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:

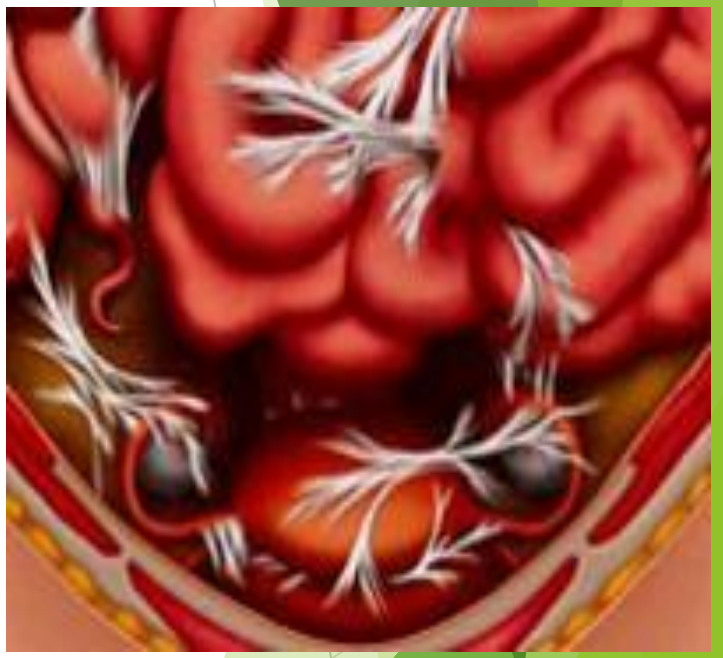
Студент 6 курса 9 группы Михеев Дмитрий Владимирович

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®» 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 иммобилизированными в нем цитостатическими препаратами.

3.Оценить в эксперименте на животных противоспаечную эффективность препарата «Мексикор®» 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 – (Oxymethylethylpiridine 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 СПБП 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)

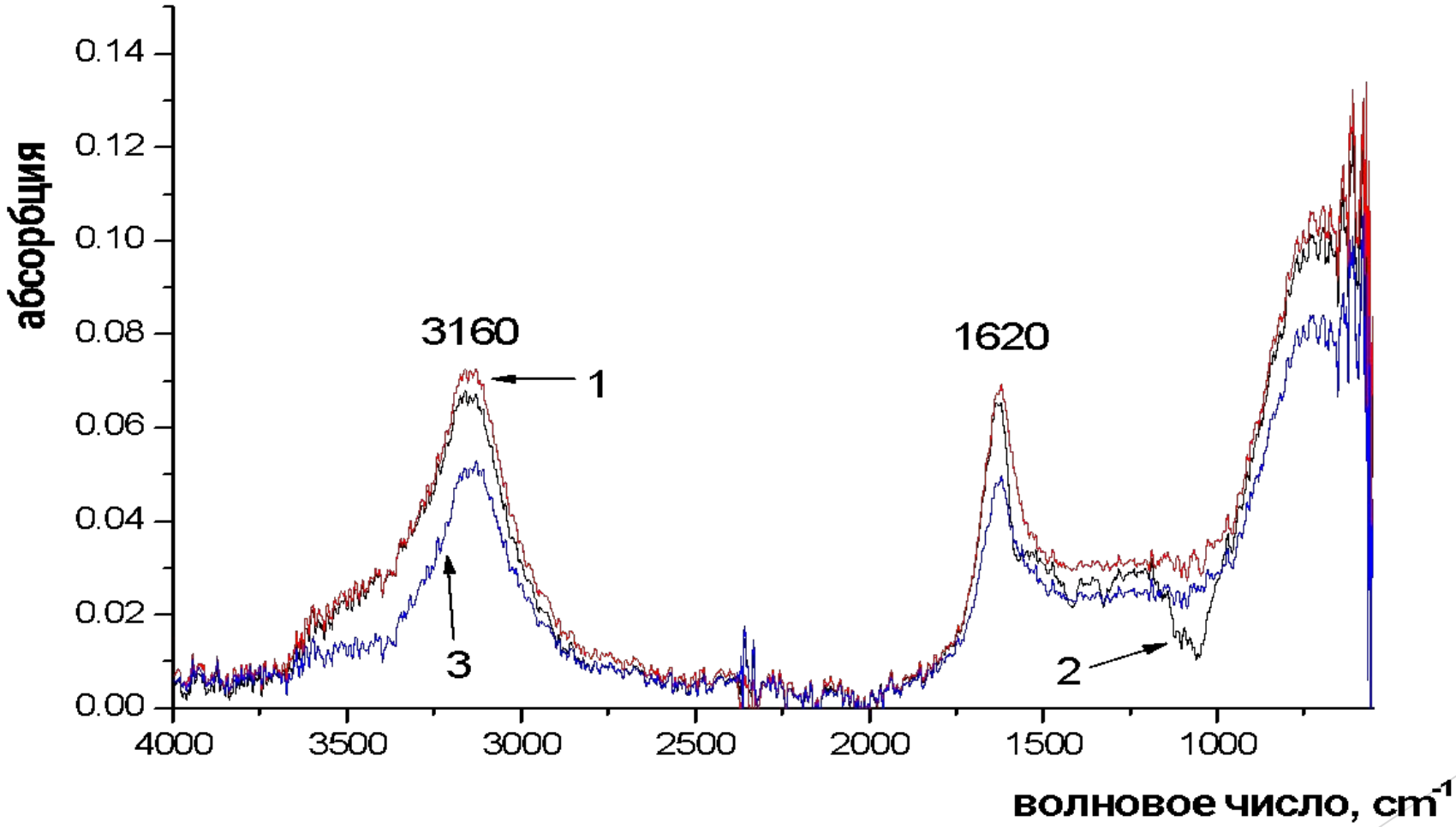
Оценка выраженности различных видов спаек (оценивается по каждому виду спаек отдельно)

Баллы	Характеристика
0 баллов	Данный вид спаек 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

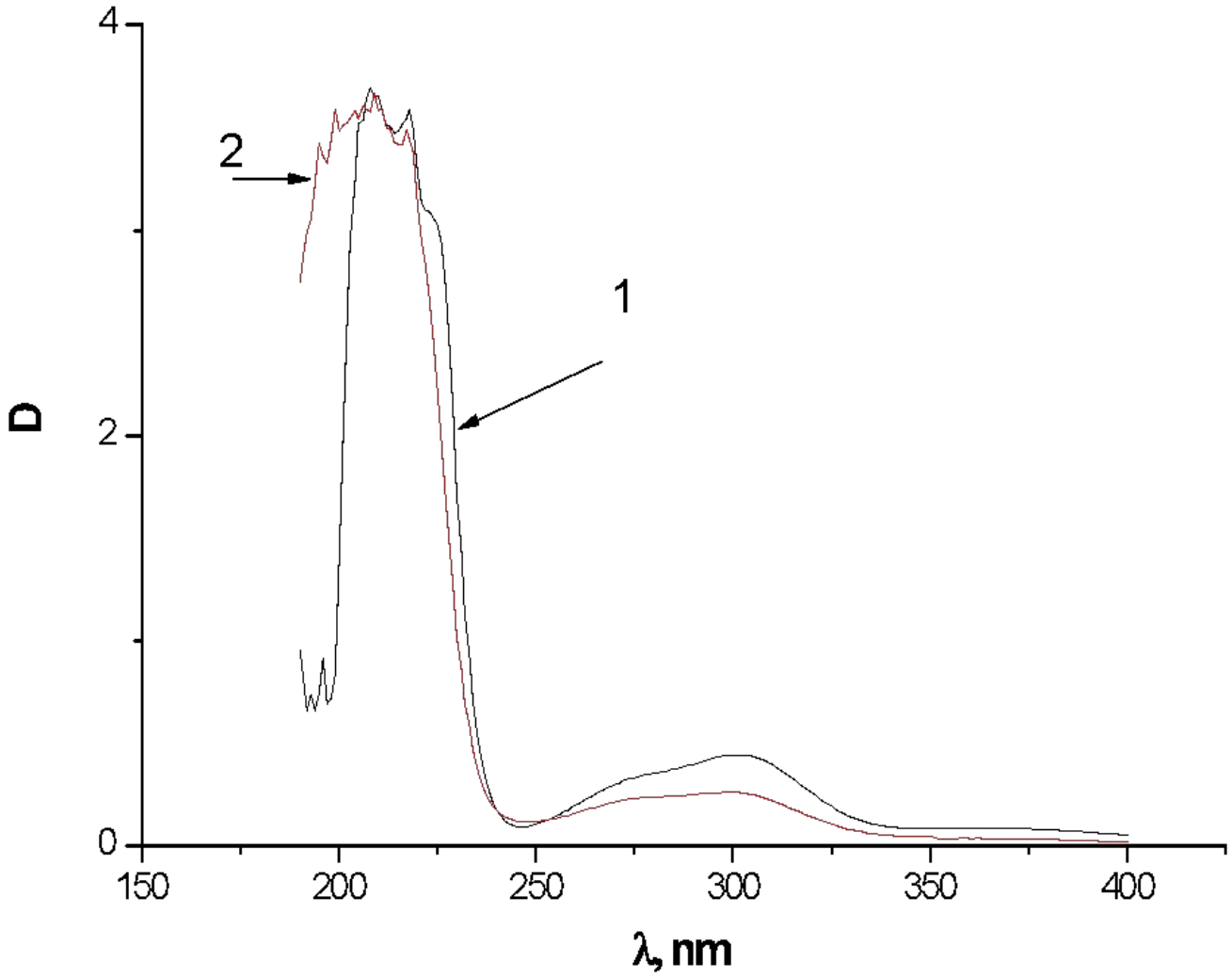
Цифровые данные обрабатывались статистически с целью изучения статистической значимости расхождений средних величин в сравниваемых группах и подгруппах исследований. Эта часть работы выполнена в соответствии со стандарстами ИСО 3534-3-99 и ГОСТ Р 50779.10-2000 (ИСО 3534-1-93) (Государственный стандарт 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

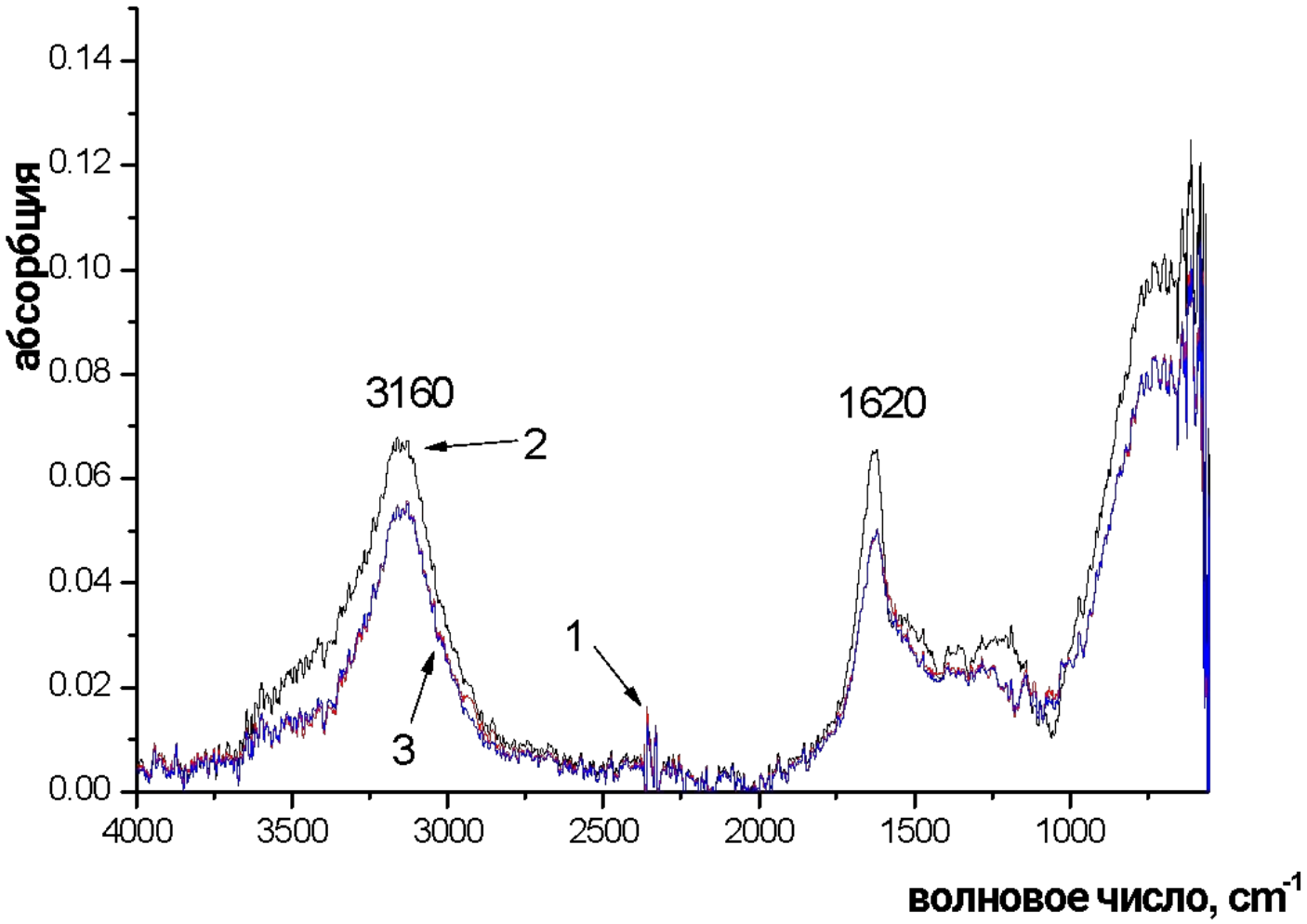
Результаты экспериментального исследования in vitro



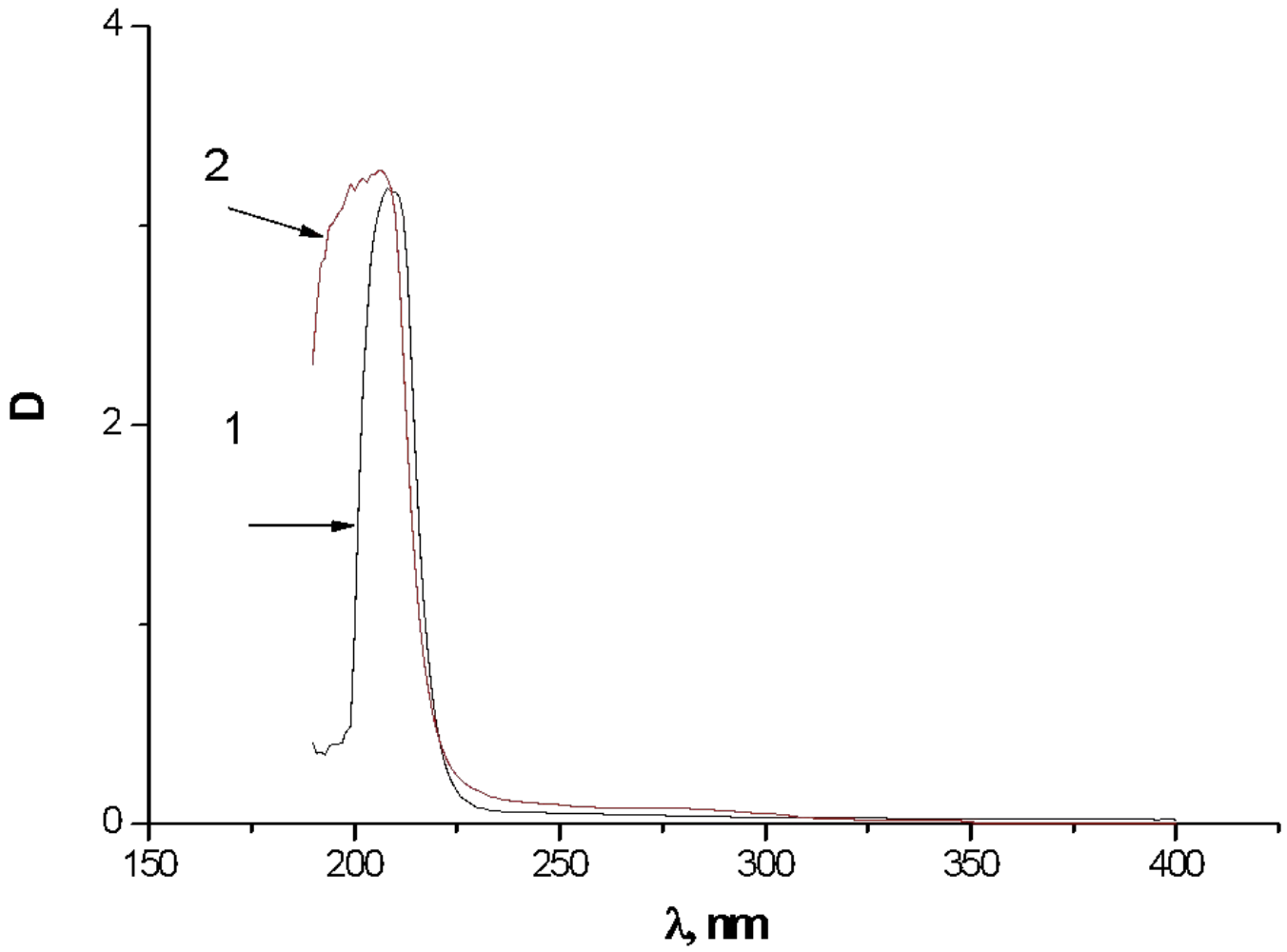
ИК-спектры: цисплатина(1); Na-КМЦ (2); смеси цисплатин + Na-КМЦ (3).



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-КМЦ(2)

Результаты экспериментального исследования in vivo

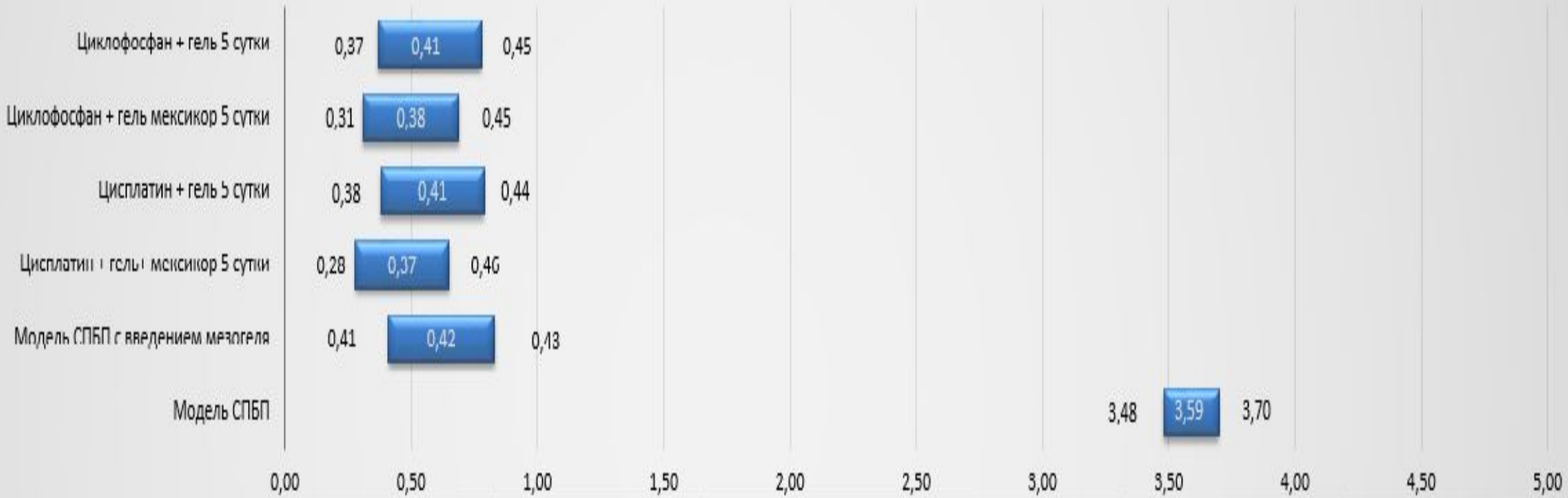
Выраженность спаечного процесса брюшной полости

Группа / 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®	
	M	t	M	t	M	t	M	t	M	t	M	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

Активация Windows

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
M - t	3,44	0,51	0,37	0,50	0,42	0,48
M	3,59	0,52	0,47	0,53	0,49	0,52
M + t	3,74	0,53	0,57	0,56	0,56	0,56

M - t M M + t

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®» на фоне локальной химиотерапии цитостатиков, депонированых в полимерном геле не вызывает изменений выраженности СПБП у экспериментальных животных (доверительные интервалы t не перекрывались).