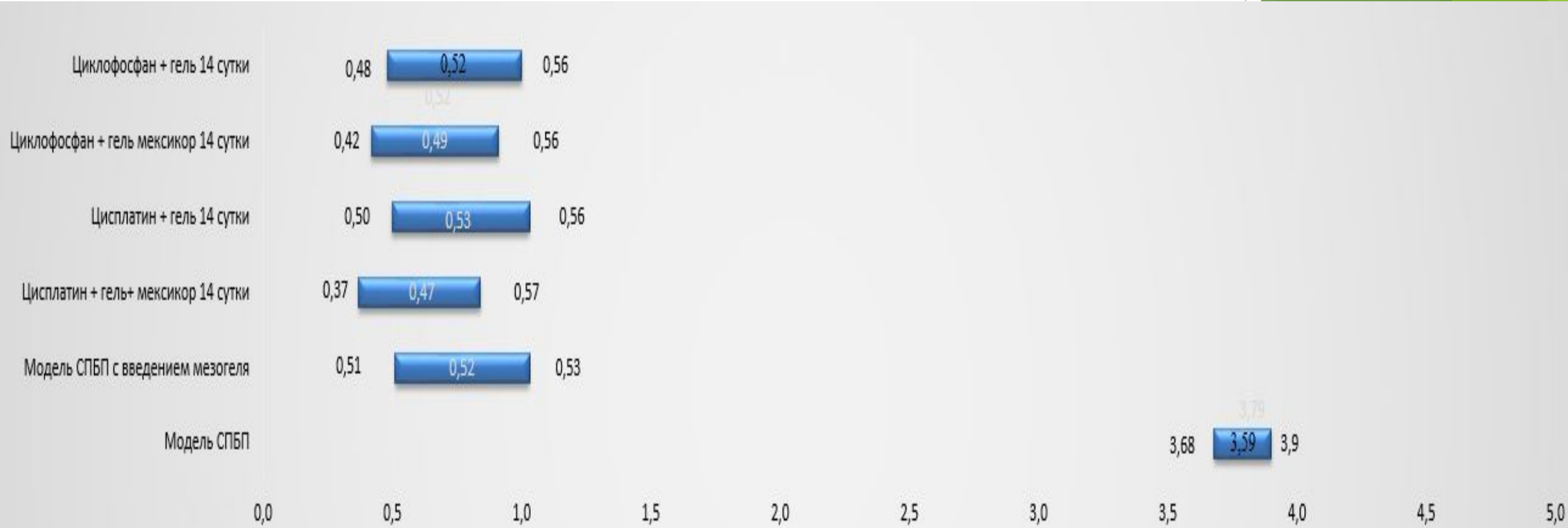
# Выраженность спаечного процесса брюшной полости у животных разных групп на 5 сутки.



	Модель СПБП	Модель СПБП с введением мезогеля	Цисплатин + гель+ мексикор 5 сутки	Цисплатин + гель 5 сутки	Циклофосфан + гель мексикор 5 сутки	Циклофосфан + гель 5 сутки
M - t	3,48	0,41	0,28	0,38	0,31	0,37
M	3,59	0,42	0,37	0,41	0,38	0,41
M+t	3,70	0,43	0,46	0,44	0,45	0,45

M - t M M+t

# Выраженность спаечного процесса брюшной полости у животных разных групп на 14-е сутки.



	Модель СПБП	Модель СПБП с введением мезогеля	Цисплатин + гель+ мексикор 14 сутки	Цисплатин + гель 14 сутки	Циклофосфан + гель мексикор 14 сутки	Циклофосфан + гель 14 сутки
М-т	3,44	0,51	0,37	0,50	0,42	0,48
М	3,59	0,52	0,47	0,53	0,49	0,52
М+т	3,74	0,53	0,57	0,56	0,56	0,56

М-т ■ М ■ М+т

## ВЫВОДЫ

1. Отсутствие формирования стойких химических соединений при взаимодействии 3% водного раствора Na-КМЦ с циклофосфаном и цисплатином, доказанное методом как УФ- и ИК-спектроскопии, подтверждает физико-химическую инертность «Мезогеля» так и введенных в его основу препаратов.
2. «Мезогель», и «Мезогель» с депонированными в нем цитостатиками обладают статистически значимым противоспаечным действием (снижают вероятность спаечных процессов в брюшной полости от 8,2 до 11,4 раз).
3. Депонирование препаратов с цитотоксическим действием в полимерном геле не вызывает увеличения послеоперационной СПБП (статистически значимые отличия между группами не выявлены).
4. Применение «Мексикора<sup>®</sup>» на фоне локальной химиотерапии цитостатиков, депонированных в полимерном геле не вызывает изменений выраженности СПБП у экспериментальных животных (доверительные интервалы  $t$  не перекрывались).