

*На правах рукописи*

**Солдатова Дарья Сергеевна**

**КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩАЯ И ПРОТИВОСПАЕЧНАЯ АКТИВНОСТЬ  
ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ НАТРИЙ-КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ  
ПРИ РЕЗЕКЦИЯХ ПЕЧЕНИ  
И СЕЛЕЗЕНКИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

**14.01.17 – Хирургия**

**АВТОРЕФЕРАТ  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**КУРСК – 2021**

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор медицинских наук, профессор **Бежин Александр Иванович**  
доктор медицинских наук, доцент **Ишунина Татьяна Александровна**

**Официальные оппоненты:**

**Пархисенко Юрий Александрович** – доктор медицинских наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра госпитальной хирургии, профессор кафедры.

**Ефанов Михаил Германович** – доктор медицинских наук, государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский клинический научно-практический центр имени А.С. Логинова Департамента здравоохранения города Москвы», отдел гепатопанкреатобилиарной хирургии, руководитель отдела.

**Ведущая организация:** федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «\_\_»\_\_\_\_\_2021 года в \_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 208.039.02 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (305041, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3; <http://www.kurskmed.com>)

Автореферат разослан «\_\_»\_\_\_\_\_2021 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета

**Маль Галина Сергеевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность

Кровотечения и спаечный процесс являются частыми осложнениями при оперативных вмешательствах на печени и селезенке и представляют актуальную проблему для современной хирургии. Операционные и послеоперационные кровотечения могут привести к летальному исходу в 6-12% и 28-72% в зависимости от открытого или закрытого характера повреждений (Смоляр А.Н., 2016; Cocolini F. et al., 2016; Кулемин М.Э., 2019). Сложность гемостаза в таких условиях связана с особенностями строения и функциями данных органов. Паренхима печени и ее тонкостенные сосуды не сокращаются после ранения, что способствует интенсивности кровотечения и его длительности. Второй особенностью операционной травмы печени является желчеистечение, которое приводит к развитию желчного перитонита. Примесь желчи к излившейся крови задерживает ее свертывание, что в свою очередь увеличивает объем кровопотери (Котельникова Л.П., 2010; Пугаев А.В., 2018).

С другой стороны, в послеоперационном периоде возникает новая проблема – развитие спаечного процесса как в области манипуляции, так и в брюшной полости в целом. Это может быть связано с техникой самой операции, а также наличием крови и желчи в брюшной полости, особенно при развитии желчного перитонита (Абдулхакимов А.Р., 2017; Малков И.С. и соавт., 2018).

С целью остановки кровотечения хирурги все чаще применяют различные гемостатические губки на основе коллагена и желатина, с компонентами крови, фибриновые и цианкрилатные клеи и лаки (Бояринцев В.В., 2015; Будко Е.В. и соавт., 2019). Однако при использовании подавляющего большинства из этих средств нередко наблюдаются воспалительные явления в брюшной полости, приводящие к развитию спаечного процесса (Бордаков В.Н. и соавт., 2018). Спаечный процесс, вызывающий кишечную непроходимость, развитие спаечной болезни брюшины, бесплодие и др., становится причиной повторных оперативных вмешательств, что влечет за собой увеличение затрат на повторное лечение со стороны государства и ведет к значительному снижению качества жизни пациентов.

Это диктует необходимость поиска и разработки новых образцов, обладающих высокой гемостатической активностью, биологической инертностью и противоспаечными характеристиками.

Одним из полимеров, отвечающим данным требованиям, является натрий-карбоксиметилцеллюлоза (Na-КМЦ) (Таркова А.Р., 2015; Wang Y., 2019; Липатов В.А. и соавт., 2018). На протяжении многих лет ее используют в качестве профилактики спаечного процесса в брюшной полости в виде препарата «Мезогель» (4% гель Na-КМЦ) (Лазаренко В.А. и соавт., 2011; Гомон М.С. и соавт., 2018). «Мезогель» создает эффект барьера между поврежденными поверхностями, обеспечивая гладкое скольжение, предотвращая их склеивание за счет образовавшихся нитей фибрина и высыхания. Этот препарат зарекомендовал себя как высокоэффективное, биоинертное средство, подвергающееся полной деградации.

### Степень разработанности темы исследования

В литературе отсутствуют данные о кровоостанавливающих свойствах «Мезогеля» и его возможном применении при операциях на печени и селезенке. Нет информации о характере изменения 4% геля Na-КМЦ под действием биологических

жидкостей в условиях оперативного вмешательства при наличии в ране желчи и крови. Не изучен вопрос зависимости свойств этого препарата от его концентрации: изменения противоспаечной и, возможно, кровоостанавливающей активности при увеличении или уменьшении количества действующего вещества Na-КМЦ. Сведений о попытках введения в состав «Мезогеля» фармакологических субстанций для создания комбинированного противоспаечного препарата с кровоостанавливающими свойствами в доступной нам отечественной и зарубежной литературе не найдено.

### **Цель исследования**

Изучение в эксперименте в сравнительном аспекте на модели резекции печени и селезенки кровоостанавливающих и противоспаечных свойств геля на основе натрий-карбоксиметилцеллюлозы, а также его влияния на ткани оперируемых органов в условиях кровотечения и желчеистечения при местном способе применения.

### **Задачи исследования**

1. Изучить кровоостанавливающее свойство 4% геля на основе натрий-карбоксиметилцеллюлозы («Мезогеля») *in vitro* и *in vivo* в сравнительном аспекте с местными гемостатическими препаратами (губками гемостатическими «Белкозин», «Тахокомб», «Na-КМЦ») при краевой резекции печени и селезенки.
2. Изучить влияние крови и желчи на гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы в эксперименте *in vitro*.
3. Изучить корреляционную зависимость кровоостанавливающей активности геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы от его концентрации (от 0,5% до 9%) в эксперименте *in vitro* и *in vivo* при местном использовании.
4. Изучить в сравнительном аспекте кровоостанавливающую и противоспаечную активность 6% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой при резекции печени и селезенки при местном применении.
5. Изучить регенераторные особенности гепатоцитов в области аппликации 6% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы и 5% аминокaproновой кислоты на экспериментальной модели резекции печени.
6. Изучить морфологические изменения белой пульпы селезенки и экспрессию CD4+ Т-лимфоцитов на экспериментальной модели резекции селезенки после применения 6% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы и 5% аминокaproновой кислоты.

### **Научная новизна**

Впервые доказано наличие кровоостанавливающего эффекта у 4% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы («Мезогель»), ранее применявшегося при оперативных вмешательствах только в качестве противоспаечного средства. Кровоостанавливающие свойства 4% геля оказались ниже, чем у местных гемостатических препаратов (гемостатических губок «Белкозин», «Тахокомб», «Na-КМЦ»).

Впервые выявлена корреляционная взаимосвязь между кровоостанавливающими свойствами геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы и его концентрацией.

Впервые выяснен характер взаимодействия геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы с биологически активными средами организма кровью и желчью, неотъемлемыми компонентами операций на печени и селезенке.

Впервые разработан и изучен в сравнительном аспекте новый комбинированный препарат 6% гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой (гель Na-КМЦ 6% + 5% АКК) с кровоостанавливающими и противоспаечными свойствами при резекции печени и селезенки.

Впервые в динамике изучены регенераторные особенности гепатоцитов и морфологические изменения белой пульпы селезенки после аппликации 6% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Установлено, что максимальной гемостатической активностью обладает 6% гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы, приближающийся по эффективности к современным местным препаратам. Это возможно благодаря достижению оптимальной конформации микрофибрилл полимера и оптимального расстояния между ними, при которых отмечается максимальное количество активных функциональных групп на локальном участке, что приводит к усилению гидрофильности соединения. Повышение концентрации от 7% до 9% приводит к резкому снижению кровоостанавливающих свойств. Образцы теряют гелеобразную форму. Для начала абсорбции жидкой части крови (плазмы) им требуется время, превосходящее самостоятельную остановку кровотечения. Это объясняется наличием сильных поперечных межмолекулярных связей. Гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы не меняет своих свойств под действием желчи и крови в условиях операции на печени и селезенке, так как между полимером и органическими веществами не происходит химического взаимодействия. Кровоостанавливающая активность 6% геля может быть усилена при введении в его состав 5% раствора аминокaproновой кислоты, что приводит к достоверно более быстрому снижению как времени, затраченного на данный процесс, так и величины кровопотери. Применение 6% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы в сочетании с 5% аминокaproновой кислотой во время операций на печени и селезенке приводит к снижению выраженности спаечного процесса в брюшной полости и создает условия для лучшего заживления раны и регенерации поврежденных органов. Полученные результаты создают основу для дальнейшего поиска и разработки препаратов на основе 6% геля Na-КМЦ в комбинации с новыми веществами.

### **Методология и методы исследования**

Изучение кровоостанавливающего эффекта 4% геля Na-КМЦ *in vitro* выполнено на базе медицинского пункта «Курского государственного медицинского университета» Минздрава России, где были выполнены эксперименты по определению уровня гематокрита и коагуляционных показателей крови у 70 доноров мужского пола в возрасте от 18-20 лет. Далее с целью проверки полученных результатов в условиях реального кровотечения на базе научно-исследовательской лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России выполнена серия острого опыта на 120 крысах-самцах линии Вистар с определением времени остановки кровотечения и величины кровопотери.

На базе лаборатории кафедры общей химии ФГБОУ ВО «Курский государственный университет» и общей и биорганической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России выполнены исследования по изучению взаимодействия 4% геля Na-КМЦ с нативными желчью и кровью. Выполнено 10 спектральных анализов и исследование коагуляционного эффекта геля.

Изучение зависимости гемостатической активности геля от его концентрации *in vivo* проводили в эксперименте на 140 крысах. Исследования кровоостанавливающей активности нового препарата 6% геля Na-КМЦ с 5% АКК выполняли в остром опыте третьей серии эксперимента на 100 крысах-самцах линии Вистар. Для изучения противоспаечной активности препарата и его влияния на ткани печени и селезенки нами выполнен хронический эксперимент на 63 крысах-самцах линии Вистар. Гистологическое исследование включало проведение рутинных методов окрашивания (гематоксилином и эозином, по Ван-Гизон), гистохимических (ШИК-реакция на гликоген) и иммуногистохимических методов (Ki-67, маркера митотической активности и CD4+ лимфоцитов в селезенке).

### **Положения, выносимые на защиту**

1. При краевой резекции печени и селезенки местное применение 4% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы («Мезогеля») достоверно приводит к остановке кровотечения, но менее эффективно, чем современные местные гемостатические средства (губки гемостатические «Белкозин», «Na-КМЦ», «Тахокомб»).
2. Гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы не меняет своих химических и функциональных свойств при операциях на печени и селезенке в условиях крово- и желчеистечения.
3. Гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы в концентрации от 0,5%-2% не обладает кровоостанавливающим эффектом, он появляется у 3% концентрации, увеличивается в диапазоне от 4% до 6%. Максимальным эффектом обладает 6% гель. Последующее увеличение до 7%-8% приводит к уменьшению его гемостатических свойств, а дальнейший рост до 9% – к потере кровоостанавливающей активности.
4. Введение 5% аминокaproновой кислоты в состав 6% геля Na-КМЦ повышает его кровоостанавливающую активность по сравнению с губками гемостатическими «Белкозин», «Na-КМЦ», «Тахокомб», противоспаечные свойства не снижаются, что делает его применение более эффективным при операциях на печени и селезенке.
5. 6% гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой создает благоприятные условия для регенерации раны печени на ранних сроках.
6. 6% гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой снижает активность белой пульпы селезенки в послеоперационном периоде.

### **Личный вклад автора**

Диссертант принимала личное участие в планировании и проведении всех этапов диссертационного исследования. Автор лично проанализировала отечественные и зарубежные источники литературы, осуществила забор биологического материала у доноров, провела все этапы экспериментального

исследования, включая операции и забор материала для гистологического исследования, провела химические исследования, анализ и статистическую обработку полученных результатов. Соискатель лично подготовила к печати тезисы и статьи по теме диссертации. Текст диссертационной работы и автореферат написаны автором самостоятельно.

### **Внедрение результатов исследования**

Результаты, полученные в ходе исследования, использованы в научно-исследовательской работе и технологическом процессе компании ООО «Линтекс» (Санкт-Петербург). Используя материалы настоящей работы, фирма развивает новое направление по производству гемостатических материалов местного действия на основе Na-КМЦ. Совместно с фирмой «Линтекс» разработан «Способ профилактики спаечного процесса при операциях на брюшной полости в условиях паренхиматозного кровотечения в эксперименте», получено положительное решение на выдачу патента № 2020107332 (Солдатова Д.С., Бежин А.И., Жуковский В.А., 2020). Результаты исследования и комплексный подход к оперативному лечению паренхиматозных органов, включающий не только остановку кровотечения, но и профилактику спаечного процесса в брюшной полости, используются в учебном процессе (на лекциях, практических занятиях) кафедры оперативной хирургии и топографической анатомии ФГБОУ ВО КГМУ МЗ РФ.

### **Степень достоверности полученных данных**

Достоверность результатов исследования подтверждается обоснованным методологическим подходом, включающим: а) моделирование интраоперационной раны печени и селезенки, б) изучение гемостатических и противоспаечных свойств геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы разной концентрации, в) оценку постоперационных осложнений и летальности, г) применение современных методов оценки кровотечения, коагулографии, инфракрасной спектроскопии, д) использование современных морфологических методов исследования (общегистологических, гистохимических и иммуногистохимических), е) применение современных методов статистической обработки, ж) достаточное количество фактического материала (82 донора крови и желчи, 432 экспериментальных животных).

### **Апробация диссертации**

Основные положения и результаты проведенного исследования представлены и обсуждены на 79, 81, 84 и 85-й Всероссийских научных конференциях студентов и молодых ученых с международным участием «Молодежная наука и современность» (Курск, 2014, 2016, 2019, 2020); 12-м съезде хирургов России (Ростов-на-Дону, 2015); международной практической конференции «Медицинские импланты» (Курск, 2016); научно-практической конференции с мастер-классом «Экспериментальная и клиническая хирургия: проблемы и решения» в рамках Всероссийского форума «Курская неделя хирургии» с международным участием (Курск, 2016); областном конкурсе инновационных проектов «Инновация и изобретение года» в номинации инновационный проект (Курск, 2017; 2019, победитель конкурса в номинации «Инновационный проект» 2019), 10-м международном симпозиуме по клинической и прикладной анатомии (ISCAA) (Москва, 2018, победитель в номинации «Лучший устный доклад в разделе новых технологий в клинической анатомии и хирургии», представленный на английском

языке); заседании областного общества хирургов (Курск, 2019); 4-й Российской конференции по медицинской химии с международным участием «MedChem Russia» (Екатеринбург, 2019); 45-й научной сессии ЦНИИ гастроэнтерологии «Вопросы онкологии в практике гастроэнтеролога» (Москва, 2019); научно-практической конференции «Эксперимент в хирургии и онкологии» (Курск, 2020).

### **Публикации**

По теме диссертационного исследования опубликовано 15 научных работ, в том числе 3 работы в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ и 1 статья – в журнале, входящем в базу цитирования Scopus. Получено положительное решение о выдаче патента на «Способ профилактики спаечного процесса при операциях на брюшной полости в условиях паренхиматозного кровотечения в эксперименте», № 2020107332 (Солдатова Д.С., Бежин А.И., Жуковский В.А., 2020).

### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на русском языке, на 169 страницах печатного текста. Работа состоит из введения, 5 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Библиографический список включает 174 отечественных и 41 иностранный источник. Диссертация иллюстрирована 14 таблицами и 35 рисунками, включающими макро- и микрофотографии.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материалы и методы**

В качестве материалов для исследования использовали: гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы в концентрациях 0,5%, 1,5%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%; стандартное противоспаечное рассасывающееся средство «Мезогель» (4% гель Na-КМЦ); новое комбинированное средство 6% гель натрий карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой. Препарат готовится в следующем соотношении компонентов: 6 % натрия-карбоксиметилцеллюлозы и 94% 5% раствора аминокaproновой кислоты. Все образы предоставлены ООО «Линтекс», г. Санкт-Петербург. В качестве образцов для сравнения были выбраны: губка гемостатическая «Na-КМЦ» (ООО «Линтекс», г. Санкт-Петербург); губка гемостатическая коллагеновая, производство ООО «Белкозин» г. Луга; гемостатическая губка «Тахокомб» («Tachocomb»), производство «Takeda» Австрия; стерильная марлевая салфетка.

Нативную кровь получали с письменного согласия 70 доноров-добровольцев мужского пола в возрасте 20 лет, без соматических заболеваний, согласно амбулаторным картам. Забор проводили путем взятия венозной крови в объеме, необходимом для конкретного опыта, согласно ГОСТ Р 52623.0-2006 «Технология выполнения простых медицинских услуг».

Использовали медицинскую консервированную желчь для изучения взаимодействия с гелем Na-КМЦ 4% производства ООО «Самсон-мед» г. Санкт-Петербург. Нативную желчь получали с письменного согласия 12 пациентов мужского пола в возрасте 45-50 лет, после выполнения чрескожной чреспеченочной холангиостомии в отделении хирургии ОБУЗ «КГКБ СМП». Забор желчи производили в день удаления стомы, когда воспалительные изменения в ее составе были минимальными, во второй половине дня, отсоединяли трубчатый дренаж и осуществляли забор 5 мл выделившейся за 6 часов желчи. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.



**Обоснование кровоостанавливающего эффекта в эксперименте *in vitro*** производили с помощью методики определения гематокрита. Для этого на базе медицинского пункта «Курского государственного медицинского университета» Минздрава России выполнен забор крови у 70 доноров мужского пола в возрасте от 18-20 лет. К 1 мл донорской крови, помещенной в центрифужную пробирку с градуированной шкалой, добавляли 0,1 мл геля Na-КМЦ 4% из расчета 1/10, в другой группе – такое же количество физиологического раствора, контролем служила пробирка, содержащая только донорскую кровь. Вычисление объема плазмы крови производили в трех группах: нативной крови, крови донора и геля Na-КМЦ 4%, крови донора с добавлением физиологического раствора (NaCl 9%). Все пробирки помещались в центрифугу «Центрифуга лабораторная медицинская ОПН-3.02», производства «Дастан» (Киргизия), на 30 минут при 3000 оборотов в 1 минуту, после чего объем плазмы определяли по градуированной шкале и выражали в процентах.



Рисунок 1 – Дизайн исследования

Дальнейшее исследование кровоостанавливающей активности произведено при анализе коагулограмм. Для получения последних в кювету электрокоагулографа Н-334 (производство АО «Краснодарский ЗИП», г. Краснодар, Россия) добавляли 1 мл донорской крови и исследуемые вещества – гемостатическую губку «Na-КМЦ» объемом 2 мм<sup>3</sup> (группа сравнения). В третьем опыте добавляли гель Na-КМЦ 4% объемом 0,2 мл. Оценку гемостатических свойств материалов выполняли по предложенному на кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии коагуляционному индексу свертывания (КИ Т2) –

отношение времени конца свертывания крови в опытном исследовании к времени конца свертывания крови в контрольном опыте (патент РФ № 2352940, Нетяга А.А. и соавт., 2009). Минимальные показатели КИ Т2 свидетельствуют о высокой гемостатической активности исследуемых материалов.

Для **определения коагулирующего эффекта in vitro** дальнейшие исследования проводили на базе лаборатории кафедры общей химии ФГБОУ ВО «Курский государственный университет» под руководством доцента Т.Н. Кудрявцевой. Для этого нами впервые была предложена методика, позволяющая с помощью программного вычисления и последующего сравнения площадей кровяного сгустка, образующегося при добавлении крови к гелю Na-КМЦ, и его площади после разбавления NaCl 0,9%, судить о наличии или отсутствии коагулирующего эффекта (образовании псевдо - или истинного кровяного сгустка) (Солдатов Д.С. и соавт., 2020).

**Определение характера взаимодействия между 4% гелем Na-КМЦ, кровью и желчью проводили с помощью инфракрасной спектроскопии** согласно ГОСТ Р 57941-2017 «Композиты полимерные. Инфракрасная спектроскопия. Качественный анализ» 2018 г.

**Оценка кровоостанавливающего эффекта in vivo** выполнена на базе научно-исследовательской лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России. Проводили моделирование операционной раны печени и селезенки на 120 крысах-самцах линии Wistar, массой 185-250 г. Исследование одобрено региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете, протокол № 2/2013. Эксперименты проведены в соответствии со следующими документами: ГОСТ 33216-2014 «Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами»; директивой Европейского Парламента № 2010/63/EU от 22.09.10 «О защите животных, используемых для научных целей»; Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986).

Оперативные вмешательства выполняли под общей ингаляционной анестезией: изофлюран, во вдыхаемой газовой смеси – 3%, поток воздуха – 0,8 л/мин, подаваемый через лицевую маску. После двойной обработки операционного поля антисептиком крысам выполняли срединную лапаротомию, иммобилизацию левой боковой доли печени и дистального конца селезенки. Под данную область подкладывали марлевую салфетку с заведомо известной массой и отграничивали пропитывание последней жидкостью, продуцируемой брюшиной, с помощью полиэтиленовой пленки. Затем выполняли краевую резекцию стандартным способом: отсекали внутренний каудальный край левой боковой доли печени и дистальный край селезенки, прикладывая трафарет в виде угольника, длина ребер которого была равна 1 см; высота раны составляла 5 мм. Данный объем резекции моделирует массивное кровотечение из крупных долевого сосудов, однако не приводит к смерти лабораторных животных от кровопотери в хроническом эксперименте. Одновременно благодаря полному поперечному пересечению внутридольевых желчных протоков воспроизводится модель желчеистечения. (Семичев, Е.В. и соавт. 2012; Чижиков Г.М., 2011).

Затем на область раны (площадь раневой поверхности) наносили исследуемые образцы стандартных размеров: 1 мл гелеобразных образцов и 1 см<sup>2</sup> твердых форм

(гемостатические губки, марлевая салфетка). Регистрацию времени остановки кровотечения проводили от начала моделирования раны до полного прекращения кровотечения: отсутствия выделения крови или истечения ее из-под опытных образцов. Величину кровопотери определяли как разницу в весе марлевой салфетки до эксперимента и после его окончания.

После оценки кровоостанавливающих свойств животных выводили из эксперимента путем подачи в кювет углекислого газа ( $\text{CO}_2$ -индуцированная эвтаназия).

С целью **динамического контроля морфологических изменений печени и селезенки, а также оценки выраженности спаечного процесса в брюшной полости** при использовании барьерного противоспаечного средства «Мезогель» (4% гель Na-КМЦ) и нового средства 6% гель Na-КМЦ + 5% АКК был проведен хронический эксперимент у 63 животных. Моделирование раны печени и селезенки, аппликацию гелеобразных образцов проводили, как описано выше. Из каждой группы (2 исследуемые и контрольная, без аппликации на раневую поверхность препаратов), по 21 животному в каждой, на 3-и, 7-е и 14-е сутки выводили из эксперимента по 7 животных путем подачи в кювет углекислого газа. Выраженность спаечного процесса оценивали по его распространенности, степени деформации органов, вовлеченных в него, оценке характера и вида спаек (Звягин О.Г., 2018). В комплексе все эти характеристики отражает семантический дифференциал, меньшие значения которого свидетельствовали о минимальной выраженности спаечного процесса в брюшной полости.

Для **гистологического исследования** фрагменты печени и селезенки экспериментальных животных, включающие область раны и аппликации гемостатических средств, спайки, область инфильтратов, фиксировали в 10% формалине, после чего заливали в парафин по стандартной методике. Всего изготовлено 458 срезов толщиной 5 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином для проведения морфометрического анализа и по Ван-Гизон для оценки выраженности фиброзных изменений. Помимо этого, проведены **гистохимические и иммуногистохимические** исследования. Для оценки степени выраженности метаболических и компенсаторных процессов в печени определяли площадь гепатоцитов и их ядер, которую рассчитывали с помощью компьютерной программы ImageJ (разработчик Research Services Branch of the National Institute of Mental Health, США) при увеличении в 400 раз. Гликоген-запасающую функцию печени оценивали по характеру отложения (в виде глыбок или диффузно) и интенсивности окрашивания по результатам гистохимической ШИК-реакции.

О регенераторных возможностях печени в условиях проводимого эксперимента судили по количеству двухъядерных гепатоцитов в поле зрения микроскопа при увеличении в 400 раз и по данным иммуногистохимического исследования Ki-67, маркера митотической активности клеток (антитела Ki-67 SP6 Cell Marque, Rocklin, CA, США). С помощью компьютерной программы ImageJ, используя RGB гистограммы, косвенно оценивали кровенаполнение печени по оптической плотности распределения красных яркостных единиц в пикселях (px).

В срезах селезенки, окрашенных гематоксилином и эозином, под микроскопом с увеличением в 40 раз подсчитывали плотность расположения лимфоидных узелков. Площадь лимфоидных узелков определяли с помощью компьютерной программы ImageJ при увеличении в 40 раз. Для иммуногистохимического

окрашивания CD4+ Т-лимфоцитов использовали моноклональные антитела Anti-CD4 (M3350 Glostrup, Дания).

**Статистическая обработка:** оценку распределения признака количественных данных проводили по критерию Колмогорова-Смирнова. В зависимости от типа распределения признака и сравнения дисперсий по критерию Ливеня достоверность между величинами рассчитывали с помощью апостериорного критерия Тьюке для множественного сравнения (при нормальном распределении признака и коэффициенте равенства дисперсий  $>0,5$ ). При ненормальном характере распределения и/или коэффициенте равенства дисперсий Ливеня  $<0,5$  (в данном случае использование параметрических критериев неправомерно) достоверность различий оценивали с помощью критерия Краскела-Уоллиса, а затем Манна-Уитни с поправкой на множественное сравнение Бонферрони (Гржибовский А.М., 2016). Корреляционную зависимость между величинами оценивали по коэффициенту Пирсона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При добавлении 4% геля Na-КМЦ к нативной крови во всех случаях происходило возрастание величины гематокрита за счет абсорбции составляющим компонентом Na-КМЦ ее жидкой части (плазмы). В 40% случаев (28 человек) объем плазмы уменьшился на 0,3 мл; в 25% (18 человек) – на 0,35 мл; в 13% (9 человек) – на 0,4 мл и в 22% (15 человек) – на 0,25 мл ( $p=0,0001$ ).

Анализ коагулограмм подтвердил, что гель Na-КМЦ 4% обладает гемостатической активностью, сокращая время свертывания крови на 37%, КИ T2 равен  $62,87 \pm 3,36\%$  ( $p=0,0001$ ). Однако было установлено, что кровоостанавливающая активность твердой агрегационной формы – губки гемостатической «Na-КМЦ» выше, чем у гелеобразного образца. Сокращение времени свертывания в данном случае происходило на 53%, КИ T2 составил  $46,57 \pm 2,12\%$  ( $p=0,0001$ ). Это можно объяснить пористой структурой губки, которая создает большую площадь для фиксации тромбоцитов, их дальнейшей агрегации, выделения тромбопластина и превращения фибриноген в фибрин. Длинные нити последнего переплетаются между собой в сеть, на которой задерживаются форменные элементы крови, способствуя образованию тромба. Поверхность геля является гладкой, не содержащей пор и пустот, что приводит к более медленному образованию тромба или кровяного сгустка.

Полученные результаты исследования *in vitro* свидетельствуют о наличии кровоостанавливающего эффекта у 4% геля Na-КМЦ.

Чтобы проверить данные, полученные в эксперименте *in vitro*, в условиях кровотечения при краевой резекции печени и селезенки в сравнительном аспекте был выполнен острый опыт на 120 крысах, по 20 в каждой из 6 групп исследования: контрольная группа, без применения гемостатических средств, исследуемая (гель Na-КМЦ 4%) и 4 группы сравнения (гемостатические губки «Белкозин», «Na-КМЦ», «Тахокомб», марлевая салфетка).

Анализ полученных данных подтвердил ранее выявленный факт: гель Na-КМЦ 4% обладает кровоостанавливающей активностью, укорачивая время остановки кровотечения на 36% (109,94 с) при травме печени и на 28% (90,67 с) при травме селезенки относительно контроля и марлевой салфетки. Последний образец снижал показатель при травме печени лишь на 22% (66,83 с) и на 24% (78,47 с) при травме селезенки. Однако применение гемостатической губки «Белкозин» оказалось

более эффективным. В данном случае снижение показателя составило 55% (165 с) при травме печени и 52% (169,15 с) – при травме селезенки. Препараты «Na-КМЦ» и «Тахокомб» были самыми эффективными – укорочение времени кровотечения при травме печени составило 69% (208,92 с) и 70% (212,04 с) соответственно: при травме селезенки – 67% (218,97 с) и 68% (222,05 с).

Данные достоверно значимы относительно контрольной группы как при травме печени, так и селезенки ( $p=0,0001$ ). Различия между группами сравнения выявлены во всех случаях, за исключением «Тахокомба» и губки гемостатической «Na-КМЦ» ( $p=0,121$ ) при травме печени; «Тахокомба» и «Na-КМЦ» ( $p=0,137$ ) при травме селезенки.

При определении величины кровопотери в сравнительном аспекте выявлено, что гель Na-КМЦ 4% также обладает кровоостанавливающими свойствами, уменьшая данный показатель на 14% (66,950 мг) при травме печени и на 16% (65,8 мг) – при травме селезенки относительно контрольной группы. Но сорбционная способность марлевой салфетки оказалась выше. Снижение показателей после применения данного образца составило 21% (103,3 мг) при травме печени и 17% (69 мг) – при травме селезенки. Сравнительные образцы также были более эффективными. Снижение кровопотери при травме печени с использованием «Na-КМЦ» произошло на 67% (318,2 мг); «Белкозина» – на 51% (242,19 мг), «Тахокомба» – на 77% (367,9 мг). При травме селезенки губка «Na-КМЦ» снижала кровопотерю на 67% (275,8 мг), «Белкозин» – на 51% (210,6 мг) и «Тахокомб» – на 77% (317,2 мг). Данные достоверно значимы относительно контрольной группы при резекции печени и селезенки ( $p=0,0001$ ). Достоверно значимых различий между группами не выявлено только в одном случае: между марлевой салфеткой и гелем Na-КМЦ 4% при травме селезенки  $p=0,175$ .

Таким образом, исследования *in vitro* и *in vivo* доказывают, что 4% гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы достоверно обладает кровоостанавливающей активностью относительно контрольной группы, однако параметры снижения времени остановки кровотечения и величины кровопотери значительно ниже таковых, чем у современных местных гемостатических средств (губки гемостатические «Белкозин», «Тахокомб», «Na-КМЦ»).

Однако даже эти параметры геля могут быть снижены или полностью утрачены при взаимодействии с биологически активными средами организма желчью и кровью. Для ответа на этот вопрос был выполнен анализ спектрограмм данных веществ и их смеси.

Нами установлено, что желчь не влияет на функциональные свойства геля Na-КМЦ 4%, так как данные вещества не вступают в химическое взаимодействие. На инфракрасных спектрах веществ и их смесей отсутствовали полосы поглощения, характерные для новых функциональных групп, появляющихся при наличии химического взаимодействия между реагентами и при образовании нового вещества.

При анализе взаимодействия Na-КМЦ в различных концентрациях (0,5-9%) и крови нами впервые выявлено наличие коагулирующего эффекта, однако не у всех образцов. Растворы Na-КМЦ концентраций 0,5%, 1,5% и 2% не обладали коагулирующим эффектом. Он появляется у геля, начиная с 3% концентрации и достигал максимума к 6%. Можно достоверно утверждать, что гемостатический эффект обусловлен физическими взаимодействиями и начинается с агрегации тромбоцитов, имеющих отрицательный заряд на полимерной, гидратированной матрице, образованной макромолекулами геля, с нейтральным зарядом, за счет ван-

дер-ваальсовых сил. С ростом концентрации от 3% до 6% расстояние между микрофибриллами уменьшается, что создает более плотную трехмерную сеть, задерживающую большее количество форменных элементов и абсорбирующую воду. Концентрации Na-КМЦ от 0,5 до 2% представляют собой растворы, в которых расстояние между макромолекулами полимера слишком велико для начала коагуляции крови.

Наше исследование достоверно показало, что 6% гель обладает максимальной гемостатической активностью, а значит, может быть использован для остановки кровотечения при операциях на печени и селезенки. Начиная с 7% концентрации и до 9% коагулирующий эффект уменьшался и полностью отсутствовал у последнего образца. Это связано с тем, что препараты теряют гелеобразную форму, представляя собой студень. Поэтому для разжижения, то есть абсорбции растворителя данными образцами, требуется большее количество времени (время экспозиции 1 минута), что может быть неприемлемо в условиях реального кровотечения при операциях на печени и селезенке.

Для подтверждения полученных данных в условиях настоящего кровотечения была проведена вторая серия острого эксперимента *in vivo* на 120 крысах в 6 исследуемых группах по 20 животных в каждой для изучения гемостатической активности геля Na-КМЦ 3%, 4%, 5%, 6%, 7% и 8% концентраций, обладающих коагулирующей активностью.

Наиболее выраженный эффект отмечен у Na-КМЦ 6%, который уменьшал время кровотечения на 46% (138,94 с) при травме печени и на 40% (129,7 с) при травме селезенки и величину кровопотери при травме печени на 27% (128,3 мг); при травме селезенки на 30% (123,5 мг) (рисунки 2, 3).

В ходе оперативного вмешательства и моделирования резекции печени и селезенки мы наблюдали четкую U – образную связь между концентрацией Na-КМЦ и изучаемыми величинами: временем кровотечения и величиной кровопотери. Это подтвердило ранее выявленный механизм кровоостанавливающего эффекта в опыте *in vitro* и выявленную закономерность: увеличение эффекта от концентрации Na-КМЦ от 3% до 6% и дальнейшее его уменьшение с 7-8%.

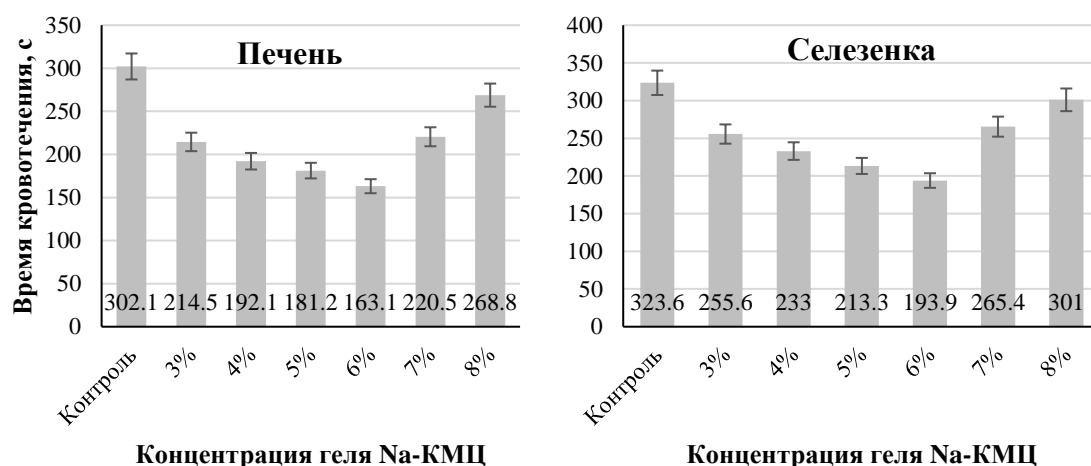


Рисунок 2 – Средние значения времени остановки кровотечения при резекции печени и селезенки у крыс второй серии ( $M \pm m$ )

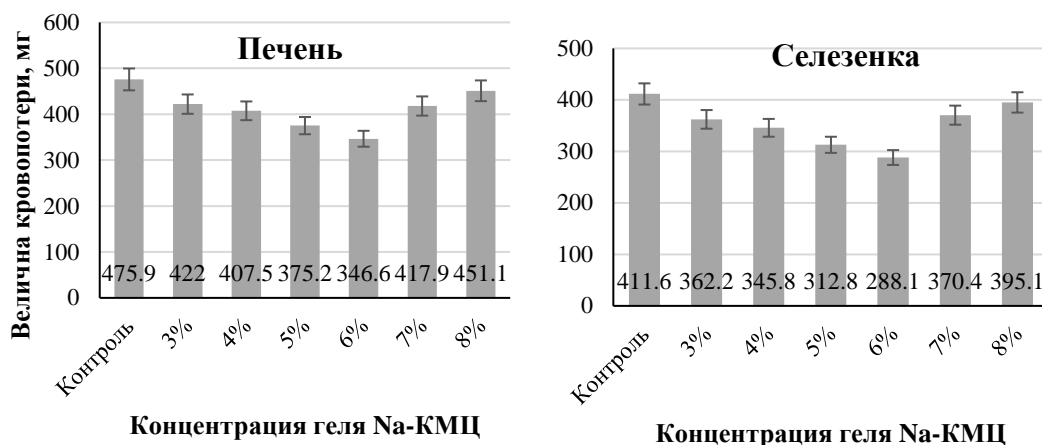


Рисунок 3 – Средние значения величины кровопотери при резекции печени и селезенки у крыс второй ( $M \pm m$ )

Проведен корреляционный анализ зависимости коагулирующего эффекта геля Na-КМЦ *in vitro* и кровоостанавливающим – *in vivo* от его концентрации. Было выявлено отсутствие взаимосвязи между показателями для растворов Na-КМЦ 0,5-2%, так как они не обладают коагулирующим эффектом; наличие сильной прямой связи для образцов от 3% до 6% с коагулирующим эффектом (коэффициент корреляции Пирсона равен 0,940  $p \leq 0,0001$ ); обратная сильная связь для образцов 7-8%. Взаимосвязи для геля Na-КМЦ 9% не выявлено вследствие отсутствия коагулирующего эффекта. В опыте *in vivo* в диапазоне геля от 3-6% имеет место очень сильная обратная связь с параметрами кровотечения при резекции как печени, так и селезенки. Коэффициент корреляции Пирсона для времени кровотечения составил -0,952 ( $p \leq 0,0001$ ), для объема кровопотери -0,956 ( $p < 0,0001$ ). При увеличении концентрации от 7-8% отмечали наличие прямой сильной связи как в случае времени остановки кровотечения, так и величины кровопотери при резекции печени и селезенки.

Таким образом, по результатам эксперимента моделирования крово- и желчеистечения при краевой резекции печени и селезенки можно утверждать, что гель Na-КМЦ 6% является самым эффективным образцом. Однако достигнутые при этом значения уступают кровоостанавливающим свойствам как твердого аналога губки «Na-КМЦ», так и препарата «Тахокомб».

Для повышения кровоостанавливающей активности в препарат введена усиливающая компонента – 5% раствор аминокaproновой кислоты и получено новое средство Na-КМЦ 6% + 5% АКК в виде геля.

Для изучения кровоостанавливающей активности нового образца была выполнена 3-я серия острого эксперимента в условиях краевой резекции печени и селезенки на 20 крысах. Анализ результатов показал, что кровоостанавливающая активность Na-КМЦ 6% + 5% АКК при остановке кровотечения увеличилась по сравнению с прототипом Na-КМЦ 4% в 2,3 раза, гелем Na-КМЦ 6% – в 1,9 раза. Сокращение величины кровопотери стало эффективнее в 4 раза по сравнению с контрольной группой, в 3,3 раза по сравнению с Na-КМЦ 4% и в 3 раза эффективнее по сравнению с Na-КМЦ 6% (таблица 1).

Таблица 1 – Показатели эффективности остановки кровотечения при резекции печени при применении нового средства и средств групп сравнения у крыс третьей серии

Исследуемые группы	Количество исследований (n)	Резекция печени			
		Время остановки кровотечения (с)		Величина кровотечения (мг)	
		M±m	p*	M±m	p*
Контроль	20	302,06 ±2,2	p>0,0001	474,90 ±3,80	p>0,0001
«Тахокомб»	20	90,02 ±1,43	p=0,012 <sup>1</sup>	106,90 ±1,54	p=0,344 <sup>3</sup>
«Na-КМЦ»	20	93,14 ±1,38	p=0,001 <sup>2</sup>	156,70 ±1,48	p=0,0001
Гель Na-КМЦ 6%	20	163,12 ±1,22	p=0,0001	346,6 ±1,37	p=0,0001
*Гель 6%Na-КМЦ + АКК 5 %	20	84,15 ± 1,65	p=0,012 <sup>1</sup> p=0,001 <sup>2</sup>	102,05 ±1,74	p=0,344 <sup>3</sup>

Примечание: \* – достоверность рассчитана относительно геля Na-КМЦ 6% + 5% АКК, по критерию Манна-Уитни с поправкой Бонферрони на множественное сравнение.

Таким образом, введение в 6% гель Na-КМЦ аминокaproновой кислоты привело к значимому увеличению кровоостанавливающих свойств образца. Его эффективность оказалась выше во всех случаях твердой агрегационной формы губки гемостатической Na-КМЦ, преимущество которой заключалось в наличии пористой структуры, что обеспечивало абсорбцию большего объема крови и более быструю остановку кровотечения. Этот же фактор играл решающее значение и при применении гемостатической пластины «Тахокомб». В данном случае гель 6% Na-КМЦ + 5% АКК уступил образцу только при снижении величины кровопотери при травме селезенки.

Однако необходимо было выяснить, не повлияло ли негативно на противоспаечные свойства геля 6% Na-КМЦ + 5% АКК увеличение концентрации этого препарата и введение аминокaproновой кислоты. Для этого был выполнен хронический эксперимент на 63 крысах по изучению спаечного процесса в брюшной полости после проведения краевых резекций печени и селезенки в трех группах: контрольной (без применения кровоостанавливающих средств); группе исследования (с применением нового образца 6% Na-КМЦ + 5% АКК) и группе сравнения (с применением 4% Na-КМЦ «Мезогеля»). В каждой группе было по 20 животных. Оценку спаечного процесса проводили на 3-и, 7-е и 14-е сутки. Анализ результатов показал, что 6% Na-КМЦ + АКК 5% не только не отличался по эффективности относительно прототипа, но и сокращал спаечный процесс относительно контрольной группы на 7-е сутки в 4,8 раза, на 14 сутки в 8,3 раза (рисунок 4).



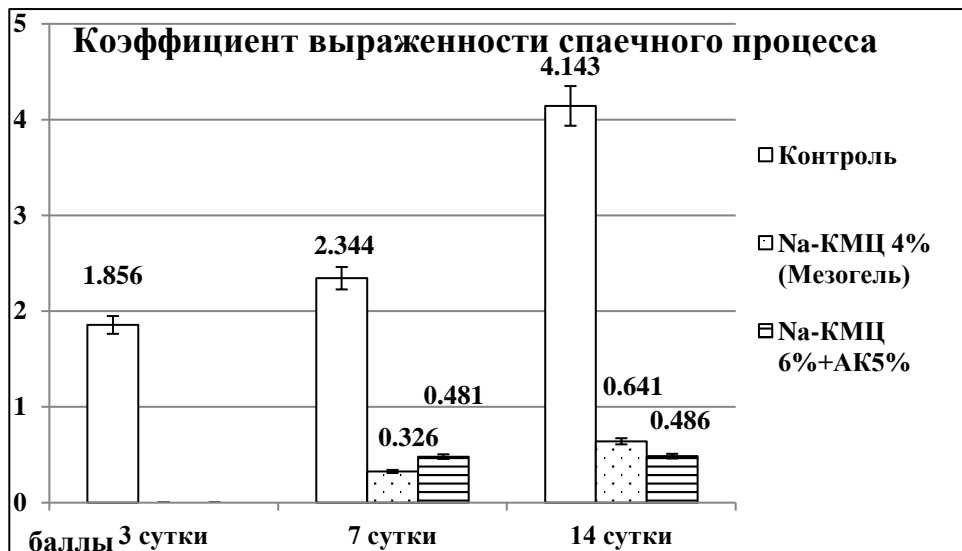


Рисунок 4 – Коэффициент выраженности спаечного процесса в брюшной полости у оперированных животных в баллах

На 3-и сутки эксперимента спаечный процесс полностью отсутствовал как в группе 6% Na-КМЦ + 5% АКК, так и 4% Na-КМЦ. На 7-е и 14-е сутки между группами достоверных различий не выявлено. Важное значение имеет характер выявленных спаек. Во всех случаях была обнаружена прядь сальника, подходящая к послеоперационной ране без деформации печени и селезенки. Спайки других видов отсутствовали. При гистологическом анализе наблюдали узкие тяжи формирующейся соединительной ткани, представленные тонкими коллагеновыми волокнами, адипоцитами в стадии формирования, фибробластами и макрофагами.

Тогда как в контрольной группе на 3-и сутки выявлены сальниковые спайки, подходящие к ране печени и селезенки. Последние представлены прядью большого сальника, фиксированного в 74% случаев ко всей площади раневой поверхности. Обнаружены единичные «нежные» плоскостные спайки между краем послеоперационной раны и тонким кишечником. Спаечный процесс ограничен эпи- и мезогастральной областями, без видимой деформации внутренних органов.

На 7-е сутки были выявлены преимущественно плоскостные и сальниковые спайки, в 40% случаев деформировавшие край послеоперационной раны, подходящие к поджелудочной железе или сужавшие диаметр кишечника на 1,3 диаметра. Также наблюдали единичные тракционные спайки, входящие в конгломерат между послеоперационной раной и прядью большого сальника. Локализация спаечного процесса была прежней. По-видимому, его топография обусловлена путем оттока желчи и крови. Спаечный процесс оценен в 2,457 [2,118-2,457] балла.

При морфологическом исследовании спаек на 7-е сутки необходимо отметить, что они представлены массивными отложениями фибрина, участками кровоизлияний и некроза, в области послеоперационной раны печени обнаружены также множественные участки кровоизлияний, между которыми располагаются лимфоциты, макрофаги и плазматические клетки, коллагеновые волокна не выявлены.

На 14-е сутки выраженность СПБП прогрессировала за счет изменения характера спаек и деформации вовлеченных в спаечный процесс органов. Преобладали тракционные, шнуровидные спайки, а также присутствовали сальниковые и плоскостные. Локализация спаечного процесса оставалась прежней.

Деформация внутренних органов, вовлеченных в спаечный процесс, выросла за счет степени рубцового изменения края послеоперационных ран и синтопичных органов: поджелудочной железы, желудка. Сохранялось стойкое сужение просвета кишечника, выявленное без применения дополнительных методов кроме визуального осмотра. Чаще мы встречали конгломерат, состоящий из петель кишечника, пряди сальника и плоскостных спаек. Спаечный процесс составил 4,071 [3,758-4,602] балла.

При гистологическом исследовании спайки подходили к краю послеоперационной раны, прорастали в паренхиму печени, деформируя клеточную архитектуру. Спайки представлены в основном жировой тканью – сальником, незрелыми коллагеновыми волокнами. В клеточном составе преобладают макрофаги, лимфоциты и фибробласты, что свидетельствует о наличии очагов воспаления. Выявлены многочисленные участки некрозов, кровоизлияния в области послеоперационных ран. Отмечаются внутриклеточные дегенеративные и некробиотические процессы и минимальное количество коллагеновых волокон.

При изучении спайки в области послеоперационной раны селезенки наблюдаем, что последняя представлена тяжами, островками клеточного инфильтрата и жировой тканью (сальник). Выявлено наличие воспалительного инфильтрата, в состав которого входят лимфоциты, макрофаги, плазматические клетки и фибробласты. Отмечается наличие коллагеновых волокон. Помимо жировой ткани и новообразованных сосудов сформированы коллагеновые волокна (окрашены в красный цвет). В клеточном составе помимо фибробластов, макрофагов и лимфоцитов встречаются тучные клетки.

В целом гистологическая картина спаек в области резекции печени и селезенки у животных контрольной группы свидетельствует о воспалительных и некробиотических процессах, наличии последствий кровотечения и желчеистечения.

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод, что в 6% концентрации гель достоверно обладает противоспаечной активностью, которая нивелирует некоторое местнораздражающее действие аминокaproновой кислоты 5%. В целом это дает возможность использовать 6% Na-КМЦ + 5% АКК как высокоэффективное кровоостанавливающее и противоспаечное средство при операциях на печени и селезенке.

Морфологические исследования показали, что местное применение 6% Na-КМЦ + 5% АКК ведет к активизации компенсаторных внутриклеточных процессов (происходит достоверное увеличение площади гепатоцитов и их ядер на 31% относительно контрольной группы,  $p < 0,01$ ). Метаболические процессы в клетках не нарушаются, о чем свидетельствует сохранность гликоген-запасующей функции на всех сроках эксперимента. В целом гепатоциты не испытывают отрицательного влияния после аппликации 6% Na-КМЦ + 5% АКК и готовы к дальнейшему делению и восстановлению резецированного участка. Уровень митотической активности выше на 31% ( $p < 0,01$ ) в исследуемой группе уже на 3-и сутки относительно контроля. Происходит нормализация кровоснабжения резецированного участка за счет эффективной остановки кровотечения, обусловленной вазоконстрикторным действием аминокaproновой кислоты и абсорбирующим эффектом полимера 6% Na-КМЦ. В подтверждение этому кровенаполнение синусоидных капилляров и центральных вен печеночных долек было ниже на всех сроках исследования при применении нового средства (рисунок 5).

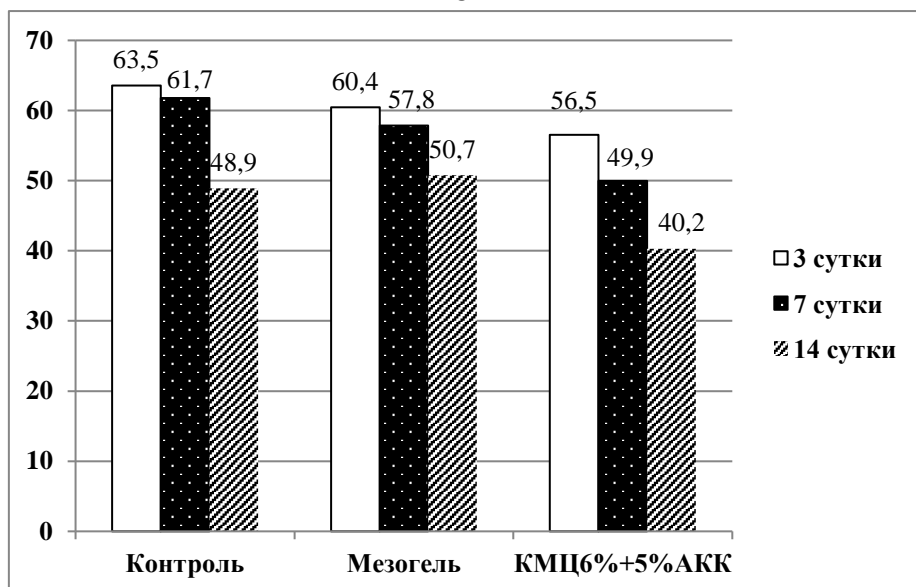


Рисунок 5 – Оценка кровенаполнения печени крыс по интенсивности распределения пикселей в R канале при анализе RGB гистограмм

В экспериментах с резекцией селезенки при использовании 6% Na-КМЦ + 5% АКК наблюдалось уменьшение застойных явлений в паренхиме и снижение выраженности послеоперационных воспалительных явлений. Это подтверждается снижением площади и плотности лимфоидных узелков относительно контрольной группы на 33% и 30% соответственно ( $p < 0,01$ ) (рисунок 6) и уменьшением экспрессии CD4+ Т-лимфоцитов (на 60%) на 14-е сутки эксперимента по сравнению с контролем.



Рисунок 6 – Площадь лимфоидных узелков крыс после резекции селезенки ( $\text{мкм}^2$ )

Таким образом, в работе экспериментально доказана эффективность применения 6% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы и 5% аминокaproновой кислоты, как средства комбинированного действия при краевой резекции печени и селезенки, обладающего высокой кровоостанавливающей и противовоспалительной активностью. Это делает возможным его применение в хирургии паренхиматозных

органов и может способствовать улучшению ближайших послеоперационных и отдаленных результатов, а также повышению качества жизни пациентов.

### ВЫВОДЫ

1. Гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы 4% достоверно обладает кровоостанавливающими свойствами, уменьшая коагуляционный индекс конца свертывания на 62,87%, укорачивая время остановки кровотечения при резекции печени на 36% (109,94 с); селезенки – на 28% (90,67 с); уменьшая величину кровопотери на 14% (66,950 мг) при резекции печени и на 16% (65,8 мг) – селезенки. Данные показатели достоверно ниже по сравнению с губками гемостатическими «Белкозин», «Na-КМЦ», «Тахокомб».

2. В эксперименте *in vitro* установлен характер взаимодействия геля натрия-карбоксиметилцеллюлозы с желчью и кровью:

а) нативная и медицинская желчь не вступает в химическое взаимодействие с гелем и не влияет на его кровоостанавливающие и противоспаечные свойства;

б) при взаимодействии геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы и крови происходит коагуляция последней; эффект обусловлен способностью к абсорбции воды из крови и адгезии заряженных элементов: уменьшение объема плазмы по сравнению с контрольной группой составило 51% (0,31 мл,  $p < 0,0001$ ).

3. Установлено отсутствие корреляционной зависимости кровоостанавливающей активности геля Na-КМЦ от его концентрации в диапазоне от 0,5-2%. Между концентрациями геля от 3% до 6% имеет место сильная прямая связь с повышением кровоостанавливающего эффекта (коэффициент корреляции Пирсона 0,940  $p \leq 0,0001$ ). Дальнейший рост концентрации от 7-9% приводит к снижению данного показателя и появлению сильной обратной связи между ними (коэффициент корреляции Пирсона -0,990  $p \leq 0,0001$ ).

4. Аппликационное применение 6% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой приводит к достоверному укорочению времени остановки кровотечения при резекции печени на 72% (217,91 с), селезенки – на 68% (222,27 с). Уменьшение величины кровопотери составило 74,7% (372,85 мг) при резекции печени и 69% (285,6 мг) при резекции селезенки (показатели достоверно выше относительно сравниваемых препаратов) и предупреждает спайкообразование: коэффициент выраженности спаечного процесса в брюшной полости на 14-е сутки составил 0,497 [0,962-0] балла ( $p < 0,01$ ).

5. Использование 6% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой при краевой резекции печени способствует нормализации венозного оттока (снижение кровенаполнения сосудов на 20%), сохраняет гликоген-запасующую функцию гепатоцитов, активизирует компенсаторно-метаболические процессы (увеличение размеров гепатоцитов и их ядер на 31% относительно контрольной группы,  $p < 0,01$ ) и митотическую активность гепатоцитов (по данным экспрессии Ki-67 и количества двуядерных гепатоцитов на 30% на 3-и сутки эксперимента,  $p < 0,01$ ), создавая благоприятные условия для регенерации ткани в раннем послеоперационном периоде.

6. При применении 6% геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой при резекции селезенки впервые выявлены достоверные уменьшения размеров (на 33%,  $p < 0,01$ ) лимфоидных узелков на ранних сроках эксперимента, уменьшение их плотности на 30% ( $p < 0,01$ ) и снижение CD4+ Т-лимфоцитов (на 60%) на 14-е сутки эксперимента по сравнению с контролем, что свидетельствует о более низкой реактивности белой пульпы и более низкой выраженности воспалительных процессов при использовании нового средства.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для профилактики спаечного процесса в брюшной полости при операциях на печени и селезенке на раневую поверхность паренхиматозных органов необходимо нанести путем аппликации с помощью шпателя и/или рук хирурга 6% гель Na-КМЦ + 5% АКК. Препарат готовится в следующем соотношении компонентов: 6% натрия-карбоксиметилцеллюлозы и 94% 5% раствора аминокaproновой кислоты. Гель наносят из расчета 4 мл на 2 см<sup>2</sup> площади раневой поверхности.
2. Производителям повысить концентрацию геля Na-КМЦ с 4% до 6% для увеличения его кровоостанавливающего эффекта.
3. Продолжить дальнейшее изучение внутрибрюшного применения средств на основе Na-КМЦ, содержащих 5% АКК, с целью профилактики спаечного процесса брюшной полости в зонах с явлениями неустойчивого гемостаза.

### Перспективы дальнейшей разработки темы

Исследование дает возможность дальнейшего изучения структурных и функциональных свойств натрий-карбоксиметилцеллюлозы с целью усиления ее эффектов за счет изменения конформации макромолекул, изменения температурного режима. Рекомендовано дальнейшее изучение возможности эндоскопического введения препарата при операциях на печени и селезенке.

Перспективным в плане дальнейшего изучения является включение в состав натрий-карбоксиметилцеллюлозы различных фармакологических веществ с целью синергии эффектов и детального изучения реакций тканей в области имплантации с помощью предложенных гистологических методик.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Солдатова, Д.С. Изучение времени и массы кровопотери на модели экспериментальных травм печени и селезенки при применении Мезогеля и губки гемостатической КМЦ не термообработанной / Д.С. Солдатова, И.А. Семькина, Е.В. Трегубенко // Молодежная наука и современность: материалы 78-й Всерос. науч. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, посвященной 78-летию КГМУ и 80-летию со дня рождения члена-корреспондента РАМН, профессора А.В. Завьялова. – Курск : Изд-во КГМУ, 2013. – С. 154-155.
2. Солдатова, Д.С. Изучение времени остановки кровотечения на модели экспериментальных травм печени и селезенки при применении Мезогеля разной концентрации / Д.С. Солдатова, Т.С. Голосова // Молодежная наука и современность: материалы 79-й Всерос. науч. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, посвященной 79-летию КГМУ. – Курск: Изд-во КГМУ, 2014. – С. 219.
3. Солдатова, Д.С. Изучение величины кровопотери на модели стандартной травмы печени и селезенки при применении Мезогеля разной концентрации / Д.С. Солдатова, Н.В. Мартынова // Молодежная наука и современность: материалы 79-й Всерос. науч. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, посвященной 79-летию КГМУ. – Курск: Изд-во КГМУ, 2014. – С. 220.
4. Солдатова, Д.С. Кровоостанавливающий эффект Мезогеля в абдоминальной хирургии / Д.С. Солдатова, А. И. Бежин, А.Н. Майстренко // Альманах института хирургии имени А.В. Вишневского: тезисы 12 съезда хирургов России. – Ростов н/Д, 2015. – С. 890-891.
5. Солдатова, Д.С. Сравнительная оценка гемостатических свойств новых губок на основе коллагена / Д.С. Солдатова, И.В. Литвиненко // Молодежная наука и

современность: материалы 81-й Всерос. науч. конф. студентов и молодых ученых с междунар. участием, посвященной 81-летию КГМУ. – Курск: Изд-во КГМУ, 2016. – С. 197.

6. Солдатова, Д.С. Экспериментальное обоснование кровоостанавливающего эффекта Мезогеля как препарата комбинированного действия в абдоминальной хирургии / Д.С. Солдатова, А.И. Бежин, А.Н. Майстренко // INNOVA. – 2016. – № 2(3), – С. 70-72.
7. Изучение кровоостанавливающих свойств новых препаратов на основе гемостатической губки / Д.С. Солдатова, А.И. Бежин, В.А. Липатов, А.Н. Майстренко // Экспериментальная и клиническая хирургия: проблемы и решения: материалы Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – Курск: Изд-во КГМУ, 2016. – С. 51-53.
8. Экспериментальное изучение кровоостанавливающих и противоспаечных свойств Мезогеля в условиях крово- и желчеистечения при травме печени / А.И. Бежин, Д.С. Солдатова, А.Н. Майстренко, И.В. Литвиненко // Морфология: материалы 10 международного симпозиума по клинической и прикладной анатомии. – Москва: Изд-во Эскулап, 2018. – Т. 153(3) – С. 21-22.
9. Солдатова, Д.С. Гемостатические и противоспаечные эффекты 3% геля карбоксиметилцеллюлозы в экспериментальных моделях операций на печени / Д.С. Солдатова, Т.А. Ишунина, А.И. Бежин // Доказательная гастроэнтерология: материалы к 45-й научной сессии ЦНИИ гастроэнтерологии «Вопросы онкологии в практике гастроэнтеролога» – Москва, 2019. – Т. 8, № 1. – С. 41.
10. Солдатова, Д.С. Анализ эффективности однокомпонентных и комбинированных гемостатических средств / А.И. Бежин, И.В. Литвиненко // Научный электронный журнал INNOVA. – 2019. – № 4 (17) – С. 25-29.
11. Солдатова, Д.С. К вопросу о механизмах кровоостанавливающего действия 3% геля карбоксиметилцеллюлозы / Д.С. Солдатова, А.И. Бежин, Т.А. Ишунина // МедХим-Россия: материалы 4-й Российской конференции по медицинской химии с междунар. участием. – Екатеринбург, 2019. – С. 396.
12. Экспериментальное обоснование кровоостанавливающего эффекта 3% геля карбоксиметилцеллюлозы / А.И. Бежин, Д.С. Солдатова, И.В. Литвиненко, А.Б. Горпинич // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2018. – № 4. – С. 72-79.
13. Солдатова, Д.С. Экспериментальное исследование эффективности нового гемостатического композита на основе геля натрий-карбоксиметилцеллюлозы и аминокaproновой кислоты после частичной спленэктомии у крыс / Д.С. Солдатова, А.И. Бежин, Т.А. Ишунина // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2020. – Т. 13, № 4. – С. 319-325.
14. Солдатова, Д.С. Эффективность комбинированного средства с гемостатической и противоспаечной активностью при операциях на печени в эксперименте / Д.С. Солдатова, А.И. Бежин, Т.А. Ишунина // Анналы хирургической гепатологии. – 2020. – Т. 25, № 4. – С. 126-135.
15. Солдатова, Д.С. Изучение влияния концентрации натрий-карбоксиметилцеллюлозы на кровоостанавливающую и противоспаечную активность при операциях на печени в эксперименте / Д.С. Солдатова, А.И. Бежин, Т.Н. Кудрявцева // Сеченовский вестник. – 2020. – Т.11, № 1. – С. 4-14.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКК – аминокaproновая кислота

гель Na-КМЦ 6% + 5% АКК – шестипроцентный гель натрий-карбоксиметилцеллюлозы и пятипроцентной аминокaproновой кислоты

ИКР – интерквартильный размах

КИ T2 – коагуляционный индекс конца свертывания

T2 – время конца свертывания

ТК – транексамовая кислота

Me – медиана

Na-КМЦ – натрий-карбоксиметилцеллюлоза

NaCl 0,9% – физиологический раствор

RGB – red, green, blue (красный, зеленый, синий)

R-канал – красный фильтр

Издательство Курского государственного медицинского университета

305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3

Лицензия ЛР № 020862 от 30.04.99 г.

Сдано в набор 19.03.21г. Подписано в печать 22.03.21г. Формат 30x42<sup>1</sup>/<sub>8</sub>.

Бумага офсетная. Гарнитура Times New Rom.

Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,0.

Тираж 100 экз. Заказ № 1 0 0 «А».

