

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
КУРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

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

ДИССЕРТАЦИЯ
НА СОИСКАНИЕ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ
КАНДИДАТА МЕДИЦИНСКИХ НАУК

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
профессор А. И. Бежин

Научный руководитель:
доктор медицинских наук,
доцент Т. А. Ишунина

Курск - 2021

ОГЛАВЛЕНИЕ

	стр.
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	16
1.1 Остановка кровотечения при операциях на печени и селезенке современный взгляд и проблемы.....	16
1.1.1 Механические и физические методы остановки кровотечения при оперативных вмешательствах на печени и селезенке	16
1.1.2 Современные местные гемостатические средства	28
1.1.3 Целлюлоза как основа местных гемостатических и противоспаечных средств.....	44
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	54
2.1 Материалы исследования.....	54
2.2 Методы исследования.....	55
ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ КРОВООСТА- НАВЛИВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ГЕЛЯ НАТРИЙ – КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ.....	71
3.1 Обоснование кровоостанавливающего действия 4% геля на основе натрий – карбоксиметилцеллюлозы («Мезогеля») <i>in vitro</i> и <i>in vivo</i> в сравнительном аспекте при краевой резекции печени и селезенки.....	71
3.2 Изучение характера изменений геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы при взаимодействии с желчью и кровью в эксперименте <i>in vitro</i>	77
3.3. Изучение корреляционной зависимости кровоостанавливающего эффекта геля от его концентрации	84
ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩЕЙ И ПРОТИВОСПАЕЧНОЙ АКТИВНОСТИ 6% ГЕЛЯ НАТРИЙ –	

КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ С 5% АМИНОКАПРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ ПРИ РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ ПРИ МЕСТНОМ ПРИМЕНЕНИИ.....	90
4.1 Изучение кровоостанавливающей активности 6% геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой в эксперименте <i>in vivo</i> на модели краевой резекции печени и селезенки.....	90
4.2 Изучение противоспаечной активности 6% геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой в брюшной полости на модели краевой резекции печени и селезенки.....	93
ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВОГО СРЕДСТВА 6% ГЕЛЯ НАТРИЙ – КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ С 5% АМИНОКАПРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ НА ПАРЕНХИМУ ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ.....	106
5.1 Морфологическая оценка печени после ее резекции и местного применения 6% геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой.....	106
5.2 Морфологическая оценка селезенки после ее резекции и местного применения 6% геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой.....	115
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	121
ВЫВОДЫ.....	138
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	140
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	142

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АКК – аминокaproновая кислота

гель Na-КМЦ 6% + 5% АКК – шестипроцентный гель натрий

карбоксиметилцеллюлозы и пятипроцентной аминокaproновой кислоты

ИКР – интерквартильный размах

КЗ – коэффициент значимости

КИ T2 – коагуляционный индекс конца свертывания

КМЦ – карбоксиметилцеллюлоза

СББ – спаечная болезнь брюшины

СПБП – спаечный процесс брюшной полости

T2 – время конца свертывания

ТК – транексамовая кислота

КBr – калия бромид

Me – медиана

Na-КМЦ – натрий – карбоксиметилцеллюлоза

NaCl 0,9% – физиологический раствор

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

R - канал – красный фильтр

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Заболевания печени и селезенки, требующие оперативного вмешательства, занимают лидирующее место среди хирургической патологии органов брюшной полости и составляют до 56% [55,98,156]. По данным Министерства здравоохранения Российской Федерации, только за 2016 год в нашей стране зарегистрировано 89 845 человек с заболеваниями печени. В 2017 г. эта цифра не уменьшилась и составила 89 781 [38]. Во многих случаях, как, например, при осложнениях желчнокаменной болезни, раке печени, метастазах, врожденных пороках развития (атрезии) желчевыводящих путей и некоторых системных заболеваниях, оперативное лечение является единственно возможным. За 2017 год выполнено 1 493 160 операций на органах брюшной полости, из них хирургические вмешательства на печени составили 42%. Все они без исключений, в том числе малоинвазивные, являются опасными из-за риска развития обильного, плохо контролируемого кровотечения, желчеистечения и развития желчного перитонита [39]. Примесь излившейся желчи при выполнении хирургических разрезов или травмы органа способствуют снижению свертываемости крови, что усугубляет риск кровотечения [19].

Повреждения селезенки при тупой травме живота остаются самыми частыми как во взрослой, так и детской хирургической практике и составляют до 47% [123,140,207]. Первое место в структуре оперативной статистики селезенки занимают ее травмы – 76%, на втором месте – паразитарные и солитарные кисты – 8% [4,22,60]. Значительно реже в 5% случаев оперативному лечению подвергаются воспалительные и деструктивные образования этого органа [40]. На долю оставшихся 11% приходятся инфаркт селезенки, аномалии ее развития, новообразования и др [33,67]. Кроме профузного кровотечения, источником которого являются паренхиматозные органы, существует еще одна общая проблема хирургического лечения – развитие спаечного процесса,

причем как в области манипуляции, так и в брюшной полости в целом. Это происходит не только из-за непосредственной травматизации печени, селезенки, брюшины и других органов, но и из-за наличия гемоперитонеума и желчи (желчного перитонита) как провоцирующих факторов [1,52,68,78,87]. С целью обеспечения надежного гемостаза при операциях на печени и селезенке предложено множество методик. Это разнообразные техники наложения шва, выполнение резекций согласно анатомическому расположению и ходу внутриорганных сосудов, поддержание низкого центрального венозного давления во время операции, использование аргоновых, лазерных и ультразвуковых скальпелей, коагулятора, водоструйного диссектора. Применение этих методов способствует остановке кровотечения, однако приводит к выраженному спаечному процессу в брюшной полости [125]. Поэтому все чаще хирурги отдают предпочтение местным аппликационным средствам, воздействующим на основные этапы коагуляционного каскада гемостаза, включая сосудисто-тромбоцитарные и плазменные механизмы, которые не оказывают системного действия. С этой целью используют различные гемостатические губки на основе коллагена и желатина, компоненты крови, фибриновые и цианкрилатные клеи и лаки [73,132]. Однако и в этом случае при использовании подавляющего большинства из них часто наблюдаются воспалительные явления в брюшной полости, приводящие к развитию спаечного процесса [144]. Последний является причиной повторных оперативных вмешательств на фоне кишечной непроходимости, развития спаечной болезни брюшины (СББ), бесплодия, ведет в целом к значительному снижению качества жизни пациентов, увеличению затрат на повторное лечение со стороны государства [1,28].

Это диктует необходимость поиска и разработки новых образцов, обладающих высокой гемостатической активностью, биологической инертностью и не вызывающих развития спаечного процесса брюшной полости (СПБП).

Одним из полимеров, отвечающим данным требованиям, является натрий-карбоксиметилцеллюлоза (Na-КМЦ) [154,174,180]. На протяжении многих лет ее используют в качестве профилактики спаечного процесса в брюшной полости в виде препарата «Мезогель» [27,172]. Средство оказывает эффект барьера между поврежденными поверхностями, обеспечивая гладкое скольжение соприкасающихся поверхностей, предотвращая при этом их склеивание и высыхание. «Мезогель» зарекомендовал себя как высокоэффективный, биоинертный препарат, подвергающийся 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 средства 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 сопутствующими компонентами операций на печени и селезенке.

Впервые разработан и изучен в сравнительном аспекте новое комбинированное средство 6% гель натрий – карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой с кровоостанавливающими и противоспаечными свойствами после 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 наилучшего 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. Им требуется время, превосходящее самостоятельную остановку кровотечения, для начала абсорбции жидкой части крови (плазмы). На молекулярном уровне 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 (АКК), что приводит к достоверно более быстрому снижению времени, затраченного на данный процесс и величины кровопотери.

Применение нового средства 6% геля натрий карбоксиметилцеллюлозы 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 повреждённых органов.

Полученные результаты создают основу для дальнейшего поиска и разработки средств на основе 6% геля Na-КМЦ в комбинации с новыми веществами.

Методология и методы исследования

Гель Na-КМЦ 4% используют как противоспаечное средство, однако его кровоостанавливающие свойства не изучены. В связи с этим в эксперименте *in vitro* и *in vivo* доказана и изучена в сравнительном аспекте его кровоостанавливающая активность. Выполнены эксперименты по определению уровня гематокрита и коагуляционных показателей крови у 70 доноров мужского пола в возрасте от 18-20 лет. Выполнена серия острого опыта на базе научно-исследовательской лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России на 126 крысах – самцах линии Вистар по определению времени остановки кровотечения и величины кровопотери. Результаты показали статистически значимое наличие кровоостанавливающей активности,

однако более низкой относительно применяемых в клинике средств (гемостатических губок «Белкозин», «Тахокомб», «Na-КМЦ»).

Совсем не изученным в литературе оказался вопрос влияния крови и желчи на структуру и свойства геля. Для ответа на него: сохранит ли гель данные свойства в условиях крово- и желчеистечения, были выполнены эксперименты *in vitro*. На базе лаборатории кафедры общей химии ФГБОУ «Курский государственный университет» и общей и биоорганической химии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России выполнены исследования по изучению взаимодействия 4% геля Na-КМЦ с нативными желчью и кровью. Выполнены 10 спектральных анализов, рН – метрия, исследование коагуляционного эффекта геля. Доказано, что в условиях крово- и желчеистечения гель не меняет своих химических свойств.

Не изученным в литературе является вопрос зависимости гемостатической активности геля от его концентрации. Эксперименты, проведенные *in vitro* (с кровью 10 доноров) и *in vivo* (на 140 крысах), показали, что максимальной активностью обладает 6% гель Na-КМЦ, дальнейшее повышение концентрации введет к снижению его кровоостанавливающих свойств.

Для усиления гемостатической активности мы предложили ввести в состав геля 5% АКК, обладающую иным механизмом местного кровоостанавливающего действия, разрешенную к применению в практике. Исследования в остром опыте третьей серии эксперимента на 100 крысах – самцах линии Вистар показали, что данное сочетание геля с АКК создает наилучшую гемостатическую активность последнего, что может быть использовано в клинике.

Однако включение 5% раствора АКК теоретически может уменьшить противоспаечную активность средства. Для изучения этого вопроса нами выполнен хронический эксперимент на 63 крысах – самцах линии Вистар в четвертой серии исследований по выявлению противоспаечной активности в брюшной полости и влияния средства на печень и селезенку.

Исследования с применением гистологических рутинных методов окрашивания (гематоксилином и эозином, по Ван-Гизон), гистохимических (ШИК-реакция на гликоген) и иммуногистохимических (Ki-67, маркёра митотической активности, и CD4+ лимфоцитов в селезёнке) показало, что гель 6% Na-КМЦ + 5% АКК не меняет противоспаечной активности. Аппликация последнего на раневую поверхность печени способствует нормализации венозного оттока, активации метаболической и митотической активности гепатоцитов, создает благоприятные условия для постоперационной регенерации паренхимы, а также снижает реактивность белой пульпы селезенки за счет уменьшения размеров, плотности лимфоидных узелков на ранних сроках эксперимента, количества CD4+ Т-лимфоцитов способствует лучшему заживлению послеоперационной раны селезенки.

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 кровотока 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 средства 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.

Реализация результатов работы

Результаты, полученные в ходе исследования, использованы в научно-исследовательской работе и технологическом процессе компании ООО «Линтекс» (г. Санкт-Петербург). Используя материалы настоящего исследования, фирма развивает новое направление по производству гемостатических материалов местного действия на основе натрий –

карбоксиметилцеллюлозы. 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 (Солдатов Д. С., Бежин А. И., Жуковский В. А., 2020).

Степень достоверности и апробация результатов работы

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).

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 (г. 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 для публикаций результатов диссертационного исследования, 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.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Остановка кровотечения при операциях на печени и селезенке современный взгляд и проблемы

1.1.1 Механические и физические методы остановки кровотечения при оперативных вмешательствах на печени и селезенке

Кровотечение любой локализации всегда является источником и риском смертельных осложнений: объемной первичной и отсроченной кровопотери, гемиперитонеума, гидроторакса, внутричерепных гематом и других. Однако гемостаз на паренхиматозных органах (печени и селезенке) является наиболее сложной и острой проблемой абдоминальной хирургии. Прежде всего, это связано с анатомией и функцией данных органов

Печень – полнокровный орган, паренхима которого не способна в достаточной мере сокращаться после ранения. Это приводит к зиянию просвета сосудов, которые не спадаются. Вены печени лишены клапанов, что также усиливает кровотечение, вместе с примесью излившейся желчи, снижающей свертывающую активность крови, за счет растворения фибрина. Все это образует замкнутый круг, который поддерживает обильное кровотечение [157].

Печень не имеет каркасных свойств, ее защитой является реберная дуга, с которой она соприкасается большей частью площади. Однако при ушибах и ранениях это играет отрицательную роль, так как чаще всего происходит дополнительная травматизация костными отломками паренхимы. В целом, по мнению В. Н. Бордакова и соавт. (2009), средний объем кровопотери при травме печени составляет 2,2 литра [144]. Львиная доля ее повреждений в мирное время связана с дорожно-транспортными происшествиями и бытовой травмой – от 26,7% до 49,8% [124,129].

По данным Б. В. Сигуа и соавт. (2015), травма печени при повреждениях органов брюшной полости наблюдается чаще остальных и составляет 56-66,8% случаев [126]. Ее повреждения могут возникнуть также при оперативных

вмешательствах на синтопичных органах, например, поджелудочной железе, желудке, толстом кишечнике, при ваготомии. Данный вид ятрогении составляет 5% [10,35].

Показатели летальности исхода при этом существенно отличаются: уровень смертности при изолированной травме печени составляет 30–36%; при сочетанном характере достигает 60% [1,71,122,126,129].

Повреждения селезенки также занимают лидирующее место, как и травма печени, в среднем 26% от общего числа, при этом в структуре летальности на них приходится 16-40% [47,70,125,129].

Их частота обусловлена схожими характеристиками органа. Селезенка представляет собой депо крови для экстренного выброса определенной порции в общий кровоток, ее паренхима не сокращается после травмирующего фактора [33,102,127]. Так же как и печень, она укреплена только костным каркасом и связочным аппаратом, которые могут оказать дополнительное механическое воздействие на орган во время травмы. Кроме того, известны случаи спонтанного разрыва селезенки при системных заболеваниях крови, за счет повышения давления в ее пульпе при портальной гипертензии, росте кисты. Предотвращающим фактором является только тонкостенная соединительнотканная капсула [193,204,205,214].

Для понимания проблемы остановки паренхиматозного кровотечения и путей ее возможного решения необходим анализ современных методик, которыми пользуются в операционной.

Основным методом остановки кровотечения из паренхимы печени и селезенки остается наложение хирургического шва, который имеет ряд особенностей. Он должен быть поперечно ориентированным ходу основных сосудистых образований, а если рана располагается продольно, то его накладывают по обе стороны раневой поверхности. Желательно использовать аутокани для дополнительной тампонады раны (прядь сальника, мышца) или современные гемостатические материалы: губки, пластины, пленки и т.д. Для наложения шва используют атравматическую иглу, а количество вколов

должно быть минимальным, чтобы избежать нового кровотечения. При затягивании шва паренхима органа должна быть сдавлена равномерно со всех сторон для исключения ее прорезывания. Все это способствует эффективной остановке кровотечения за счет компрессии сосудов при выполнении данной манипуляции [57].

Однако количество предложенных методик наложения паренхиматозного шва печени и селезенки говорит о наличии минусов этой методики и неполном характере остановки кровотечения. В целом их объединяет ряд негативных факторов: ишемия тканей дистальнее наложения лигатур, развитие некроза и дальнейшее абсцедирование, вторичное кровотечение при недостаточном и прорезывание тканей при чрезмерно сильном затягивании нитей, техническая сложность выполнения [5].

Швы на печени можно разделить по площади поражения паренхимы на краевые и проходящие через всю толщу органа.

Соединение краев небольших поверхностных ран проводят с помощью круглой атравматической иглы с использованием кетгута или синтетических рассасывающихся нитей. Накладывают узловые швы, отступя от края 1,5-2 см, обязательно захватывая дно раны [162]. При более глубоком характере раны проводят укрепление с помощью пряди сальника, пластики фасцией, мышцей или параллельно идущим кетгутом швом.

Самым применяемым поверхностным швом является методика наложения В. Г. Петрова, благодаря которой можно избежать прорезывания паренхимы печени. Это достигается следующим образом. С помощью круглой иглы накладывают П-образный шов, который полностью не затягивают, но закрепляют двумя узлами, оставшиеся концы нити не срезают, а один из них вновь вдевают в нить и прошивают паренхиму в обратном направлении, делая выкол под лежащей нитью на другой стороне, и связывают ее с противоположным концом. При этом прорезывание не происходит, так как нагрузка распределяется по дну раны [115].

В. Г. Петрова, благодаря которой можно избежать прорезывания паренхимы печени. С помощью круглой иглы накладывают П-образный шов, который полностью не затягивают, но закрепляют двумя узлами. Оставшиеся концы нити не срезают. Один из них вновь вдевают в нить и прошивают паренхиму в обратном направлении, делая выкол под лежащей нитью на другой стороне, и связывают ее с противоположным концом. При этом прорезывание не происходит, так как нагрузка распределяется по дну раны [115].

В. В. Иванов в 1962 году для исключения прорезывания паренхимы предложил накладывать швы через полоски резецированного сальника. Шов состоит из двух компонентов: внутреннего глубокого, проходящего через сальник и паренхиму печени и наружного, с использованием только сальника. Это обеспечивает хорошую герметизацию раны, снижает нагрузку на ее края, предупреждая прорезывание. Однако этот способ достаточно трудоемкий и может вызывать воспалительные явления и последующий некроз сальника [57].

М. Б. Замошин разработал универсальный шов, который можно применять как при поверхностных ранах, так и при клиновидной резекции печени. Сначала накладывают блоковидный шов через всю паренхиму в одной плоскости, что снижает риск прорезывания, затем, отступя 0,5 см, резецируют участок органа и завязывают лигатуры [116].

При более обширных раневых поверхностях или при резекции печени классическим примером является наложение матрацного шва Кузнецова-Пенского [57]. Его накладывают тупой иглой с двойной лигатурой, прошивая всю толщу органа П-образными швами, не рассекая нити и не затягивая ее. Затем одну из них пересекают и связывают с другой нитью, идущей от рядом расположенного стежка. В результате вся толща печени равномерно сдавливается П-образными швами, которые через один завязаны на одной и другой сторонах печени, сжимая сосуды – источник кровотечения и желчные протоки. Однако очень часто нити путаются, и остаются участки без должного гемостаза. Но необходимо отметить, что данная методика является основой шва

паренхиматозного органа, которую в последующем лишь подвергали множеству модификаций [57].

Например, Жордано предложил накладывать шов иглой с ромбовидным сечением, в центре которой имеется отверстие для лигатур, что обеспечивает возможность прошивать паренхиму печени, а затем обратным ходом иглы захватывать двойную кетгутовую нить и проводить ее на противоположную сторону. Потом нити разрезают и связывают соседние концы. Этот шов обеспечивает более сильное сжатие паренхимы [57].

Шов Бабура отличается механизмом проведения лигатуры через всю толщу печени: нить проводят с помощью полой иглы, завязывание узлов происходит как и при шве Кузнецова – Пенского через один по обе стороны раны [159].

Шов Варламова отличается от шва Кузнецова – Пенского формой иглы – это длинная прямая игла, также с двойной лигатурой. Однако в данном случае одну нить пересекают сразу и производят завязывание узла, постепенно закрывая раневую поверхность органа. Эта методика приемлема при обильном кровотечении, когда необходимо сразу останавливать его за счет гемостаза локального участка, не дожидаясь наложения шва, а потом его фиксации.

Шов Овре отличается от шва Кузнецова – Пенского тем, что лигатуры не пересекают, а в их петлях проводят нить параллельно ходу противоположного края раны, затягивая и фиксируя узлом вторым краем нити. Данный вид шва обеспечивает гемостаз более поверхностно расположенных участков, тогда как глубокие слои паренхимы в полной мере не подвергаются компрессии [57].

Шов Лаббока и Орлова – практически полная копия шва Овре, однако отличается тем, что прошивание паренхимы проводят одинарной лигатурой [57].

Шов Оппеля считается наиболее удачной с практической точки зрения модификацией шва Кузнецова – Пенского. Его выполняют наложением П-образных швов печени, заходящих друг за друга. Это обеспечивает дополнительно сжатие кровеносных сосудов, что, в свою очередь, улучшает

гемостаз, данный способ технически прост. Однако выполнение множества проколов может служить источником нового кровотечения [159].

Высокоэффективным является Шов Телкова. Накладывают восьмиобразные швы, расположенные параллельно плоскости разреза печени. Фиксация нитей происходит на поверхности органа, их затягивание обеспечивает гемостаз как глубоко расположенных участков, так и поверхностных, и, что немаловажно, равномерное распределение нагрузки позволяет избежать прорезывание паренхимы [57].

Шов Робинсона – Батчера – модификация предыдущей методики. Отличия заключаются в наложении отдельных восьми-образных швов, что снижает гемостатический эффект. В качестве игл используют двойную серебряную проволоку, в которую вставляют лигатуру [57].

При шве Бордакова используют три лигатуры. Две из них укладывают на края раны. Другой прошивают толщу печени в виде зигзага. При выходе иглы на поверхность ее связывают попеременно со свободными нитями. Таким образом, стягивается вся толща паренхимы, что обеспечивает высокий уровень гемостаза [57].

Разновидность шва, применяемого на селезенке, не так широка, как применяемого на печени. При ранениях данного органа чаще прибегают к ее полному удалению из-за опасности обильного, неконтролируемого кровотечения из селезеночных артерий и вен, и практически не содержащей соединительнотканых трабекул паренхимы. Поэтому в качестве остановки кровотечения выполняют перевязку сосудистой ножки селезенки, с последующим удалением органа [143].

При небольших трещинах капсулы и неглубоких разрывах применяют укрепление раны прядью сальника, который фиксируют к поверхности органа отдельными узловыми швами. Иногда выполняют резекции полюса селезенки, чтобы сохранить часть органа. В данном случае используют обвивной кетгутовый шов, с укреплением сальником или синтетическими имплантатами [116].

В настоящее время все чаще прибегают к использованию последних, о чем свидетельствуют положительные отзывы врачей и ученых.

Ш. Ш. Амонов (2013) успешно применял гемостатическую пластину «Тахокомб», производство «Такеда» (Австрия), на основе коллагеновой губки с добавлением тромбина для укрепления шва печени после резекции участка, содержащего эхинококковую кисту [80].

А. Д. Каприн с соавторами предложили укрепление шва с помощью полипропиленовой сетки, что уменьшает частоту прорезывания паренхимы и служит дополнительно для усиления остановки кровотечения [92].

Л. Л. Колесников и Ш. Р. Сабиров использовали кетгуттовую сетку на поверхности раны, изготовленную по её форме, для наиболее подверженных оперативным пособиям и травмам правой, левой долей печени и селезенки, обеспечивая гемостаз благодаря механическому сдавлению паренхимы [89].

Общий механизм применения сеток сводится к компрессии и стягиванию паренхимы, что обеспечивает хороший герметизм, благоприятные условия для восстановления внутриорганных структур: сосудов, желчных протоков. Однако при этом есть и минусы: развитие выраженного спаечного процесса в месте имплантации инородного тела и опасность сдавления крупных сосудов с последующей ишемией кровоснабжаемого участка.

Другим вариантом механического шва является наложение клипс. Клипирование как метод остановки кровотечения применяется при операциях на паренхиматозных органах только на этапе наложения на крупные сосудистые образования или желчные протоки, например, селезёночной артерии при спленэктомии или желчного протока при – холецистэктомии [93]. Но для остановки кровотечения из паренхимы практически не используется, так как это приводит к размозжению тканей. Клипсы не фиксируются в месте постановки, слетают, что приводит к повторному кровотечению [114].

Еще одним методом механического гемостаза в ургентной практике является введение в брюшную полость баллона, в котором нагнетают давление до 40 - 50 мм рт. ст., добиваясь прижатия кровоточащего участка печени или

селезенки. Средняя продолжительность, на которую можно установить данный баллон, колеблется от 24 до 48 ч в зависимости от степени повреждения. Установка может быть произведена как при открытой операции, так и лапароскопическим путем. К недостаткам способа относят временный характер гемостаза, баллон необходимо удалить для исключения возникновения пролежней поврежденного и синтопичных органов. Окончательного гемостаза удается достичь не всегда [132].

Весьма успешной методикой, которая набирает свою силу и распространенность, является эмболизация травмированных сосудов печени и селезенки [131,132]. Сначала больным выполняют компьютерную томографию для оценки повреждения крупных сосудов, потом -ангиографию. Затем переходят к анализу локализации введения эмбола, его пути и характера материала, из которого он будет выполнен. Все это требует наличия дорогостоящей аппаратуры, расходных материалов и специалистов, прошедших обучение по данной методике. Это является ограничивающим фактором выполнения таких вмешательств, несмотря на обеспечение окончательного гемостаза, малоинвазивный и органосохраняющий характер манипуляции. Ряд клинических работ указывают на сохранение селезенки после мобилизации ее артерии [169,21]. Кроме того, данный способ остановки кровотечения исключает случайную иммобилизацию сосудов гемостатическими материалами [151,153,137].

Вторым по распространенности после механического шва и достаточно эффективным является метод электрокоагуляции. Метод связан с воздействием на организм высокочастотного электрического тока (диапазон от 200 кГц). Применение его в медицине началось после ряда случаев с производственным травматизмом, когда работники радиостанций в начале двадцатого века периодически получали ожоги, после наблюдения за которыми было выявлено, что они достаточно быстро проходят и не оставляют после себя значительных рубцов. После экспериментального исследования в медицинскую практику был введен метод электрокоагуляции [50]. Есть два основных режима

работы коагулятора «моно» и «биполяр», в зависимости от количества рабочих поверхностей. В целом оба режима производят денатурацию белков, парообразование тканевой жидкости или крови, что приводит к «сварке» сосудов. После данного метода на поверхности ткани остается струп или зона некроза, глубина которого зависит от частоты тока. Метод оказался действительно эффективным. Гемостаз из мелких сосудов является окончательным, абластичным, снижается объем кровопотери. Скорость наступления эффекта незамедлительна. Однако на сосудах крупного диаметра он не всегда эффективен, так как струп смывается током крови, что требует дополнительного применения воздействия электрического тока. Зона некроза служит субстратом для развития воспалительных изменений и инфекции. Ткани после электрокоагуляции заживают медленнее, чем после механического шва. Многие авторы указывают также на возникновение отсроченных термических ожогов глубже заявленной проникающей способности аппарата, что делает этот метод не всегда предсказуемым в режиме монокоагуляции (резание, скальпель). [50].

По мнению ряда авторов, в условиях эндоскопической хирургии задымление, образующееся вследствие испарения жидкости, а также образования гари на браншах инструмента усложняют операционный процесс [21,29,37,170].

Схожим механизмом действия, но менее выраженными побочными эффектами обладает лазерная коагуляция. Эффект лазера основан на явлении индуцированного излучения, в результате которого за счет квантовой энергии происходит нагрев клетки, с последующим выпариванием воды и высушиванием биологических тканей. Область поражения зависит от мощности подаваемого излучения, длины волны и времени воздействия. На основе этого построено деление современных лазерных установок. По данным Ю. М. Гаина (2009), в отечественной абдоминальной хирургии в основном используют CO₂ (углекислые), гольдмиевые и неодимовые лазеры, тогда как за

рубежом чаще применяют установки с тулием (TDFL), излучающие длину волны 1940 нм, и диодные лазеры (DL), по данным В. Żywicka et al. (2020), зона некроза уже у TDFL – лазера [21,185]. Большая область коагуляционного некроза диодного лазера применяется для оперативного лечения билиарного тракта при операциях на печени [185]. В данном случае это сыграло положительную роль при «сварке» просвета крупных желчных протоков.

Достоинствами метода являются высокая эффективность в отношении остановки кровотечения при операциях на печени и селезенке и меньшая область некроза. По данным исследований, применение лазерных установок в хирургии паренхиматозных органов приводит к минимальным гистологическим изменениям тканей. По мнению В. А. Бычковских (2012) преобладает зона пролиферации в гистологических срезах печени и селезенки крыс, что способствует раннему образованию рубца, более быстрому процессу восстановления за счет сокращения фазы экссудативных проявлений. Весомым положительным моментом является бесконтактное применение, например, когда речь идет о ВИЧ – инфицированных пациентах, носителях гепатитов В, С [17,59].

К недостаткам методики можно отнести длительность процедуры и дороговизну. Такими установками в основном оснащены частные медицинские центры, в отличие от государственных учреждений, которые более доступны населению [48].

Противоположным эффектом обладают криоскальпели. Эффект основан на сверххлаждающем действии фреонов, углекислоты и жидкого азота. Данное направление нашло широкое применение при операциях на паренхиматозных органах, благодаря отечественным разработкам Б. И. Альперовича, который изобрел криоультразвуковой скальпель, обладающий хорошей гемостатической активностью на уровне капиллярного кровотечения. Затем ученый совместно с соавторами создал криовиброскальпель, что позволило исключить нагрев инструмента под действием ультразвуковых волн. О достаточной эффективности данных методик говорит ряд научных и

экспериментальных работ [8,64,163]. Однако в настоящее время данный метод широко не применяется, так как появились более совершенные и эффективные технологии.

К ним относится воздействие на ткани луча плазмы: смеси из электронов, ионов и нейтральных частиц. В основном используют аргон, который пропускают между двумя электродами, после чего он ионизируется. Поток плазмы имеет температуру 2500-15000 °С. При воздействии на ткани происходит пиролиз и коагуляция сосудов даже большого диаметра, по данным Ю. М. Гаина, до 7,5 мм на печени, в том числе коагулируются и крупные желчные протоки, что позволяет избежать развития билом в последующем [21].

История развития плазменного ножа, позже который переименовуют в скальпель, также связана с именами наших отечественных ученых и сотрудничеством двух организаций: Смоленского авиационного завода (А. С. Береснев и Л. А. Серых) и Смоленского медицинского института (Н. Б. Козлов и Ю. И. Морозов.). Изобретение датируется 1982 годом, когда после проведения экспериментальной работы был получен патент, в котором была показана высокая эффективность применения плазменного скальпеля при хирургических вмешательствах на паренхиматозных органах. За рубежом прототип плазменного ножа был создан в 1966 году, но эксперименты не оканчивались успехом. Животные погибали из-за газовой эмболии, возникало множество осложнений: коагуляционный некроз, проблемы с охлаждением прибора, длительный период воздействия на ткани. Поэтому приоритет появления в медицине плазменных установок – заслуга отечественных ученых [34].

Широкое применение плазменного скальпеля в хирургии паренхиматозных органов начинается после 80-90-х годов двадцатого столетия, когда выходят первые работы по применению данной методики. В настоящее время он активно используется при оперативных вмешательствах на печени, в том числе, при лечении эхинококковых кист, когда кровотечение может способствовать гематогенному распространению патологии [3,194]. Есть

данные об эффективном применении при органосохраняющих операциях на селезенке [94,102,184].

Большой интерес к данной методике обусловлен, прежде всего, минимальным воздействием плазмы на биологические ткани. В работе А. М. Шулутко (2018) по гистологическому изучению области воздействия плазменного скальпеля на паренхиму печени, селезенки и почки выявлено три зоны изменений. 1) Поверхностный слой – слой карбонизированного некроза, зона действия высокой температуры. 2) Глубокий губчатый, состоящий из обезвоженных элементов. 3) Затем следует пограничный слой между здоровой тканью, где деструкция клеток выражена минимально. Все зоны имеют минимальную площадь по сравнению с другими методами, что ведет к более быстрому восстановлению тканей [99]. Но эффект достигается не на всех аппаратах. Постоянный поток плазмы вызывает обширную зону некроза. Поэтому все чаще применяют импульсный режим работы

Еще одним направлением является использование водоструйного диссектора. Принцип его действия основан на воздействии водной струи разного давления, в зависимости от плотности ткани. При этом, по данным М. А. Рохоева (2017), можно разделять паренхиму печени и отдельно скелетировать сосуды и желчные протоки. Дальнейшая остановка кровотечения требует применения дополнительных методик: наложение лигатур, клипирование, коагуляция и т. д. Положительным моментом является минимальное время воздействия на ткани организма по сравнению с другими методиками, возможность применения в эндохирургии и деликатный характер послеоперационного рубца (ровный край раны) [120,134,161].

Другим методом остановки кровотечения является фотокоагуляция, основанная на действии инфракрасного излучения. Достоинством метода является возможность воздействия на ткани даже под скоплением крови. Чего нельзя достичь другими физическими методами [84]. Его можно применять при эндоскопических вмешательствах, однако во время работы возникает стойкое спаивание рабочей поверхности инструмента с тканями [21].

Многообразие методов механического и физического гемостаза не всегда является залогом окончательной остановки кровотечения. Иногда требуется сочетание данных способов. В ряде случаев условия операционного доступа полностью ограничивают их применение. Тогда альтернативой становятся местные гемостатические средства, действие которых основано на механической и биологической активности.

1.1.2 Современные местные гемостатические средства

В современной хирургии для остановки кровотечения, помимо широко известных и часто применяемых методов, таких как: 1) наложение шва паренхиматозного органа и укрепление его сальником, 2) электрокоагуляция, 3) лазерные и ультразвуковые скальпели, 4) системные кровоостанавливающие средства, все чаще обращают внимание на местные гемостатические средства [21]. К их преимуществам следует отнести простоту в применении, хорошую адгезию к раневой поверхности, минимум местных и полное отсутствие системных воздействий на организм и достаточно высокую эффективность. Все это делает возможным использование этих средств не только в комбинации с вышеупомянутыми методами остановки кровотечения, но и в качестве самостоятельных кровоостанавливающих препаратов.

Арсенал местных гемостатических средств с каждым годом стремительно увеличивается. Несмотря на попытки систематизации местных кровоостанавливающих препаратов, общепринятой классификации пока нет. Существует несколько принципов деления этих препаратов. Наиболее часто встречающийся и, по нашему мнению, основной принцип основан на механизме действия образца, так как он дает максимальную информацию об объекте. Остальные факторы, например агрегатное состояние, основное вещество или материал, из которого состоит препарат, способ нанесения, период биodeградации, можно считать дополнительными.

Единого мнения по поводу деления гемостатических препаратов на основе механизма их действия в литературе не существует. Ряд авторов, в том

числе В. Н. Бояринцев и соавт. (2015), в качестве механизма действия местных гемостатических средств предлагают выделить их влияние на свертывающую систему крови [132].

Они делят препараты на специфические, неспецифические и комбинированные. К первой группе относятся факторы свертываемости: тромбин, фибриноген, тромбопластин. Эти белки встраиваются в систему местного гемостаза и усиливают каскад образования кровяного сгустка. Они представлены в виде готовых растворов или биологически активных субстанций для последующего приготовления.

Ко второй группе относятся биологически активные матрицы, на которых происходит фиксация тромбоцитов и создание условий для более быстрого формирования кровяного сгустка. Например, коллагеновая основа, желатин, целлюлоза, хитозан и другие.

С развитием данного направления гемостаза, монокомпонентные средства уступают место комбинированным препаратам. К ним, например, относят хорошо известную гемостатическую губку «Тахокомб». Это коллагеновый носитель с добавлением фибриногена и тромбина [108].

Этот принцип деления лежит в основе классификаций и в зарубежной литературе. М. Р. Santhosh Kumar et al. (2016), подразделяют местные гемостатики на активные (специфические), пассивные (неспецифические) и их комбинации [201].

Однако в этой классификации не нашли место такие хорошо известные фармакологические средства, как АКК и транексамовая (ТК) кислоты, адреналин и др. Данные препараты не являются специфическими агентами (непосредственными участниками гемостаза) и не представляют собой матрицы, но давно зарекомендовали себя как системные и местные гемостатические средства. Например, АКК давно с успехом используют для остановки кровотечения в эндоскопической хирургии либо в качестве инъекционного препарата, или, как в случае носового кровотечения, в виде смоченного тампона или турунды [7,95]. Поэтому Г. Г. Белозерская и соавт. в

своей работе «Гемостатические средства местного действия» (2006) дополнили данную классификацию, разделив местные гемостатические средства по принципу действия на шесть групп:

- 1) сосудосуживающие и проагрегационные;
- 2) плазменные факторы свертывания;
- 3) ингибиторы фибринолиза;
- 4) стимуляторы агрегации и адгезии;
- 5) способствующие денатурации белков;
- 6) комбинированные [24].

Многие до сих пор считают это деление наиболее полным и применяют его в своих работах и исследованиях [149]. Однако эта классификация является слишком детальной и не дает общего понимания о препарате. В связи с этим было предложено разделить местные гемостатические препараты на две большие группы: биологические и химические агенты [126].

Помимо этого, L. Revelli et al. (2016), выделяют физические пассивные агенты (пассивные гемостатики), обеспечивающие гемостаз за счет субстрата, в качестве которого могут выступать коллаген, желатин, регенерированная окисленная целлюлоза [210]. Биологически активные вещества (активные кровоостанавливающие средства), принимающее непосредственное участие в системе гемостаза, способствуют ускоренному образованию фибринового сгустка, состоящего, главным образом, из фибриногена и тромбина. Помимо них, авторы дополнительно вводят в классификацию группы герметиков. Это средства местного действия, которые не обладают строгой кровоостанавливающей активностью, но их адгезионные и герметизирующие свойства делают их полезными для закрытия ран и защиты сосудистых анастомозов. Это могут быть как синтетические (цианоакрилаты и полиэтиленгликоль-герметики), так и полусинтетические (глутаральдегид-альбумина) герметики. И, наконец, четвертая группа включает в себя комбинированные средства.

Ряд авторов предлагают разделить местные гемостатические агенты в зависимости от входящих в их состав компонентов. Например, Е. В. Будко и соавт. (2019) разделяют препараты на средства 1) белковой природы, 2) полисахариды, 3) производные химических соединений, например, полиакриловой кислоты, далее раскрывая механизм действия в каждом отдельном случае [73]. По такому же принципу построена классификация гемостатических препаратов и в работе зарубежных ученых А. Mani et al. (2018), в которой после деления препаратов на активные и пассивные гемостатические средства, авторы уточняют принадлежность образца в зависимости от его природы, например, производные полисахаридов, желатина и других [195].

В. А. Липатов и соавт. (2016), предлагают деление аппликационных гемостатических материалов на основании таких критериев, как: 1) форма выпуска (губки, порошки, гели-клеи, пасты, растворы), 2) материал изготовления (в зависимости от формы выпуска), 3) наличие дополнительных химически активных веществ, 4) область применения (травмы и ранения паренхиматозных органов, остановка кровотечений различной этиологии) [136]. По нашему мнению, удачным в данном случае можно считать первый критерий, так как форма изготовления препарата оказывает влияние на его выбор в той или иной ситуации. Гемостатические губки и пластины лучше применять при обширных раневых поверхностях, тогда как порошки и гели могут быть использованы на различных рельефах, будь то лакуна зуба, неполный разрыв паренхимы печени и селезенки с щелевидным характером раны или неоднородная и меняющаяся поверхность кишечника. Второй и третий критерии являются разобщенными, хотя в целом характеризуют состав препарата. Четвертый критерий является практически значимым, так как прямо указывает на возможные сферы применения образца.

Таким образом, вследствие стремительного развития направления использования местных гемостатических средств их четкой или общепринятой классификации пока не существует. Учитывая данные литературы и

собственный клинический опыт, мы выбрали несколько наиболее приемлемых и значимых критериев, которые дают более легкое и в то же время полное понимание свойств препарата и могут помочь в выборе гемостатического средства в различных клинических ситуациях.

На первом этапе определяем природу кровоостанавливающего агента: химическая, биологическая или комбинированная. Затем при необходимости детальной оценки механизма действия обращаемся к классификации Г. Г. Белозерской и в заключение учитываем агрегационное состояние вещества, так как этот аспект, помимо характеристики объекта исследования, дает информацию о сферах его применения: операции на паренхиматозных органах, хирургическая гинекология, хирургическая стоматология и др. [24].

По нашему мнению, выбор местного гемостатического средства следует начать с химических (неспецифических) агентов. В большинстве случаев при остановке кровотечения они оказывают системное действие. Но возможно и их местное применение.

Перекись водорода 3% — антисептическое и антиоксидантное средство. При контакте с кожей и слизистыми оболочками происходит выделение активного кислорода, сопровождающееся пенообразованием, что, в свою очередь, приводит к образованию тромба и остановке капиллярного кровотечения [100]. Область применения этого гемостатика весьма ограничена из-за раздражающего действия на ткани и возникновения ожогов по типу щелочных. В основном 3% перекись водорода используется при остановке кровотечения из поверхностных ран кожи, подкожной клетчатки и мышц.

Адреналин или его синтетический аналог эпинефрин (L-1 (3,4-дигидроксифенил)-2-метиламиноэтанол) по химическому строению является катехоламином. Он обладает выраженным вазоконстрикторным действием, применяется как системно, так и местно. Возможно его использование в виде смоченных тампонов, распыления раствора на раневую поверхность. Инъекционный способ введения чаще встречается в стоматологии и эндоскопической хирургии. Применение адреналина при паренхиматозном

кровотечении не рекомендуется из-за ограничения дозировки и системных побочных эффектов [65].

Аминокапроновая кислота – гемостатическое средство общего и местного действия, ингибитор фибринолиза. Она напрямую и опосредованно блокирует превращение профибринолизина в фибринолизин, тормозит активирующее действие стрептокиназы, урокиназы и тканевых киназ на фибринолиз, нейтрализует эффекты калликрейна, трипсина и гиалуронидазы [127].

При местном нанесении АКК снижает проницаемость капилляров, способствует их сокращению, что способствует уменьшению объема кровопотери. Помимо гемостатического эффекта, АКК обладает противоаллергической активностью и улучшает антитоксическую функцию печени. АКК широко используется системно для остановки желудочного, кишечного, почечного, маточного кровотечений. Она активно применяется в гинекологии, в том числе, во время эндоскопических вмешательств [33,171]. Ее используют при нарушениях гемостаза (апластическая анемия, гемофилия и т. д.). Местно АКК применяют в виде раствора или пропитывают марлевые тампоны. В таком виде ее используют в стоматологии, гинекологии и оториноларингологии при носовом кровотечении [6,85,110]. Из побочных эффектов в месте введения или нанесения АКК возможны аллергические реакции в виде макулопапулезных высыпаний.

Транексамовая кислота — антифибринолитическое средство, ингибирующее превращение плазминогена в плазмин. При кровотечениях она обеспечивает как местный, так и системный гемостатический эффект. Помимо этого, ТК обладает противовоспалительными и противоаллергическими свойствами имеет широкую область применения [15]. В урологии ТК используется при простатэктомии и оперативных вмешательствах на мочевом пузыре. В гинекологии ТК применяют при меноррагии и конизации шейки матки. В оториноларингологии ТК используется при носовом кровотечении. Следует отметить, что при использовании ТК возможны побочные эффекты. При пероральном приеме могут наблюдаться диспепсические явления, рвота,

снижение артериального давления и аллергические реакции, вплоть до анафилактического шока. В настоящее время ТК активно используется в комплексной многокомпонентной терапии в кардиохирургии, ортопедии и оториноларингологии [42,111,113].

Акриловая кислота – представитель органических карбоновых кислот. Особый интерес к ней вызван ее способностью создавать соединения с активными металлами и белками с образованием акрилатных биологических клеев, которые способны к коагуляции при взаимодействии с белками раневой поверхности. Самыми эффективными представителями данной группы являются соединения полиакриловой кислоты и ионов железа. Представителем этой группы является препарат «Феракрил» (производство ОАО «Усолье-Сибирский химфармкомбинат», Россия). Механизм действия «Феракрила» основан на взаимодействии с белками плазмы с образованием кровяного сгустка и плотной пленки. Этот препарат нашел широкое применение и заслужил положительные отзывы практикующих врачей в общей, кардио-, торакальной и нейрохирургии, а также в гинекологии, ортопедии и стоматологии [2].

Зарубежным аналогом «Феракрила» является препарат «Дермабонд» («Dermabond», prod. «Ethicon», США), 2-октилцианокрилат, который называют хирургическим кожным клеем. Он используется в качестве герметика швов и гемостатического агента в общей, торакальной, сосудистой хирургии, а также в гинекологии и акушерстве [189]. Однако наряду с работами, свидетельствующими об эффективности препарата, есть сведения о тяжелых дерматологических (контактный дерматит) и аллергических реакциях (анафилактический шок) при нанесении данного препарата [15,191,211].

Еще одно производное акриловой кислоты, заслуживающее внимание – «Гемоблок» (производство ООО «Пульсар», Россия), представляет собой соединение полиакриловой кислоты и ионов серебра. Механизм кровоостанавливающего действия аналогичен «Феракрилу» и связан с денатурацией основных белков крови – альбуминов. Благодаря входящим в его

состав ионам серебра дополнительно оказывает бактерицидное действие. «Гемоблок» используется при паренхиматозных кровотечениях в гнойной и пластической хирургии, а также при лечении ожоговых ран [81,88,141]. Однако местное применение в виде прикладывания смоченных стерильных марлевых тампонов к осушенной поверхности органа является весьма неудобным и практически неосуществимым при продолжающемся кровотечении, например, при повреждениях печени и селезенки. Более того, на сегодняшний день не установлена максимальная доза препарата, которую можно нанести в условиях конкретной операции.

Клей «Гистоакрил» («Histoacryl», prod. «B. Braun», Германия) (мономер n-бутил-2-цианокрилата) тоже образует пленку на поверхности кожи и слизистых оболочек и используется при закрытии кожных ран, для склерозирования варикозно расширенных вен пищевода и желудка [199,176]. «Капрофер» (производство «Ликвор», Армения) – хорошо известное соединение хлорида железа и АКК. Кровоостанавливающий эффект препарата обусловлен окислением железа с последующим образованием плотной пленки на раневой поверхности [125]. Несколько десятилетий назад «Капрофер» применяли в оториноларингологии и эндоскопической хирургии. Однако в современной литературе данных о его использовании немного.

Биологические местные гемостатические средства образуют группу органических соединений, обеспечивающих кровоостанавливающее действие, которые делят на специфические (активные), и неспецифические (пассивные) препараты.

К группе специфических активных биопрепаратов относят фибриноген и тромбин, которые непосредственно участвуют в механизме гемостаза, а также их производные, представленные в разной агрегационной форме (растворы, клеи, пленки и т. д.).

Производные фибриногена чаще всего представляют двухкомпонентную систему, состоящую из фибриногена, фактора свертывания XIII и фибрин-стабилизирующего β 2-гликопротеида. Их часто называют фибриновыми

герметиками. Например, один из представителей этой группы, препарат «Tisseel» (производство «MedFIN», Финляндия) содержит фибриноген, тромбин, фактор свертывания крови XIII, апротинин и хлорид кальция [198].

Еще один представитель фибриновых герметиков, «Evicel» (производство «Johnson & Johnson», США), представляет собой систему для смешивания растворов 70 мг фибриногена и 1000 МЕ тромбина. Смесь подается при помощи общей канюли. По заявлению производителя, при взаимодействии компонентов происходит образование фибринового сгустка, вне зависимости от состояния свертывающей системы пациента. Превращение фибриногена в фибрин происходит путем расщепления первого на фибрин-мономеры и фибринопептиды. Агрегация фибрин-мономеров приводит к образованию фибринового сгустка. При этом фактор XIII связывает между собой нити фибрина. Данный препарат эффективно применяется для герметизации сосудистого шва, в нейрохирургии и при урологических операциях [175,106,200,212].

Однако при введении препарата следует исключить его попадание внутрь сосудов, так как это может привести к эмболии и закупорке просвета сосуда, вплоть до смертельного исхода. Также нельзя наносить препарат при диастазе мозговой оболочки, чтобы предотвратить попадание клея в систему мозговых синусов. Учитывая вышеописанные ограничения, пользоваться этим препаратом может только специалист, прошедший дополнительную подготовку по применению данного средства [202].

Белорусским аналогом этого фибринового герметика является «Фибринонат М» (производство «Белбиофарм»), содержащий фибриноген, тромбин и раствор хлорида кальция. Реализуется такой препарат в виде инъекционной системы и рекомендуется в качестве местного гемостатического средства для остановки кровотечений, а также склеивания, фиксации и регенерации тканей при оперативных вмешательствах и травмах. Есть сведения о его использовании в абдоминальной, торакальной, сосудистой и пластической хирургии [105,160].

По мнению В. Н. Бордакова (2018), эффективность указанного средства зависит, главным образом, от концентрации фибриногена и тромбина, влияющих на время образования фибринового сгустка. При более высоких концентрациях фибриновый сгусток образуется быстро, за 5 секунд, при низких – медленно, в среднем за 30 секунд. Указанные особенности требуют также наличия опыта работы с этим препаратом [13].

С целью образования фибринового сгустка возможно использование раствора тромбина в качестве самостоятельного средства или в сочетании с другими веществами. Тромбин производят путем лиофилизации крови или тканей доноров. Нанесение осуществляют в виде распыления или орошения места кровотечения, чаще всего из шприца. Например, препарат «FloSeal» («Baxter» prod., Великобритания) — это готовый к использованию человеческий тромбин в физиологическом растворе, расфасованный в шприцах. Имеет широкую область применения, включая паренхиматозные кровотечения. Однако небольшой объём препарата (5 мл) и высокая стоимость (около 56 000 рублей за 5 мл раствора) ограничивают использование этого препарата [190]. Чтобы исключить вымывание раствора кровью, тромбин чаще используют на биологических носителях: коллагеновых, желатиновых целлюлозных губках. Например, препарат «Surgiflo» (производство «Johnson & Johnson», США), представлен в виде тюбика с раствором тромбина и наконечника с желатином. При надавливании тромбин и желатин соединяются, и образуется пена, которая лучше примыкает к раневой поверхности и занимает всю площадь раны. Данный препарат, по мнению P. Faivre (2015), является высокоэффективным в нейрохирургии и при операциях на паренхиматозных органах. Его можно рассматривать в качестве более дешевого аналога «FloSeal» [187,192].

Отечественные аналоги этих препаратов не уступают им в качестве и кровоостанавливающей активности. Например, препарат «Триссукол» — это так называемая дуплоджект система для сочетанного нанесения растворов 500 единиц человеческого тромбина — 4 и 3000 единиц бычьего апротинина [44]. Она применяется в оториноларингологии, стоматологии, нейрохирургии,

торакальной хирургии и при операциях на паренхиматозных органах [41,96]. В целом следует отметить высокую эффективность данной группы местных гемостатических средств, во многом благодаря их непосредственному участию в системе гемостаза. Однако технические сложности при использовании дуоденальных систем и опасные побочные эффекты (эмболия, заражение ВИЧ, гепатитами В, С) требуют наличия опыта работы и осторожности при использовании данных препаратов.

Одним из основных компонентов биологических гемостатиков пассивного действия служат матрицы, чья функция заключается главным образом в механической остановке кровотечения за счет абсорбции раневой поверхности. Однако механизм их кровоостанавливающего эффекта этим не ограничивается и может включать другие активные процессы, способствующие гемостазу.

Представителем данной группы является коллаген, органический белок, получаемый из соединительной ткани животных. В основе его кровоостанавливающего действия лежит процесс агрегации и активации тромбоцитов. По мнению Е. В. Будко (2019), это связано с трехспиральной организацией макромолекул коллагена, что позволяет ему образовывать трехмерную сеть, которая активно контактирует с тромбоцитами и эритроцитами. При взаимодействии коллагеновой матрицы с клетками крови наблюдается ускорение запуска гемокоагуляционного каскада [73].

Данное средство может быть представлено в виде различных фармакологических форм. Но чаще всего его используют в виде губок или пластин, возможно использование и в виде порошка. Однако монокомпонентные препараты коллагена используются крайне редко. Более эффективным следует считать сочетание коллагеновой матрицы и тромбина. Так, одно из первых отечественных гемостатических средств на основе коллагена, губка коллагеновая «Белкозин» (производство «Лужского завода»), имеет в своем составе дополнительные компоненты: борную кислоту и нитрофурал [73]. Она применяется при капиллярных и паренхиматозных

кровотечениях, носовых кровотечениях, кровотечениях из синусов твердой мозговой оболочки, альвеолярных кровотечениях и при стоматологических вмешательствах. По мнению ряда авторов, эта губка не отличается высокой эффективностью из-за неполной адгезии к раневой поверхности при диффузном кровотечении из крупных сосудов. Ее буквально смывает током крови [77,136].

По данным литературы, самым популярным препаратом этой группы считается «Тахокомб» («Tachocomb», производство «Takeda», Австрия). Он представляет собой гемостатическую коллагеновую пластину, пропитанную 2 МЕ тромбина и 5 мг фибриногена. Дополнительно в его состав входят 2,9 мг альбумина, 2,8 мг гидрохлорида L-аргинина, 1,5 мг хлорида натрия, 0,4 мг цитрата натрия, 16,5 мг рибофлавина [73]. К раневой поверхности прикладывается рабочим слоем, который выделен желтым цветом. Перед применением губку следует пропитать физиологическим раствором. При взаимодействии с раневой поверхностью активизируется и начинает работать фибриновый клей, а тромбин способствует появлению нитей фибрина и формированию устойчивого кровяного сгустка. Коллагеновая основа, помимо обеспечения адгезии, абсорбирует кровь. Биодegradация этого гемостатического имплантата наступает через 3-6 недель.

Препарат эффективно зарекомендовал себя при операциях на паренхиматозных органах, в том числе при наличии больших резецированных участков, и успешно использовался для закрытия сосудистых и желчных фистул [53].

Помимо этого, препарат продемонстрировал высокую эффективность в эндоскопической хирургии, оперативной гинекологии и для укрепления сосудистого шва в кардиохирургии [43,61,108].

Еще один представитель этой группы препаратов, заслуживающий внимания — микрофибриллярный коллаген («Microfibrillar collagen hemostat flour», производство «Avitene», США). Это абсорбирующий порошок, получаемый из бычьего коллагена, который при нанесении на раневую

поверхность активизирует тромбоциты и выступает в роли каркаса для образования сгустка крови, что делает его удобным для применения в случае затрудненного доступа при оперативных вмешательствах в нейрохирургии, стоматологии и абдоминальной хирургии. Препарат рассасывается в течение трех месяцев [210].

Несмотря на высокую эффективность, у этой группы препаратов есть целый ряд общих побочных эффектов. В первую очередь это аллергическая реакция на чужеродный белок, вплоть до анафилактического шока. Возможны воспалительные реакции в области расположения импланта, на месте которых в последующем формируется соединительная ткань, иногда с образованием грубых рубцов и спаек. Существенным недостатком является высокая стоимость. На фоне применения «Тахокомба» после нейрохирургического удаления опухоли головного мозга при контрольном магнитно-резонансном исследовании в области имплантации материала описано выявление вторичного онкологического процесса на фоне некротической гранулемы [144]. Помимо собственно коллагена, в роли биологической матрицы может выступать желатин, представляющий собой результат кислотного гидролиза свиного коллагена (гидроколлоид), который взбивают до пены, а затем подвергают сушке. Он доступен в виде губок, порошка и пленок, что значительно увеличивает область применения. Желатиновая губка способна абсорбировать объем крови или другой жидкости, который в 40 раз превышает ее вес и может увеличиться в размере до 200% [210]. Губка хорошо принимает нужную форму после увлажнения физиологическим раствором или непосредственно кровью. Однако при фиксации к раневой поверхности необходимо механическое воздействие (прижатие) для более прочной адгезии. Нейтральный pH средства предотвращает активизацию тромбина пациента, поэтому возможна предварительная обработка губки раствором тромбина. Однако использование препарата ограничивается высокой частотой воспалительных осложнений с образования гранулем в области его имплантации. В экспериментальных исследованиях, выполненных на

животных, уже на первые сутки после аппликации желатиновой губки в область кровотечения описывают развитие выраженного отека и тканевую дегенерацию, проявляющиеся более интенсивно, чем у препаратов из окисленной целлюлозы [144].

Высокоэффективным представителем гемостатических средств на основе желатиновой матрицы считается «Спонгостан» («Spongostan», производство «Johnson & Johnson», США). Он выпускается в виде губок, пленок и пудры, изготовленных из высушенной желатиновой пены [179]. Губка абсорбирует кровь и фиксирует активизирующиеся тромбоциты. Помимо этого, следует отметить хорошо выраженные каркасные свойства губки «Спонгостан».

Завершая анализ препаратов на основе коллагена и желатина необходимо отметить, что их использование в абдоминальной хирургии, гинекологии и уропластике ограничивается побочными эффектами в виде воспалительных и аллергических реакций в области аппликации, что, в свою очередь, может привести к развитию соединительнотканых спаек и рубцов.

Следующим видом биологических матриц является большая группа полисахаридов, представляющих собой продукт конденсации десятков, сотен и тысяч моносахаридов, соединенных гликозидными связями. В качестве местных гемостатических средств чаще используют гомополисахариды, состоящие из одинаковых моносахаридов. К ним относятся крахмал (амилопектин), хитозан и целлюлоза.

Производные амилопектина работают по типу механического гемостаза и обеспечивают 10-кратную абсорбцию жидкой части крови [73]. Однако другие ученые указывают на то, что для набухания и начала действия крахмалу требуется значительное количество времени, занимающее до 4 минут, что неприемлемо в ургентной хирургии. Увеличение крахмала в объеме в десятки раз за счет абсорбции крови также относят к негативным факторам, так как в этом случае возрастает вероятность компрессии сосудов или нервных стволов в

области имплантации. Поэтому производные амилопектина в нейрохирургии не используют [144].

В экспериментальном исследовании на животных кровоостанавливающие свойства зарубежного препарата «Arista» на основе крахмала («Arista»; Davol Inc., США) были признаны средними. В то же время обнадеживающие результаты были получены в отношении его аналога «4DryField ® PH» («Plantec Medical GmbH» prod., Германия), который не только эффективно останавливал паренхиматозное кровотечение, но и способствовал профилактике спаечного процесса, что было подтверждено гистологическим исследованием [186,203].

Еще одним представителем этого класса гемостатических средств являются производные бурых водорослей – альгинаты. Они ускоряют превращения фибриногена в фибрин с образованием тромба за счет агрегации на своей поверхности форменных элементов. При взаимодействии с кровью гемостатические губки данного класса переходят в гелеобразное состояние. Немаловажно, что такие средства подвергаются полной биоинертной деградации без последствий для организма [138]. Представителем данной группы является «Сорбалгон» («Sorbalgon», производство «Hartman», Германия), который благодаря хорошим абсорбционным свойствам успешно применяется при длительно не заживающих мокнущих ранах [101,178].

Сравнительно недавно в гемостатическую группу полисахаридов были включены производные хитозана. Это природные полимеры животного происхождения, содержащиеся в панцирях ракообразных и насекомых. Использование этого материала в качестве местных гемостатических средств началось после появления информации о наличии у них антибактериальной, противогрибковой и противовирусной активности, а также способности абсорбировать биологические жидкости организма. Механизм их действия основан на агрегации и последующем склеивании эритроцитов и не зависит от состояния собственной системы гемостаза пациента. Более того, производные хитозана подвергаются биodeградации без образования токсичных

метаболитов. Данные препараты выпускают в форме губки, марли, порошка и растворов в шприц-тубах [132].

Популярным средством, чья эффективность широко освещена в целой серии научных работ (Hatamabadi H. R. et al., 2015; von Beckerath A. K. et al., (2016); Amoozgar H. et al., 2020) является «Целокс» («Celox», MedTrade products «Ltd», производство Англия). Препарат зарекомендовал себя как эффективное гемостатическое средство в гинекологии при остановке обильного послеродового кровотечения и применяется в кардиохирургии, после оперативного лечения врожденных пороков сердца. Более того, «Целокс» способствовал остановке диффузного кровотечения при проникающих ранениях верхних и нижних конечностей [11,183,213].

При анализе литературных источников за последние пять лет оказалось, что авторы чаще исследуют эффективность зарубежных гемостатических средств. Тем не менее отечественные препараты на фармакологическом рынке представлены и нашли применение для остановки кровотечения в условиях военных действий. Они включены в состав индивидуальных аптечек военнослужащих [135].

На кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии Курского медицинского университета отечественные препараты гемостатической группы полисахаридов изучали в экспериментальном исследовании при моделировании поверхностной раны печени и селезенки у крыс. Гемостатическая губка из хитозана, предоставленная как экспериментальный образец фирмой ООО «Зеленая дубрава» (г. Москва), плохо прилипла к раневой поверхности и не отличалась высокой эффективностью при остановке кровотечения. Несмотря на заявленные свойства – образовывать гель при взаимодействии с кровью, данного эффекта не наблюдали. Не исключено, что наступление гемостатического эффекта требовало больше времени. Однако оно превышало время остановки кровотечения (4 минуты) в контрольной группе. За это период кровотечение останавливалось [168]. Указанные недостатки ограничивают

применение изученной губки при неотложных ситуациях, когда остановка кровотечения должна произойти незамедлительно.

1.1.3 Целлюлоза как основа местных гемостатических и противоспаечных средств

Самым ярким представителем класса полисахаридов является целлюлоза, которая издавна используется для остановки кровотечения.

Еще на заре Египетской цивилизации использовался метод тампонирования кровоточащих ран с помощью материй, свернутых определенным образом и пропитанных настоями целебных трав. Тканевые тампоны, или узел Иисиды (тиет), изготавливались из лоскутов ткани, чаще хлопчатобумажной, путем их свертывания и перевязывания веревкой посередине. Название «узел Иисиды» связано с богиней Иисидой, которая, по легенде, использовала тампон, когда была беременна Гором для его защиты в матке от атак бога Сета. Именно Египет является родиной тампонов, марлевых шариков и другой медицинской ветоши, которую мы используем по сей день, а материалом, благодаря которому это стало возможным, является целлюлоза [75].

Выбор в пользу целлюлозы очевиден. Это природное, а следовательно, биологически инертное, нетоксичное и подвергающееся полному гидролизу средство.

Целлюлоза, в переводе с латинского «cellula», означает «комната» или, дословно, «клетка здесь». Это линейный полисахарид (1→4)-β-глюкан (поли(1→4)-β-D-глюкопиранозил-D-глюкопираноза), химическая формула которого $[C_6H_7O_2(OH)_3]_n$. Основу целлюлозы составляют десятки тысяч остатков мономеров глюкозы, соединенные β-гликозидными связями. Данная структура отличает целлюлозу от других гомополимеров, таких как крахмал или гликоген. Молекула амилозы представляет собой спираль, тогда как молекула целлюлозы – линейную цепочку мономеров, стабилизированную внутримолекулярными водородными связями. Надмолекулярная структурная

единица целлюлозы – микрофибрилла содержит сотни макромолекул. Ее диаметр составляет от 4 до 20 нм, в зависимости от вида целлюлозы [44,46,116]. Целлюлоза представляет собой аморфно-кристаллическое вещество, где наряду с кристаллами присутствуют аморфные области. Длина кристаллов составляет 20-85 нм в синтетических волокнах и 65-220 нм – в волокнах природного происхождения. Молекулярно массовое распределение зависит от вида и условий получения целлюлозы. Аморфные области неоднородны и включают внутрифибриллярные пустоты диаметром 1,5 нм и межфибриллярные поры размером 1,5-10 нм [66].

Это самый распространенный и обновляемый биологический полимер, представленный на нашей планете.

Химическая активность целлюлозы обусловлена гликозидными и водородными связями. Важное практическое значение имеют простые эфиры целлюлозы: оксиэтилцеллюлоза, метилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) и др., которые применяются в качестве матрицы для местных гемостатических препаратов. Наиболее часто используются окисленная целлюлоза и натрий – карбоксиметилцеллюлоза [45].

Окисленную целлюлозу получают путем введения в структуру полимера новых функциональных карбонильных или карбоксильных групп.

Принцип кровоостанавливающего действия основан на создании кислой среды, которая при контакте с кровью способствует разрушению эритроцитов пациента с выделением кислого гематина и формированием каркаса, на котором фиксируются и частично разрушаются тромбоциты. Этот механизм является достаточно эффективным и имеет дополнительный положительный эффект в виде создания кислой антибактериальной среды [24,25].

Однако, по мнению некоторых авторов, в месте имплантации окисленной целлюлозы можно обнаружить очаги коагуляционного (химического) некроза, причиной которых является кислая среда. Далее запускается каскад образования соединительнотканного рубца и инициируется развитие спаечного процесса, что абсолютно неприемлемо в абдоминальной хирургии или

гинекологии. Этот существенный недостаток ограничивает область применения окисленной целлюлозы [73,79].

Одними из первых представителей гемостатических средств на основе окисленной целлюлозы были препараты фирмы «Джонсон и Джонсон» («Johnson & Johnson», США). Они отличаются эффективностью и широко применяются в медицинской практике. К этой группе принадлежит «Серджисел» фибрилляр («Surgicel fibrillar»), биоразлагаемый материал с антибактериальным эффектом, состоящий из семи слоев окисленной целлюлозы, который образует кислую (рН 2,5–3,0) среду при контакте с кровью и может принимать нужную конфигурацию [182]. В хирургии паренхиматозных органов «Серджисел фибрилляр» применяется довольно широко. Однако он может оказаться неэффективным при диффузных артериальных кровотечениях и при наличии экссудата, которые препятствуют адгезии образца к раневой поверхности [132]. Еще одним недостатком этого препарата является создание питательной среды для развития бактериального воспаления [144].

Следует отметить, что в экспериментальных работах за последние 5 лет информация о бактериальном воспалении при использовании «Серджисел фибрилляр» отсутствует. Это может быть связано с усилением антибактериальной активности препарата за счет добавления фармакологических препаратов и совершенствования процессов производства средств на основе окисленной целлюлозы. Так, по данным гистологического исследования, после имплантации «Серджисел фибрилляр» («Surgicel fibrillar») признаков воспалительного процесса выявлено не было, а сам материал подвергся полной биодеградации [77].

Из других производных окисленной целлюлозы стоит отметить средство «Хитохем» («ChitoHem», prod. «ChitoHem», Индия), которое оказалось эффективным при кровотечении из бедренной артерии, осложнившим проведение кардиоангиографии у 41 пациента, и препарат «Травмастем» («Traumastem» «ТАF, Bioster», производство Чешская Республика), который

был успешно применен во время операции по удалению новообразования легкого. Препарат эффективно остановил не только кровотечение, но и потерю лимфы. Была отмечена также полная резорбция материала, что позволило в дальнейшем провести послеоперационную радиотерапию. При наличии инородного тела в грудной полости радиотерапия была бы невозможна [177,188].

Качественно другим производным целлюлозы является натрий – карбоксиметилцеллюлоза. Это природный, абсолютно безвредный фитополисахарид, представленный простым эфиром гликолевой кислоты и целлюлозы. Его получают путем растворения КМЦ в 0,3% водном растворе натрия хлорида. Формула $[C_6H_7O_2(OH)_3-x(OCH_2COOH)_x]n$, где $x = 0,08-1,5$), была установлена немецким ученым Янсенем в 1918 году. Na-КМЦ может быть представлена в виде гранул или порошка. Молекулярная масса этого соединения находится в пределах 200000-300000, а pH составляет 6,0-8,5 [152].

Na-КМЦ не обладает токсическим, мутагенным, канцерогенным, эмбриотоксическим и тератогенным действием и имеет достаточно низкую бактериоёмкость. С химической точки зрения представляет слабую, почти бесцветную кислоту. Na-КМЦ не вступает во взаимодействие и не растворяется в кислотах, метиловом спирте, этаноле, бензоле, хлороформе и других органических растворителях и не меняет своих свойств при контакте с биологическими жидкостями организма [148]. Однако Na-КМЦ легко взаимодействует с некоторыми неорганическими веществами, что позволяет использовать ее в качестве носителя лекарственных препаратов, причем, использовать эти препараты можно как перорально, так и наружно.

Однако самым важным свойством Na-КМЦ является ее высокая осмотическая активность. Na-КМЦ способна абсорбировать воду, превосходящую в объеме сам препарат в несколько десятков раз. При этом образуются гели или вязкие коллоидные растворы, которые не утрачивают свои свойства в течение длительного времени. Это обеспечивается нитевидной

формой молекул полимера и наличием активных функциональных группировок.

Благодаря этим характеристикам Na-КМЦ стали использовать при разработке гемостатических губок. Механизм гемостатического действия такой же, как и у окисленной целлюлозы. Однако Na-КМЦ не образует очагов кислого некроза в области аппликации. Гемостатическая губка Na-КМЦ представляет собой матрицу, на которой задерживаются форменные элементы, что способствует образованию тромба, а также абсорбции жидкой части крови.

Использование Na-КМЦ в качестве основы для гемостатических губок активно разрабатывается на базе Курского государственного медицинского университета. На модели паренхиматозного кровотечения у крыс была продемонстрирована эффективность экспериментальных образцов гемостатических губок карбоксиметилцеллюлозы [23,154,165]. Эффективность гемостатических губок на основе КМЦ и их преимущества перед хитозановыми и коллагеновыми матрицами были показаны при ортопедических операциях с проведением остеотомии. Помимо этого, было отмечено важное достоинство губок КМЦ – полная биodeградация препарата [181].

На основе КМЦ с добавлением трехвалентного алюминия был разработан новый гидрогель. Данный композит за счет изменения пространственной конфигурации макромолекулы образца показал высокие кровоостанавливающие свойства при остановке кровотечения из мягких [200].

С учетом поверхностной активности Na-КМЦ ее можно использовать в качестве "барьера" между поврежденными органами с целью предотвращения развития спаечного процесса в брюшной полости. По данным гистологического исследования, достоинствами препарата являются отсутствие признаков воспаления, реакции гиперчувствительности на введение импланта и полная биodeградация образца [77,78].

Благодаря противоспаечной активности эти средства нашли применение в гинекологии, где развитие спаечного процесса приводит к одному из самых грозных последствий – бесплодию.

Результаты ретроспективного исследования по изучению последствий перенесенных оперативных вмешательств в гинекологии у пациенток, которым вводили противоспаечное средство «Антиадгезин» («Genewel Co., Ltd.», производство, Южная Корея) на основе КМЦ с добавлением гиалуроновой кислоты, показали, что у 100% пациенток, которым данный препарат вводился, удалось избежать вторичного бесплодия по причине спаечного процесса [77].

Препарат «Протескал» («Protescal», «LG Life Sciences» prod., Южная Корея), в состав которого входят карбоксиметилцеллюлоза, гиалуроновая кислота и альгинат, продемонстрировал надежные противоспаечные свойства при оперативном лечении тонкокишечной спаечной непроходимости. У 15 прооперированных больных в течение трех последующих месяцев повторные лапаротомии не проводились. Помимо этого, было отмечено, что препарат удобно вводить при эндоскопических [109].

По мнению многих зарубежных авторов, именно КМЦ является наиболее приемлемым материалом для профилактики спаечного процесса. Проспективное рандомизированное исследование «Guardix-sol» («Hanmi Medicare», производство Южная Корея), комбинированного препарата КМЦ и гиалуроновой кислоты, у пациентов, перенесших радикальную лапароскопическую простатэктомию в период с ноября 2011 года по июнь 2014 года, показало, что «Guardix-sol» достоверно снижает адгезию кишечника к брюшной стенке после лапароскопической операции на органах малого таза [197].

Высокая противоспаечная активность гидрогеля на основе КМЦ при оперативных вмешательствах в брюшной полости была отмечена и в экспериментальном исследовании на кроликах [52]. Самым популярным и широко применяемым отечественным противоспаечным средством является «Мезогель».

«Мезогель» – противоспаечное, барьерное средство производства компании ООО «Линтекс» (г. Санкт-Петербург), основой которого является натрий-карбоксиметилцеллюлоза. Полимер подвергают термообработке при

120-140°C в течение 5-30 мин, а затем растворяют в воде при температуре 18-25°C. В результате получаются 0,2-4,5% гелевые растворы с повышенной вязкостью и способностью растворяться в воде. Это позволяет снизить концентрацию полимера при сохранении необходимых вязкостных свойств [90].

Механизм противоспаечной активности обеспечивается за счет: 1) снижения концентрации ионов Ca^{2+} , участвующих в каскаде образования нитей фибрина, 2) пролонгирования времени высыхания геля, что позволяет препарату длительно находиться в месте имплантации и как можно дольше разделять раневые поверхности, а также 3) снижения иммунологической реактивности тканей на имплант за счет сокращения концентрации Na-КМЦ в его составе.

В целом гель работает как барьер между поверхностями оперированных или неповрежденных органов. Он обеспечивает их подвижность относительно друг друга и предотвращает высыхание поверхности кишечника во время оперативного вмешательства в брюшной полости. Период полной биодеградации «Мезогеля» составляет 3-5 суток [121].

Применение «Мезогеля» в хирургии проблема актуальная, так как оперативное вмешательство на органах брюшной полости сопровождается риском развития спаечного процесса в 12-40% случаев [142].

Пусковым механизмом образования спаек служит травматизация брюшины во время оперативного вмешательства. Немаловажными патогенетическими факторами являются высыхание брюшины, инфекционный процесс, нарушение кровоснабжения тканей, введение инородного тела в брюшную полость, включая гемостатические губки и антибиотики. Очень важен и иммунный статус самого пациента: активность фибробластов и лейкоцитов в ответ на травмирующий фактор, наличие сопутствующей патологии [69].

В целом, в процессе образования спаек можно выделить 3 этапа: 1) прекращение фибринолитической активности, 2) запуск воспалительной

реакции, выработка цитокинов, активаторов тканевого фиброза и 3) процесс тканевой гипоксии, индуцирующий выработку эндотелиального фактора роста, способствующего синтезу коллагена. Следует отметить, что процесс образования спаек усиливается и при увеличении выработки лактата в бескислородной среде [20].

«Мезогель» доказал свою эффективность в хирургии и гинекологии [9,119,112150]. При оперативном лечении миомы матки у 58 пациенток с помощью «Мезогеля» удалось практически полностью избежать развития СПБП, повторных оперативных вмешательств по поводу рассечения спаек и вторично-опосредованного бесплодия. При этом «Мезогель» был удобен в использовании, не давал побочных эффектов и был гораздо дешевле зарубежных аналогов [83].

Введение «Мезогеля» во время оперативного лечения при непроходимости маточных труб на 51% повышало наступление желанной беременности по сравнению с группой контроля (Минаева Е. А. и соавт., 2015) [74].

«Мезогель» применяется не только в гинекологии, но и в нейрохирургической и офтальмологической практике [12,164,76]. Так, при оперативном лечении межпозвоночных грыж у 36 пациентов при использовании «Мезогеля» спаечный процесс был выражен в меньшей степени [147].

При эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии было применено пропитывание гемостатической губки «Мезогелем». В этом случае наблюдалось снижение количества послеоперационных синехий и увеличение процента выздоровевших пациентов до 90%. Эти результаты оказались достоверно лучше результатов лечения в контрольной группе, где губку обрабатывали физиологическим раствором [173].

Самой широкой областью применения «Мезогеля» является абдоминальная хирургия. Эффективность противоспаечной активности импланта была доказана при лечении больных с острым аппендицитом.

Использование «Мезогеля» и в этом случае улучшило качество жизни пациентов в послеоперационном периоде [172]. Противоспаечные свойства «Мезогеля» были подтверждены и у больных с острой спаечной кишечной непроходимостью, где изначально выраженность СПБП выше, чем при аппендиците. Было отмечено достоверное снижение повторных лапаротомий [97,172].

В ряде работ демонстрируется возможность включения в состав самого геля различных фармакологических препаратов, что не только не снижает его противоспаечную активность, а наоборот, усиливает благодаря действию второго компонента. Так, например, было предложено использование «Мезогеля» совместно с лонгидазой (ферментный препарат) и деринатом (иммуностимулятор), что в обоих случаях привело к снижению выраженности СПБП [62].

Применение «Мезогеля» и дерината способствовало снижению образования соединительной ткани при экспериментальном моделировании СПБП у крыс [28].

«Мезогель» можно комбинировать с пенициллином и цитостатиком (цисплатином) [18,166]. В обоих случаях это приводит к синергичному действию препаратов, повышая как противоспаечную активность «Мезогеля», так и специфическую эффективность пенициллина и цисплатина. Следует отметить, что включение в «Мезогель» антибактериальных, противоопухолевых, иммуностимулирующих и ферментативных препаратов не снижает его противоспаечную активность [18].

Таким образом, противоспаечную эффективность «Мезогеля» следует считать доказанной. Так как основой «Мезогеля» является Na-КМЦ, гель должен обладать и кровоостанавливающей активностью. Однако в современной литературе отсутствуют сведения о его применении в качестве гемостатического агента. Профилактика и лечение СПБП являются такими же актуальными задачами современной хирургии, что и остановка кровотечения при оперативном вмешательстве. Более того, кровотечение и спаечный процесс

тесно связаны друг с другом. Существует прямая зависимость между увеличением объема кровотечения во время операций на органах брюшной полости и усилением процесса спайкообразования. Даже минимальный гемоперитонеум 0,125 мл запускает каскад образования соединительной ткани, который по мере увеличения объема излившейся крови только усиливается. Экспериментально доказано, что нативная кровь дает более сильный адгезивный эффект, чем плазма или эритроциты в отдельности [68]. Желчеистечение еще больше провоцирует образование спаек, так как входящие в состав органические кислоты вызывают воспаление брюшины и тканей органов брюшной полости с последующей выработкой фибрина, как защитного механизма.

Таким образом, операции на печени и селезенке относятся к опасным для жизни больного вмешательствам. Они сопровождаются кровотечением, желчеистечением, спаечным процессом в брюшной полости.

Во время операций хирурги используют кроме механических способов остановки кровотечения местные гемостатические препараты: такие как губки «Na-КМЦ», «Белкозин», платины – «Тахокомб», клеи, пленки и др. Однако они не только останавливают кровотечение, но и приводят к развитию выраженного спаечного процесса в брюшной полости.

Для решения этой проблемы во время операций хирург использует целый комплекс мероприятий, в том числе и разработанный и используемый препарат «Мезогель».

Однако в литературе отсутствуют данные о наличии у геля Na-КМЦ гемостатической активности, способах ее усиления и возможности использования препарата для остановки кровотечения во время операций. Нет данных о влиянии желчи и крови на гель и использовании его как для остановки кровотечения, так и для профилактики спайкообразования. Этим неизученным вопросам и посвящено наше исследование.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Материалы исследования

Для изучения кровоостанавливающих свойств геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы использовали его концентрации от 0,5% до 9%, стандартное противоспаечное рассасывающееся средство «Мезогель» и новое комбинированное средство 6% гель натрий карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой производство 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; марлевая салфетка, которая является неотъемлемым материалом для остановки кровотечения во время любой открытой операции [53,108].

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, но не превышавшем одномоментно 5 мл – согласно ГОСТ Р 52623.0-2006 «Технология выполнения простых медицинских услуг» [30].

Использовали медицинскую консервированную желчь для изучения взаимодействия с гелем Na-КМЦ 4% производства ООО «Самсон-мед» г. Санкт-Петербург, в состав которой входили: желчь крупного рогатого скота и свиней консервированная, замороженная 900 мл; вспомогательные вещества: спирт этиловый ректификованный – 100 мл; формалин – 1 мл, раствор фурацилина в 70% спирте (1:1500) – 10 мл, отдушка – 2 мл.

Нативную желчь получали с письменного согласия 12 пациентов, мужского пола в возрасте 45-50 лет, с желчнокаменной болезнью и острым холециститом, после выполнения чрескожной чреспеченочной холангиостомии. Забор желчи производили в день выписки, 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.

2.2 Методы исследования

Дизайн исследования представлен на рисунке 1.



Рисунок 1 – Дизайн исследования

Распределение экспериментального материала по сериям представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Распределение экспериментального материала по сериям

Экспериментальное исследование in vitro				
Метод исследования	Количество доноров, задействованных в методике, и объем взятого материала у одного донора (мл)		Общее количество доноров в эксперименте in vitro (n)	
Определение гематокрита	70 доноров; 3 мл крови		70 доноров крови	
Определение времени свертывания крови	10 доноров; 3 мл крови			
Определение коагуляционного эффекта	10 доноров; 5 мл крови			
pH-метрия	10 доноров; 1 мл желчи			
Определение показателей инфракрасных спектрограмм	10 доноров; 3 мл крови			
	10 доноров; 3 мл желчи		12 доноров желчи	
Всего: 82 доноров				
Экспериментальное исследование in vivo				
Опыт	Серия эксперимента	Группы исследования	Количество животных в группе (n)	Всего лабораторных животных в серии эксперимента
Острый опыт	Отработка модели резекционной раны печени и селезенки		6	6
	1 серия (изучение кровоостанавливающей активности 4% геля Na-КМЦ в сравнительном аспекте)	Контрольная	20	120

Продолжение

Острый опыт			Марлевая салфетка	20	
			«Белкозин»	20	
			«Na-КМЦ»	20	
			«Тахокомб»	20	
	2 серия (изучение зависимости кровоостанавливающих свойств геля Na-КМЦ от его концентрации)		Контрольная	20	140
			0,5% гель Na-КМЦ	0	
			1,5% гель Na-КМЦ	0	
			2% гель Na-КМЦ	0	
			3% гель Na-КМЦ	20	
			4% гель Na-КМЦ	20	
			5% гель Na-КМЦ	20	
			6% гель Na-КМЦ	20	
			7% гель Na-КМЦ	20	
			8% гель Na-КМЦ	20	
			9% гель Na-КМЦ	0	
3 серия (изучение кровоостанавливающей активности 6% геля Na-КМЦ+ 5% АКК в сравнительном аспекте)		Контроль	20	100	
		6% гель Na-КМЦ	20		
		6% гель Na-КМЦ+5% АКК	20		
		«КМЦ»	20		
		«Тахокомб»	20		
Хронический опыт	4 серия (изучение противоспаечной активности геля и его влияния на ткани печени и селезенки)	0 сутки	Неоперированные животные	3	3
		3 сутки	Контроль	7	21
	4% гель Na-КМЦ		7		
	6% гель Na-КМЦ + 5% АКК		7		

Продолжение

		7 сутки	Контроль	7	21
			4% гель Na-КМЦ	7	
			6% гель Na-КМЦ + 5% АКК	7	
		14 сутки	Контроль	7	21
			4% гель Na-КМЦ	7	
			6% гель Na-КМЦ + 5% АКК	7	
Всего:					432 крысы

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. С письменного согласия, соблюдая правила асептики и антисептики, донору пунктировали вену в локтевой области, после чего производили забор 3 мл крови. Затем 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.

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, что служило группой контроля, и исследуемые вещества – гемостатическую губку «Na-КМЦ» объемом 2 мм³ (группа сравнения). В третьем опыте добавляли гель Na-КМЦ 4% объемом 0,2 мл. Были взяты минимальные размеры исследуемых веществ, чтобы исключить влияние на свертывание крови наличия инородных веществ большой площади, что само по себе способствует более высокой агрегации тромбоцитов на дополнительной поверхности. Затем проводили регистрацию электрокоагулограмм, рассчитывали время конца свертывания крови. Вычисляли: конец свертывания T₂ – от начала исследования до первого импульса с минимальной амплитудой по формуле:

$$T_2 = T_0 + T_{ад},$$

где T_0 – время от начала эксперимента; $T_{ад}$ – время от начала записи до первого импульса с минимальной амплитудой (до точки Д, рисунок 2); T_2 – время от начала исследования до первого импульса с минимальной амплитудой (расстояние между точками Б и Д, рисунок 2).

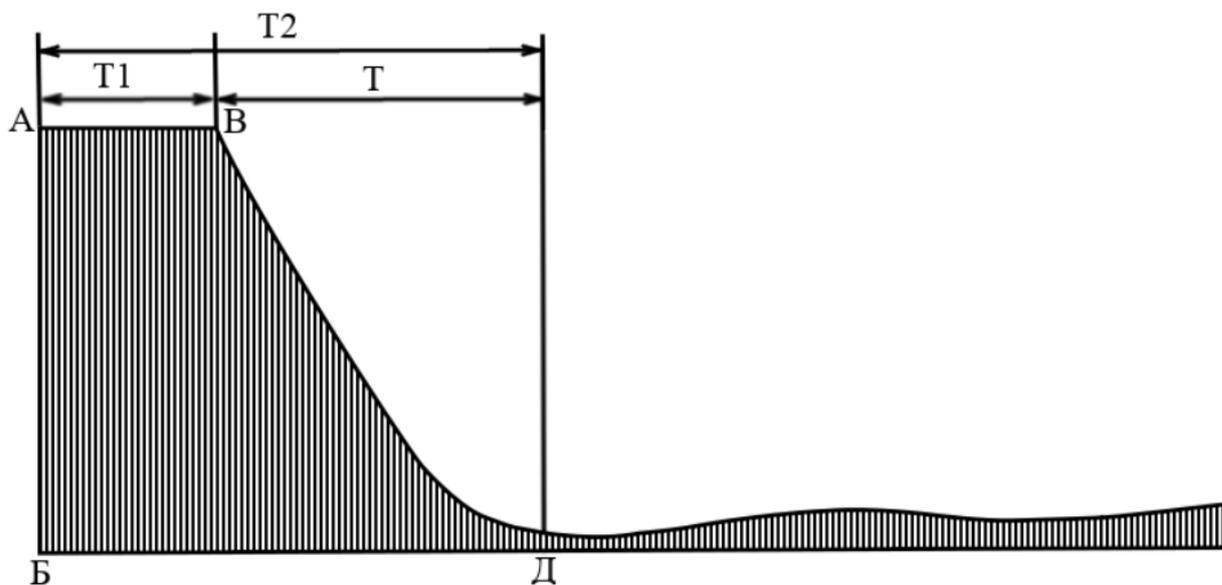


Рисунок 2 – Схема расчета времени конца свертывания (объяснение в тексте)

Оценку гемостатических свойств материалов проводили по предложенному на кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии коагуляционному индексу свертывания (КИ) – отношение времени конца свертывания крови в опытном исследовании ко времени конца свертывания крови в контрольном опыте [91]. Указанный индекс выражался в процентах и вычислялся по приведенной формуле:

$$\text{КИ } T_2 = T_2 (\text{м}) \times 100 / T_2 (\text{к}),$$

где $T_2 (\text{м})$ – время конца свертывания исследуемого материала в секундах, $T_2 (\text{к})$ – время конца свертывания в контроле в секундах.

Минимальные показатели КИ T_2 свидетельствуют о высокой гемостатической активности исследуемых материалов [91].

Для определения коагулирующего эффекта *in vitro* дальнейшие исследования проводили на базе лаборатории кафедры общей химии ФГБОУ

«Курский государственный университет», под руководством доцента Т. Н. Кудрявцевой. Для этого нами впервые была предложена следующая методика: в лабораторные стаканы объемом 25 мл, диаметром 5 см, к 3 мл 0,5%, 1,5%, 2% раствора или 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8% и 9% геля Na-КМЦ добавляли по 0,5 мл нативной крови [139]. С каждой концентрацией проводили 10 опытов. Кровь помещали на поверхность геля и не перемешивали. Время экспозиции составляло 1 минуту. Для верификации образования кровяного сгустка к данной смеси добавляли 5 мл NaCl 0,9% и использовали методику аппаратного механического перемешивания с тангенциальным движением. Затем для объективной оценки наличия коагулирующего эффекта выполняли цифровые фотографии смесей исследуемого геля и нативной крови на аппарате Olympus E-410 Kit (Olympus Corporation, Южная Корея). Фотографии загружали в программу Corel DRAW Graphics Suite X6 16.1.0.843 (2012) (Corel Corporation, Канада). Проводили выделение границ кровяного сгустка до и после разведения водой, с последующим расчетом их площадей в см^2 , для дальнейшего сравнения и статистической обработки полученных данных. Если площадь сгустка после разведения NaCl 0,9% становилась равна площади дна градуированного стакана ($19,63 \text{ см}^2$, $P=\frac{1}{4}\pi d^2$), фиксировали отсутствие коагулирующего эффекта. Если площадь сгустка после разведения NaCl 0,9% увеличивалась, но не достигала всей предоставленной площади ($19,634 \text{ см}^2$), отмечали коагулирующий эффект. Если площадь кровяного сгустка статистически значимо не менялась после разведения геля NaCl 0,9%, фиксировали значимый коагулирующий эффект.

Изучение взаимодействия Na-КМЦ разных концентраций 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8% и 9% и желчи, как стандартизированной (медицинской консервированной), так и нативной, проводили в эксперименте *in vitro*. В первой серии на часовое стекло наносили 1 мл геля и 0,2 мл стандартизированной желчи в первой группе, 0,5 мл – во второй и 1 мл – в третьей группе исследования. Для исключения действия входящих в состав медицинской желчи спирта этилового ректифицированного – 100 мл, формалина –

1 мл, раствора фурацилина в 70% спирте (1:1500) – 10 мл в соотношении на 900 мл желчи крупного рогатого скота и свиней консервированной, замороженной, а также для оценки взаимодействия Na-КМЦ с нативной желчью, во второй серии эксперимента вещества брали в тех же пропорциях, но с добавлением нативной желчи пациента-донора [86]. Забор был выполнен на базе ОБУЗ «Курская городская клиническая больница скорой медицинской помощи» в отделении общей хирургии у 12 доноров мужского пола в возрасте 45-50 лет, после выполнения чрескожной чреспеченочной холангиостомии с информированного согласия пациентов, в день выписки, чтобы минимизировать изменение состава желчи за счет патологических процессов. Время доставки биологического материала до лаборатории составляло 30 минут.

Образцы желчи и геля выдерживали 30 минут, среднее время наступления химической реакции без катализаторов. За это время производили дихотомически оценку наличия или отсутствия признаков химического взаимодействия: выпадение осадка, изменение окраски вещества, появление запаха, которые можно было оценить без дополнительной аппаратуры [66].

Так же производили **оценку изменения уровня рН** стандартного геля Na-КМЦ 4% («Мезогеля»), рекомендованного для применения, согласно инструкции, при операциях на брюшной полости, следовательно, подвергающегося воздействию желчи при операциях на печени, до и после добавления нативной и медицинской желчи. Опыт выполнен с помощью тест – полосок индикаторной бумаги (тест – полоски) рН 4,5–9 с шагом 0,25, производство «Wancheng», Китай. Измеряли рН в трех группах: 10 образцов геля Na-КМЦ 4% объемом 1 мл; 10 образцов 1 мл геля Na-КМЦ 4% с добавлением 1 мл стандартизированной желчи и 10 образцов 1 мл геля Na-КМЦ 4% с добавлением 1 мл нативной желчи. Всего было выполнено 30 опытов. Соотношение веществ 1:1 выбрано, для исключения фиксации результатов рН одного из образцов, за счет его преимущества в объеме [51].

Определение характера взаимодействия между 4% гелем Na-КМЦ, кровью и желчью проводили с помощью инфракрасной спектроскопии, путем получения спектрограмм методом прессования таблеток исследуемого вещества с галогенидом щелочных металлов на инфракрасном спектрометре Фурье (ФСМ 1201) согласно ГОСТ Р 57941-2017 «Композиты полимерные. Инфракрасная спектроскопия. Качественный анализ» [16,26].

Для этого 1 мл 4% геля Na-КМЦ («Мезогель») и 1 мл нативной крови в первом случае, 1 мл 4% геля Na-КМЦ и 1 мл нативной желчи – во втором смешивали на часовом стекле, а также отдельно по 2 мл исходных веществ: 2 мл геля, 2 мл крови и 2 мл желчи, высушивали в течение одних суток при комнатной температуре. После чего образцы растирали до порошкообразного состояния с помощью ступки и пестика, изготовленного из оксида алюминия. В ступку добавляли калия бромид (KBr) в соотношении 1/50 (галогенид / исследуемое вещество) тщательно перемешивали с образцом. Смесь KBr с образцом помещали в специальную форму и сжимали под прессом до небольшого диска толщиной около 1 мм. В конце полученные таблетки выкладывали в кюветы спектрометра. Расчеты полученных спектрограмм производили при помощи встроенной программы OMNIC, содержащей максимальное количество функций для анализа и обработки полученных спектров. Выполняли сравнение длин волн основных функциональных групп, входящих в состав исследуемых веществ.

Оценка кровоостанавливающего эффекта *in vivo* выполнена на лабораторных животных – 120 крысах-самцах линии Wistar, массой 185-250 г. Исследование одобрено региональным этическим комитетом при Курском государственном медицинском университете, протокол № 2/2013. Животные находились в виварии КГМУ с соблюдением стандартных условий пребывания и режима кормления. Эксперименты проведены в соответствии со следующими документами: ГОСТ 33215-2014 «Правила оборудования помещений и организации процедур при работе с лабораторными животными; ГОСТ 33216-2014 «Правила работы с лабораторными грызунами и кроликами»;

«Методические рекомендации по содержанию лабораторных животных в вивариях научно-исследовательских институтов и учебных заведений РД-АПК 3.10.07.02-09 и с рекомендациями Международного комитета по науке о лабораторных животных, поддержанных ВОЗ, 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) [14].

На базе научно-исследовательской лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» мы проводили **моделирование операционной раны печени и селезенки**, отвечающей требованиям воспроизведения модели профузного кровотечения и желчеистечения, как из мелких поверхностных капилляров, так и крупных долевых сосудов: артерий и вен [125].

Для этого во время премедикации использовали следующие фармакологические препараты: хлоропирамин внутримышечно 0,4 мг/кг, платифиллин подкожно 0,07 мг/кг, кеторол внутримышечно 0,1 мг, ксила внутримышечно 0,2 мг/кг. Крыс фиксировали, выполняли подготовку передней брюшной стенки (удаление шерсти), что занимало 10 минут. Оперативные вмешательства выполняли под общей ингаляционной анестезией: наркозный аппарат R340 Isoflurane, КНР, концентрация изофлюрана, во вдыхаемой газовой смеси – 3%, поток воздуха – 0,8 л/мин, подаваемый через лицевую маску [125]. Затем, после двойной обработки операционного поля антисептиком, крысам выполняли срединную лапаротомию, вводили ранорасширитель, что обеспечивало лучший доступ одновременно как к левой доле печени, так и к каудальному краю селезенки. Приподнимали левую боковую долю печени противоположным концом желобоватого зонда, наподобие печеночного зеркала. 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 (рисунок 3).

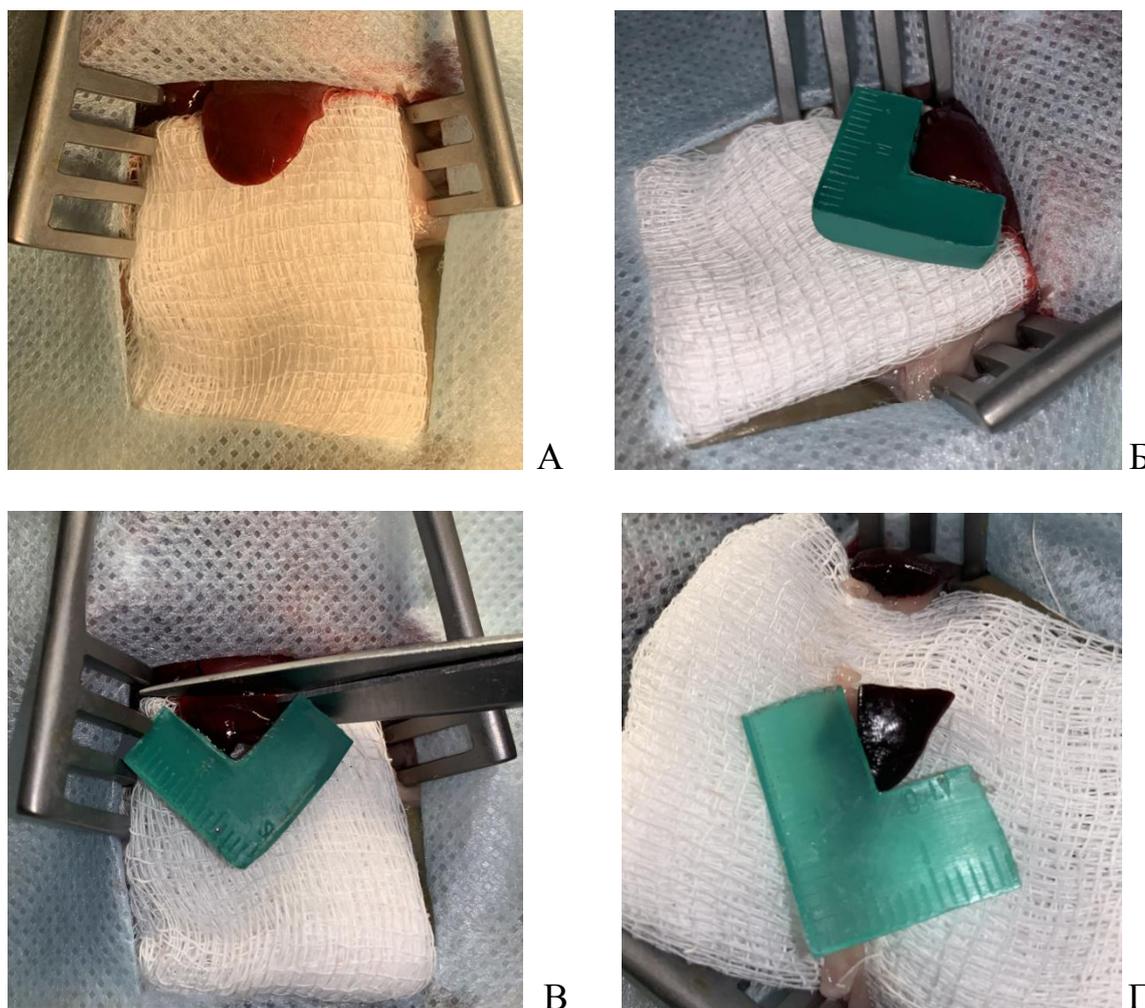


Рисунок 3 – Моделирование резекционной раны печени и селезенки у крысы. А – иммобилизованный край левой боковой доли печени крысы; Б – трафарет для выполнения резекции; В – резецирование нижнего края левой боковой доли печени крысы; Г – резецирование каудального края селезенки крысы

Объем резецированного участка был стандартизирован: отсекали нижний край левой боковой доли печени, 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 долевых сосудов, однако не приводит к смерти лабораторных животных от кровопотери в хроническом эксперименте.

Также воспроизводит модель желчеистечения, благодаря полному поперечному пересечению внутридольных желчных протоков. Интраоперационный контроль пересечения протоков проводили с помощью оптической техники – интраоперационный микроскоп Carl Zeiss OPMI Pico [125,165].

Каудальный конец селезенки выводился в операционную рану, посредством тракции за связку, расположенную по ее дорсальной поверхности. Аналогично прикладывали трафарет и выполняли резекцию каудального конца.

Затем на область раны (площадь раневой поверхности) наносили исследуемые образцы стандартных размеров, без их дополнительной фиксации: 1 мл гелеобразных образцов и 1 см² твердых форм (гемостатические губки, марлевая салфетка). Данные размеры рассчитаны в соответствии с площадью раневой поверхности. Группой контроля служила эта же методика без применения местных гемостатиков. После моделирования раны включали секундомер и останавливали его после полного прекращения кровотечения: отсутствия выделения крови или истечения ее из-под опытных образцов. Таким образом регистрировали время остановки кровотечения. Величину кровопотери определяли как разницу в весе марлевой салфетки до эксперимента и после его окончания [79].

$$M = m_1 - m_2,$$

где m_1 – вес салфетки после эксперимента, пропитанной кровью (мг),

m_2 – вес салфетки до эксперимента (мг),

M – величина кровопотери (мг).

После оценки кровоостанавливающих свойств, животных выводили из эксперимента в остром опыте без дополнительных оперативных манипуляций путем подачи в кювет углекислого газа – CO₂ - 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 исследуемых средств), 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 производили с помощью методики В. А. Липатова, суть которого заключается оценке распространенности спаечного процесса, степени деформации органов во влеченных в него, оценке характера и вида спаек [18]. Уровень значимости каждого признака выверен с помощью анкетирования хирургов и ему присвоен коэффициент: распространенность спаечного процесса (коэффициент значимости $KЗ = 0,455$), деформация органов, вовлеченных в процесс образования спаек ($KЗ = 0,338$), выраженность различных видов спаек, таких как сальниковые ($KЗ = 0,015$), плоскостные ($KЗ = 0,066$), перепончатые ($KЗ = 0,046$), тракционные ($KЗ = 0,45$), шнуровидные ($KЗ = 0,031$). Оценку внутрибрюшных спаек проводили в баллах от 0 до 5 с последующим умножением на $KЗ$. Для комплексной оценки выраженности спаечного процесса суммировали полученные оценки.

Меньшие значения семантического дифференциала свидетельствовали о минимальной выраженности спаечного процесса в брюшной полости.

После проводили вскрытие грудной полости, для оценки состояния тканей легких, сердца, наличия выпота в грудной клетке и перикарде. Оценивали состояние головного мозга (наличие отека его вещества) после трепанации черепа. Также макроскопическому анализу были подвергнуты почки на предмет острой почечной недостаточности, вследствие введения в брюшную полость 6% геля Na-КМЦ + 5% АКК.

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 по Ван-Гизон для оценки выраженности фиброзных изменений [123]. Помимо этого, проведены **гистохимические и иммуногистохимические** исследования. Для проведения последних взято минимальное количество экспериментальных животных (по 3 крысы) с учетом высокой стоимости реагентов.

С целью оценки степени выраженности регенераторных процессов в печени оценивали площадь гепатоцитов и их ядер, которую определяли с помощью компьютерной программы ImageJ (разработчик Research Services Branch of the National Institute of Mental Health, США) при увеличении в 400 раз [49]. Всего выполнено 3028 измерений. Для оценки метаболической функции клеток оценивали гликоген-запасяющую функцию печени полуколичественно по характеру отложения (в виде глыбок или диффузно) и интенсивности окрашивания по результатам гистохимической ШИК-реакции, которая проводилась по следующей схеме: Окисление периодатом калия 30 минут.

1. Промывание в дистиллированной воде.
2. Реактив Шиффа 30 минут.
3. Промывание срезов водопроводной водой.
4. Окрашивание гематоксилином 2-3 минуты.
5. Промывание и дегидратация срезов.
6. Заключение в канадский бальзам под покровные стёкла [123].

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) [155]. Иммуногистохимическое исследование проводилось по следующей схеме:

1. Депарафинирование и регидратация.
2. Промывание в дистиллированной воде.
3. Водяная баня в цитрат-буфере 40 минут.

4. 20 минут при комнатной температуре.
5. Промывание в трис-фосфатном и трис буферах.
6. Перекись водорода 3 минуты.
7. Окрашивание антителами Ki-67 (SP6 CellMarque, Rocklin, CA) в термостате 40 минут.
8. Промывание в трис-фосфатном и трис буферах.
9. Двухкомпонентная система детекции 10 и 15 минут.
10. Диаминобензидин 1 минута.
11. Промывание в дистиллированной воде.
12. Докрашивание гематоксилином 10 секунд.
13. Промывание водопроводной водой.
14. Заключение в среду под покровные стекла.

В качестве хромогена использовали диаминобензидин с последующим докрашиванием гематоксилином [123]. С помощью компьютерной программы ImageJ, используя RGB гистограммы, косвенно оценивали кровенаполнение печени по оптической плотности распределения красных яркостных единиц в пикселях (px).

Для оценки уровня иммунного ответа в ответ на нанесение операционной раны и аппликации исследуемых препаратов 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 по вышеприведенной схеме использовали моноклональные антитела Anti-CD4 (M3350 Glostrup, Дания) [72]. В качестве хромогена использовали диаминобензидин с последующим докрашиванием гематоксилином [123]. Результаты этого исследования оценивали полуколичественно в арбитражных единицах, учитывая интенсивность окрашивания и количество положительно окрашенных клеток: 0 – отсутствие окрашивания, 1 – единичные клетки, 2 – мелкие группы по 5-7 слабо или

умеренно окрашенных клеток, 3 – небольшие скопления, представленные несколькими группами по 10-15 слабо или умеренно окрашенных клеток, 4 – часто встречающиеся небольшие группы интенсивно окрашенных клеток, 5 – крупные скопления интенсивно окрашенных клеток. Используя RGB гистограммы, косвенно оценивали кровенаполнение селезенки.

Статистическая обработка результатов выполнена по общепринятым методическим рекомендациям для медико-биологических исследований с использованием пакетов прикладных программ IBM SPSS for Windows (версия 24.0) [27,118]. Оценку распределения признака количественных данных проводили по критерию Колмогорова-Смирнова. При нормальном распределении величины были представлены в виде средней арифметической и ошибки средней арифметической ($M \pm m$); при ненормальном характере - в виде медианы и интерквартильного размаха (Me [25-75 квантили]). Также 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 [31,32]. Корреляционную зависимость между величинами оценивали по коэффициенту Пирсона.

ГЛАВА 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ ГЕЛЯ НАТРИЙ — КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ

3.1 Обоснование кровоостанавливающего действия 4% геля на основе натрий — карбоксиметилцеллюлозы («Мезогеля») *in vitro* и *in vivo* в сравнительном аспекте

Полученные результаты исследований определения величины гематокрита свидетельствуют о том, что 4% гель Na-КМЦ обладает кровоостанавливающей активностью, достоверно уменьшая объем плазмы на 51% (0,31 мл) относительно контроля ($p=0,0001$) (таблица 2).

Таблица 2 – Определение гематокрита крови в исследуемых группах

Группы исследования		Количество исследований (n)	Объем плазмы крови % Me ИКР [25-75]	p
Контрольная группа (кровь 1 мл)		10	60,00 [60,00-65,00]	$p=0,0001$
Исследуемая группа (добавление Na-КМЦ 4% 0,1 мл к 1 мл крови)	4% гель Na-КМЦ + плазма	10	30,00 [30,00-35,00]	$p=0,0001$
	Оставшаяся часть плазмы		30,00 [25,00-35,00]	
Группа сравнения (с добавлением NaCl 9% 0,1 мл к 1 мл крови)		10	10	$p=0,0001$

Примечание: достоверность различий при межгрупповом сравнении рассчитана с использованием критерия Краскела-Уоллиса, далее Манна-Уитни с поправкой на множественное сравнение Бонферрони ($p=0,008$)

Распределение слоев после центрифугирования при добавлении 4% геля Na-КМЦ было отличным от контрольной группы (рисунок 4).

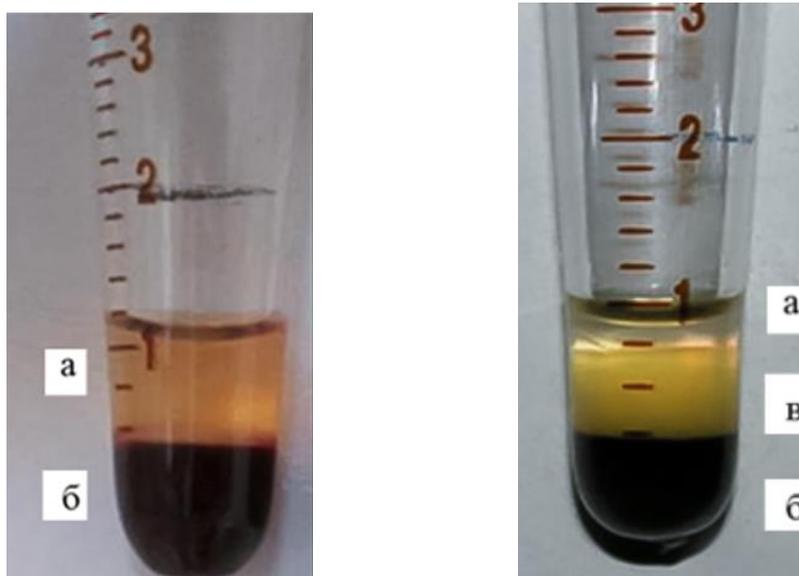


Рисунок 4 — Слева представлена контрольная пробирка, содержащая кровь; справа — опытная пробирка, содержащая кровь и гель Na-КМЦ 4%; а — плазма; б — форменные элементы; в — гель Na-КМЦ 4% с абсорбированной частью плазмы

В контрольной пробирке выявлена классическая картина распределения: нижний уровень составлял слой форменных элементов крови, верхний — плазма, со стандартным соотношением 1 к 4, тогда как в опытной пробирке нижний уровень так же занимали форменные элементы крови, появляется новый средний слой — 4% гель Na-КМЦ с абсорбированной частью плазмы, верхний слой — оставшаяся часть плазмы (распределение обусловлено удельным весом компонентов).

Для верификации данной методики выполняли добавление физиологического раствора к нативной крови (0,1 мл). Это, напротив, привело к увеличению объема плазмы соответственно добавленной величины (на 17%; $p=0,001$) во всех случаях (так как плотность физиологического раствора идентична плотности плазмы крови).

С целью дальнейшего изучения кровоостанавливающего эффекта выполнен анализ коагулограмм крови 10 доноров. Нами было установлено, что при использовании исследуемых материалов (геля Na-КМЦ 4% и губки

гемостатической «Na-КМЦ») происходило укорочение времени конца свертывания крови во всех случаях, а по окончании опыта в кюветах образовывался кровяной сгусток. Однако свертывающая активность в каждой группе была разной. Максимальной кровоостанавливающей активностью обладает губка гемостатическая «Na-КМЦ», применение которой способствовало снижению времени свертывания крови относительно контрольных исследований: КИ Т2 составил $46,57 \pm 2,12\%$ ($p=0,0001$). Кровоостанавливающая активность 4% геля Na-КМЦ оказалась ниже: КИ Т2 равен $62,87 \pm 3,36\%$ ($p=0,0001$). Выявлены также достоверно значимые различия между твердой и гелеобразной формами: губкой и гелем Na-КМЦ 4% $p=0,001$ (таблица 3).

Таблица 3 — Показатели коагулограмм при изучении кровоостанавливающей активности материалов в опыте *in vitro* ($M \pm m$)

Группы исследования	Количество исследований (n)	Показатели коагулограммы			
		T2 (с)	p	КИ Т2 %	p
* Контрольная	10	480,00 $\pm 10,54$	-	100,00	-
** Группа сравнения (губка гемостатическая «Na-КМЦ» Линтекс)	10	220,80 $\pm 7,84$	* $p=0,0001$	46,57 $\pm 2,12$	* $p=0,0001$
Исследуемая группа (гель Na-КМЦ 4%)	10	301,50 $\pm 11,71$	* $p=0,0001$ ** $p=0,001$	62,87 $\pm 3,36$	* $p=0,0001$ ** $p=0,001$

Примечание: расчет достоверности для T2 проводили с использованием апостериорного критерия Тьюке (распределение признака в группах по критерию Колмогорова-Смирнова имеет нормальный характер). Данные для КИ Т2 также имеют нормальное распределение, однако нет равенства дисперсий (коэффициент равенства дисперсий Ливеня равен 0,01), поэтому для

расчета достоверности использован непараметрический критерий Манна-Уитни с поправкой на множественное сравнение Бонферрони при $p=0,01$

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

С целью определения кровоостанавливающей активности геля 4% Na-КМЦ в условиях *in vivo* (реального кровотечения) выполнены серии экспериментов в сравнительном аспекте на 120 крысах — самцах линии Вистар. 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» оказались наиболее 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 (таблица 4).

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. Но сорбционная способность

Таблица 4 — Время остановки кровотечения при резекции печени и селезенки у крыс первой серии ($M \pm m$)

Исследуемые группы	Количество исследований (n)	Время остановки кровотечения (с)			
		Резекция печени		Резекция селезенки	
		$M \pm m$	p* p**	$M \pm m$	p* p**
Контроль	20	302,06 ±2,24	-	323,67 ±1,27	-
Марлевая салфетка	20	235,23 ±2,59	*p=0,0001 **p=0,0001	245,20 ±1,30	*p=0,0001 **p=0,0001
Гель Na-КМЦ 4% («Мезогель»)	20	192,12 ±1,52	*p=0,0001 **p=0,0001	233,00 ±1,52	*p=0,0001 **p=0,0001
«Белкозин»	20	137,06 ±1,62	*p=0,0001 **p=0,0001	154,52 ±1,34	*p=0,0001 **p=0,0001
«Тахокомб»	20	90,02 ±1,43	*p=0,0001 p**=0,121 ¹	101,61 ±1,09	*p=0,0001 p**=0,137 ²
«Na-КМЦ»	20	93,14 ±1,38	*p=0,0001 p=0,121 ¹	104,70 ±1,20	*p=0,0001 p**=0,137 ²

Примечание: * — достоверность рассчитана относительно контрольной группы; ** — достоверность рассчитана при попарном сравнение исследуемых групп. Достоверность различий во всех группах рассчитана по критерию Манна-Уитни с поправкой Бонферрони на множественное сравнение, при $p \leq 0,003$, так как коэффициент равенства дисперсий Ливеня равен 0,02. Характер распределения признака по критерию Колмогорова — Смирнова нормальный

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 «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 ($p=0,0001$). Не выявлено достоверно значимых различий между марлевой салфеткой и гелем Na-КМЦ 4% при травме селезенки $p=0,175$ (таблица 5).

Таблица 5 — Величина кровопотери при резекции печени и селезенки у крыс первой серии ($M\pm m$)

Исследуемые группы	Количество исследований (n)	Величина кровотоечения (мг)			
		Резекция печени		Резекция селезенки	
		$M\pm m$	p^* p^{**}	$M\pm m$	p^* p^{**}
Контроль	20	474,90 $\pm 0,80$	-	411,60 $\pm 2,15$	-
Марлевая салфетка	20	371,60 $\pm 1,70$	* $p=0,0001$ ** $p=0,0001$	342,60 $\pm 1,40$	* $p=0,0001$ ** $P=0,175^1$
гель Na-КМЦ 4% («Мезогель»)	20	407,95 $\pm 2,42$	* $p=0,0001$ ** $p=0,0001$	345,80 $\pm 2,13$	* $p=0,0001$ ** $p=0,175^1$
«Белкозин»	20	232,70 $\pm 1,40$	* $p=0,0001$ ** $p=0,0001$	201,00 $\pm 0,59$	* $p=0,0001$ ** $p=0,0001$
«Тахокомб»	20	106,90 $\pm 1,54$	* $p=0,0001$ $P^{**}=0,0001$	94,40 $\pm 1,29$	* $p=0,0001$ ** $p=0,0001$
«Na-КМЦ»	20	156,70 $\pm 1,48$	* $p=0,0001$	135,80 $\pm 1,96$	* $p=0,0001$ ** $p=0,0001$

Примечание: * — достоверность рассчитана относительно контрольной группы; ** — достоверность рассчитана при попарном сравнении исследуемых групп. Достоверность различий во всех группах рассчитана по критерию Манна-Уитни с поправкой Бонферрони на множественное сравнение, при $p\leq 0,003$, так как коэффициент равенства дисперсий Ливня при травме печени равен 0,01. Характер распределения признака по критерию Колмогорова — Смирнова нормальный

Таким образом, исследования *in vitro* и *in vivo* доказывают, что 4% гель натрия — карбоксиметилцеллюлозы достоверно обладает кровоостанавливающей активностью относительно контрольной группы, однако параметры снижения времени остановки кровотечения и величины

кровопотери значительно ниже таковых у современных местных гемостатических средств (губки гемостатические «Белкозин», «Тахокомб», «Na-КМЦ»).

3.2 Изучение характера изменений геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы при взаимодействии с желчью и кровью в эксперименте *in vitro*

В литературе мы не нашли данных о влиянии биологически активных сред организма человека, в частности крови и желчи на гель Na-КМЦ, который используется при операциях на органах брюшной полости. Их взаимодействие происходит во время операций на печени и селезенке.

В процессе решения данной задачи, нами в эксперименте по изучению влияния различных видов желчи (нативной и медицинской в объеме 0,2, 0,5 и 1 мл) и геля Na-КМЦ концентрацией от 0,5% до 9% установлено отсутствие объективных признаков образования нового вещества (наличие химического взаимодействия): изменение окраски, выпадение осадка, появление запаха (рисунок 5). Мы отмечали только наличие белого налета на поверхности геля, за счет его коагуляции желчными электролитами, вследствие чего может происходить – смещение равновесия и растворителя в сторону карбоксиметилцеллюлозы, нерастворимой в воде. Однако это равновесие все время смещается в ту или другую сторону и не ведет к образованию новых постоянных соединений (выпадение осадка).



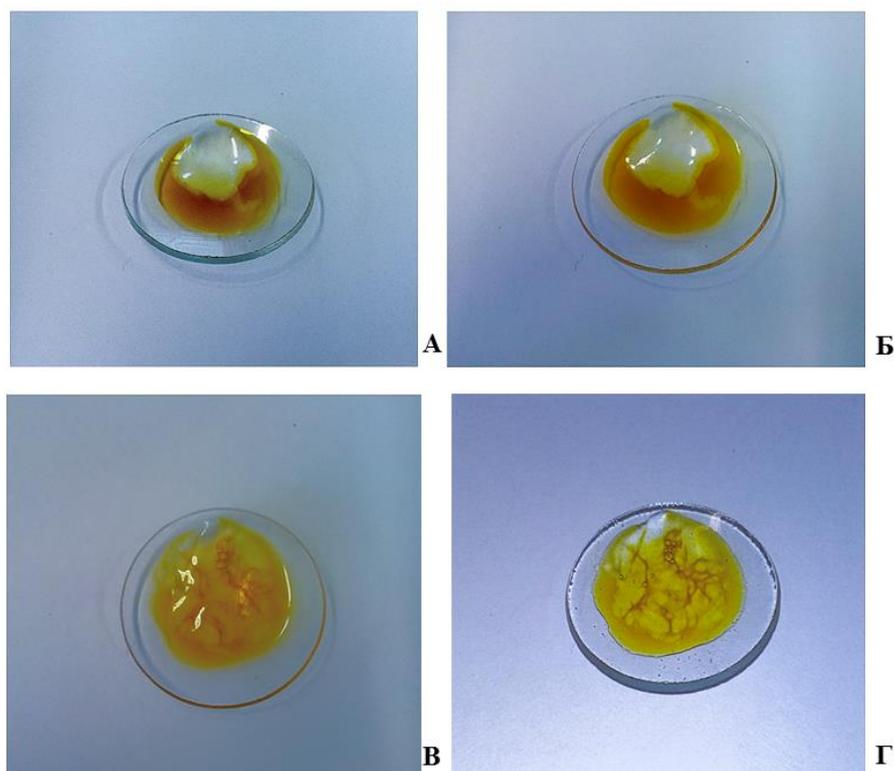


Рисунок 5 — Взаимодействие нативной желчи и 4% геля Na-КМЦ. А — добавление стандартизированной аптечной желчи к Na-КМЦ 4%; Б — экспозиция 30 минут стандартизированной аптечной желчи и Na-КМЦ 4%; В — добавление нативной желчи к Na-КМЦ 4%; Г — экспозиция 30 минут нативной желчи и Na-КМЦ 4%

Что касается оценки уровня pH геля после взаимодействия с желчью, оно сместилось в сторону кислой среды. Причем более сильно данный показатель меняла нативная желчь, однако достоверных различий по сравнению с группой применения консервированной желчи не было выявлено ($p > 0,05$) (таблица 6).

Таблица 6 — Показатели pH 4% геля Na-КМЦ до и после взаимодействия с различными видами желчи Me [25-75]

Образцы	pH до исследования Me ИКР [25-75]	pH после экспозиции с нативной желчью Me ИКР [25-75]	p	pH после экспозиции с аптечной желчью Me ИКР [25-75]	p

Продолжение

4% гель Na-КМЦ	7,2 [7,2- 7,2]	6,912 [6,818- 6,975]	0,0001	6,975 [6,975- 6,975]	0,0001
Количество исследова- ний (n)	10	10		10	

Примечание: p — достоверность рассчитана относительно 4% геля Na-КМЦ, по критерию Манна-Уитни с поправкой на множественное сравнение Бонферрони при $p \leq 0,017$, так как распределение признака в группах носит ненормальный характер

При добавлении к Na-КМЦ в концентрациях от 0,5-9% 0,5 мл крови 10 доноров — добровольцев (с кровью каждого донора проведено 10 опытов согласно количеству концентраций геля) наблюдали образование сгустка, что свидетельствовало о коагуляции крови. Однако при дальнейшем добавлении к гелю NaCl 9% в объеме, достаточном для превращения геля в раствор (5 мл) происходил один из трех вариантов изменения сгустка: он растворялся, его площадь значимо не менялась или увеличивалась (таблица 7). Это свидетельствовало о наличии истинного коагулирующего эффекта у некоторых образцов Na-КМЦ.

Таблица 7 — Средние значения площадей геля Na-КМЦ, окрашенных кровью и кровяного сгустка (см²) в зависимости от его концентрации

Концентрация Na-КМЦ	Количество исследований (n)	Площадь до разбавления NaCl 9% (см ²)	Площадь после разбавления NaCl 9% (см ²)	p	Интерпретация
0,5%	10	3,66±0,17	19,63*	0,0001	Псевдосгусток
1,5%	10	3,38±0,12	19,63*	0,0001	Псевдосгусток
2%	10	2,84±0,10	19,63*	0,0001	Псевдосгусток
3%	10	2,63±0,09	8,72±0,07	0,0001	Сгусток
4%	10	2,35±0,06	4,39±0,06	0,0001	Сгусток
5%	10	1,94±0,07	2,03±0,02	0,174	Сгусток
6%	10	1,44±0,06	1,52±0,03	0,273	Сгусток
7%	10	2,37±0,07	6,48±0,05	0,0001	Псевдосгусток
8%	10	2,83±0,10	14,57±0,05	0,0001	Псевдосгусток
9%	10	3,32±0,07	19,63*	0,0001	Псевдосгусток

Примечание: площадь геля равна площади дна градуированного стакана диаметром 5 см (19,634 см²). При разбавлении псевдосгустка NaCl 9% он растекается и его площадь становится равной площади дна стакана. Достоверность рассчитана в пределах каждой группы до и после разбавления NaCl 9%. Данные с нормальным распределением признака по критерию Колмогорова-Смирнова, однако коэффициент равенства дисперсий Ливеня между группами меньше 0,05 (0,04). Расчет достоверности проведен с использованием критерия Манна-Уитни

Для 0,5%, 1,5% и 2% растворов Na-КМЦ площадь, окрашенная кровью, значительно увеличивалась после добавления NaCl 9% и занимала всю площадь дна стакана ($p=0,0001$). Это свидетельствовало об образовании псевдосгустка (рисунок 6 А, Б).

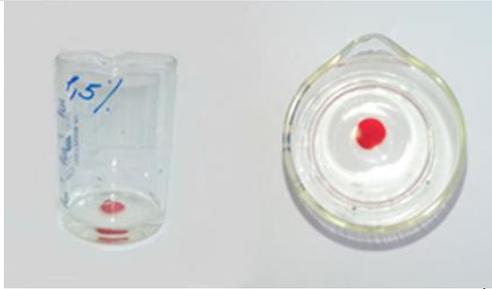
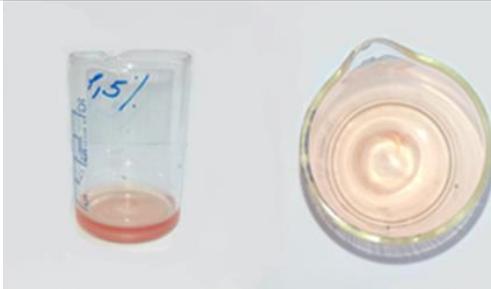
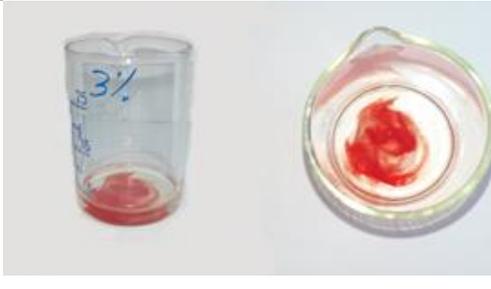
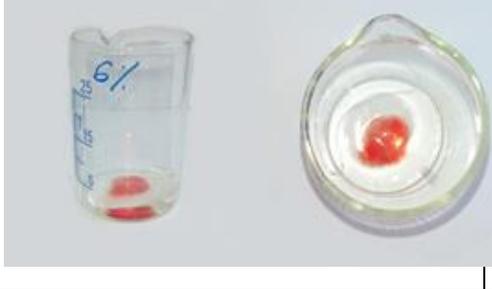
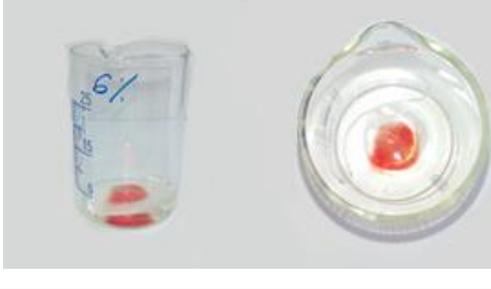
	Первый этап Добавление нативной крови (0,5 мл) к Na-КМЦ (3 мл)		Второй этап Добавление NaCl 9% (5 мл)
А Опыт № 10		Б Опыт № 11	
В Опыт № 23		Г Опыт № 24	
Д Опыт № 52		Е Опыт № 53	

Рисунок 6 — Результаты добавления нативной крови к Na-КМЦ различной концентрации и последующего добавления NaCl 9%. Первый этап: результат добавления нативной крови к Na-КМЦ в концентрации 1,5% (А), 3% (В) и 6% (Д). Второй этап: добавление NaCl 9% к комплексу гель – нативная кровь: Б – псевдосгусток (кровь растворилась), Г и Е – истинный сгусток (нерастворимый)

При добавлении NaCl 9% к 3% и 4% гелю Na-КМЦ площадь сгустка статистически значимо увеличилась, при этом полного растворения не наступало ($p=0,0001$) (рисунок 6 В, Г). Добавление физиологического раствора к 5% и 6% гелю Na-КМЦ практически не изменяло площадь сгустка, достоверных различий между площадями до и после разбавления не выявлено ($p=0,174$ и $p=0,273$ соответственно) (рисунок 6 Д, Е).

После добавления физиологического раствора к 7% гелю Na-КМЦ площадь сгустка увеличилась в 2,7 раза ($p=0,0001$). При добавлении крови к 8% и 9% образцам, представляющим собой густой желеобразный концентрат, не имеющий желеобразной формы, который с трудом распределялся по дну градуированного стакана, кровь растекалась на его поверхности. После добавления NaCl 9% происходило то же самое. Различия площади сгустка были значимыми ($p=0,0001$), что свидетельствовало об отсутствии кровоостанавливающего эффекта.

Оценивая вероятность возникновения тромбоцитарного сгустка при взаимодействии нативной крови с Na-КМЦ в концентрационном диапазоне 3 - 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.

Для определения воздействия крови и желчи на гель Na-КМЦ нами изучены инфракрасные спектры поглощения данных веществ, которые получены путем высушивания проб геля 4% Na-КМЦ, крови, желчи и смесей Na-КМЦ с кровью и желчью с KBr (таблица 8).

Таблица 8 — Средние значения волновых чисел, соответствующих основным функциональным группам, исследуемых веществ ($\nu \pm \Delta \nu$)

Функциональные группы	Положения полос, занимаемые функциональными группами, см^{-1} (Преч Э., 2006)	Опыт (n)	Волновое число, см^{-1}				
			Гель Na-КМЦ *	Желчь **	Кровь ***	Na-КМЦ + желчь	Na-КМЦ + кровь
ОН	3600-2700	10	3400±2	3400±2	3400±2	3400±2 1,2 $p \geq 0,05$	3400±2 1,3 $p \geq 0,05$
СН	3000-2840	10	2926±2	2926±2, 2924±2	2926±2	2924±2, 2926±2 * $p \geq 0,05$; ** $p \geq 0,05$	2924±2 2926±2 2958±2 * $p \geq 0,05$; *** $p \geq 0,05$
амид I	1740-1630	10	-	-	1651±2	-	1654±2
амид II	1610-1530	10	-	-	1542±2	-	1539±2
СОО	1610-1550	10	1633±2	1664±2, 1626±2	-	1626±2 1633±2 1664±2 * $p \geq 0,05$; ** $p \geq 0,05$	1633±2 * $p \geq 0,05$; *** $p \geq 0,05$

Примечание: $\Delta \nu$ это предел допустимой абсолютной погрешности шкалы волновых чисел для использованной модели спектрометра и выбранных условий регистрации спектра и равно 2. Достоверность расчета относительно групп * $p \geq 0,05$ * — гель Na-КМЦ, ** — желчь, *** — кровь. Достоверность рассчитана по критерию Тьюке, уровень значимости 0,017 скорректированный согласно методу Бонферрони при сравнении трех групп.

Проанализированы 10 спектрограмм. Мы сравнивали значения волновых чисел, соответствующих основным функциональным группам, изучаемых веществ для оценки появления новых связей, а следовательно, нового химического вещества.

Исследованные нами биологические объекты являются многокомпонентными, в них присутствуют разные С-Н связи и карбонильные группы, входящие в состав различных по структуре соединений. Поэтому в ИК-спектре фиксировали несколько полос поглощения для данных групп (таблица 8). Однако мы регистрировали одни и те же полосы поглощения, причем они не претерпевали значительного смещения (достоверных различий, $p \geq 0,05$), что говорит об отсутствии новых функциональных группировок и химического взаимодействия между образцами.

Таким образом, можно исключить химическое взаимодействие между компонентами биологических жидкостей и полимерной основой геля (Na-КМЦ).

3.3 Изучение *in vivo* корреляционной зависимости кровоостанавливающего эффекта геля от его концентрации

Для подтверждения данной информации эксперименты выполнены в условиях реального кровотока при резекции печени и селезенки. Во время острого опыта оценивали время остановки кровотечения и величину кровопотери на 140 крысах — самцах линии Вистар.

Анализ времени остановки кровотечения при травме печени показал, что все изучаемые образцы статистически значимо снижали данную величину относительно контрольной группы ($p=0,0001$).

Наиболее выраженный эффект отмечен у Na-КМЦ 6%, который уменьшал время кровотечения на 46% (138,94 с); далее по степени убывания эффекта следовали: Na-КМЦ 5% — уменьшал время кровотечения на 40% (120,83 с), Na-КМЦ 4% — на 37% (109,94 с), Na-КМЦ 3% на 29% (87,6 с), Na-КМЦ 7% — на 27% (81,55с) и Na-КМЦ 8% — на 11% (33,22 с). Также необходимо отметить, что

достоверно значимые различия наблюдали и между самими образцами, за исключением концентраций геля Na-КМЦ 3% и 7% ($p=0,011$) (таблица 9).

Таблица 9 — Средние значения времени остановки кровотечения при резекции печени и селезенки в зависимости от концентрации геля у крыс второй серии

Группы исследования	Количество исследований (n)	Резекция печени		Резекция селезенки	
		M±m (с)	p* p**	M±m (с)	p* p**
Контроль	20	302,06 ±2,24	-	323,67 ±1,27	-
3% гель Na-КМЦ	20	214,46 ±0,95	*p<0,0001 **p=0,011 ¹	255,69 ±1,22	*p<0,0001 **p<0,0001
4% гель Na-КМЦ	20	192,12 ±,52	*p<0,0001 **p<0,0001	233,00 ±1,52	*p<0,0001 **p<0,0001
5% гель Na-КМЦ	20	181,23 ±1,25	*p<0,0001 **p<0,0001	213,36 ±0,99	*p<0,0001 **p<0,0001
6% гель Na-КМЦ	20	163,12 ±1,22	*p<0,0001 **p<0,0001	193,96 ±1,03	*p<0,0001 **p<0,0001
7% гель Na-КМЦ	20	220,50 ±1,68	*p<0,0001 **p=0,011 ¹	265,40 ±1,416	*p<0,0001 **p<0,0001
8% гель Na-КМЦ	20	268,83 ±1,90	*p<0,0001 **p<0,0001	301,01 ±2,43	*p<0,0001 **p<0,0001

Примечание: * — достоверность относительно контрольной группы рассчитана с использованием критерия Манна-Уитни. ** — сравнение исследуемых групп между собой, достоверность различий рассчитана с использованием критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони на множественное сравнение, при $p \leq 0,002$. Отмечали нормальный характер распределение признака по критерию Колмогорова — Смирнова, критерий равенства дисперсий Ливеня 0,3

При травме селезенки мы наблюдали идентичную закономерность. Максимальная активность выявлена у Na-КМЦ 6%, который уменьшал время кровотечения на 40% (129,7 с); далее по степени убывания эффекта следовали: Na-КМЦ 5% — уменьшал время кровотечения на 34% (110,3 с), Na-КМЦ 4% — на 28% (90,67 с), Na-КМЦ 3% - на 21% (67,97 с), Na-КМЦ 7% — на 18% (58,26 с) и Na-КМЦ 8% — на 7% (22,65 с). В данном случае были выявлены достоверно значимые различия между всеми группами ($p=0,0001$).

Величина кровопотери при травме печени снижалась аналогично: наибольший эффект отмечен у Na-КМЦ 6%, для которого уменьшение показателя относительно группы контроля составило 27% (128,3 мг); далее по степени убывания эффекта: Na-КМЦ 5% - уменьшение кровопотери произошло на 21% (99,73 мг), Na-КМЦ 4% — на 14% (66,9 мг), Na-КМЦ 7% на 12% (56,98 с), Na-КМЦ 3% — на 11% (52,9 мг) и Na-КМЦ 8% — на 5% (23,74 с). При сравнении всех исследованных концентраций геля Na-КМЦ с группой контроля различия статистически значимы: $p=0,0001$; как и между самими группами исследования, за исключением концентраций 3% и 7% ($p=0,077$) и 4 и 7% ($p=0,007$).

При травме селезенки также максимальный эффект отмечен при использовании Na-КМЦ 6%, который уменьшал показатель на 30% (123,5 мг); далее по степени убывания эффекта следовали: Na-КМЦ 5%, уменьшал величину кровотечения на 24% (98,8 мг), Na-КМЦ 4% — на 16% (65,8 мг), Na-КМЦ 3%, на 12% (49,4 мг), Na-КМЦ 7%, на 10% (41,16 мг) и Na-КМЦ 8% — на 4% (16,46 мг) ($p \leq 0,0001$ относительно контроля). Между группами не найдено отличий для концентраций Na-КМЦ 3% и 7% ($p=0,04$) (таблица 10).

Таким образом, анализ корреляционной зависимости эффекта образования тромба *in vitro* от концентрации геля Na-КМЦ показал, что нет связи между ним и образцами в диапазоне от 0,5% до 2%, так как они не обладают кровоостанавливающим эффектом. Тогда как между концентрациями геля от 3% до 6% имеет место сильная прямая связь с повышением

Таблица 10 — Средние значения величины кровотока при резекции печени и селезенки в зависимости от концентрации геля у крыс второй серии

Группы исследования	Количество исследований (n)	Резекция печени		Резекция селезенки	
		M±m (мг)	p* p**	M±m (мг)	p* p**
Контроль	20	474,90 ±3,82 ²	*p<0,0001 **p<0,0001	411,60 ±2,15	*p<0,0001 **p<0,0001
3% гель Na-КМЦ	20	422,00 ±1,42	*p<0,0001 ** p=0,077 ¹	362,20 ±1,31	*p<0,0001 **p=0,041 ³
4% гель Na-КМЦ	20	407,90 ±2,43	*p<0,0001 **p=0,007 ²	345,80 ±2,13	*p<0,0001 **p<0,0001
5% гель Na-КМЦ	20	375,17± 1,66	*p<0,0001 **p<0,0001	312,80 ±4,59	*p<0,0001 **p<0,0001
6% гель Na-КМЦ	20	346,60 ±1,37	*p<0,0001 **p<0,0001	288,10 ±1,50	*p<0,0001 **p<0,0001
7% гель Na-КМЦ	20	417,913 ± 1,54	*p<0,0001 *p=0,077 ¹ **p=0,007 ²	370,44 ±1,77	*p<0,0001 **p=0,041 ³
8% гель Na-КМЦ	20	451,15 ±1,64	*p<0,0001 **p<0,0001	395,13 ±1,60	*p<0,0001 **p<0,0001

Примечание: * — достоверность относительно контрольной группы рассчитана с использованием критерия Манна-Уитни. ** — сравнение исследуемых групп между собой, достоверность рассчитана с использованием критерия Манна-Уитни с поправкой Бонферрони на множественное сравнение, при $p \leq 0,002$. Отмечали нормальный характер распределения признака по критерию Колмогорова-Смирнова, критерий равенства дисперсий Ливеня 0,3 кровоостанавливающего эффекта.

Концентрационный диапазон от 7-8% имеет очень сильную обратную связь с коагулирующим эффектом (это проявляется достоверно значимым снижением коагулирующего действия у этих образцов), и отсутствие корреляции у 9% геля объясняется тем, что последний не обладает коагулирующим действием (таблица 11).

Таблица 11 — Корреляционная зависимость кровоостанавливающего действия геля Na-КМЦ от его концентрации (0,5-9%)

Эффективность остановки кровотечения в зависимости от концентрации геля Na-КМЦ				
Критерий	Концентрация Na-КМЦ	Величина коэффициента корреляции	p	Теснота связи
Коагуляция	0,5-2%	0	$p \leq 0,0001$	нет связи
	3-6%	0,940	$p \leq 0,0001$	очень сильная
	7-8%	-0,990	$p \leq 0,0001$	очень сильная
	9%	0	$p \leq 0,0001$	нет связи
Время остановки кровотечения печень	3-6%	-0,952	$p \leq 0,0001$	очень сильная
	7-8%	0,951	$p \leq 0,0001$	очень сильная
Величина кровопотери печень	3-6%	-0,956	$p \leq 0,0001$	очень сильная
	7-8%	0,922	$p \leq 0,0001$	очень сильная
Время остановки кровотечения селезенка	3-6%	-0,957	$p \leq 0,0001$	очень сильная
	7-8%	0,899	$p \leq 0,0001$	сильная
Величина кровопотери селезенка	3-6%	-0,918	$p \leq 0,0001$	очень сильная
	7-8%	0,895	$p \leq 0,0001$	сильная

Примечание: корреляционную зависимость между величинами оценивали по коэффициенту Пирсона, при $p \leq 0,05$

Мы также получили достоверное подтверждение экспериментам *in vitro* (при оценке корреляционной зависимости времени остановки кровотечения и величины кровопотери от концентрации) в опытах на животных при резекции печени и селезенки. Так, в диапазоне геля от 3-6% имеет место очень сильная обратная связь с параметрами кровотечения при резекции как печени, так и селезенки. 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.

Отмечали сильную обратную линейную связь между концентрациями геля от 3% до 6% Na-КМЦ и исследуемыми величинами: коэффициент корреляции Пирсона для времени кровотечения составил — 0,952 ($p \leq 0,01$), для объема кровопотери — 0,956 ($p < 0,01$).

Таким образом, исследование показало, увеличение кровоостанавливающей активности геля Na-КМЦ отмечается в диапазоне концентраций от 3% до 6%, дальнейший рост концентрации от 7% до 9% приводит к снижению показателя. Максимальным эффектом обладает 6% гель, при котором время остановки кровотечения при резекции печени и селезенки уменьшалось на 46% (138,94 с) и 40% (129,7 с) соответственно; величина кровопотери при резекции печени и селезенки уменьшалась на 27% (128,3 мг) и 30% (123,5 мг).

Это позволяет сделать вывод о том, что 6% гель Na-КМЦ целесообразно использовать для остановки кровотечения при операциях на печени и селезенке.

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩЕЙ И ПРОТИВОСПАЕЧНОЙ АКТИВНОСТИ 6% ГЕЛЯ НАТРИЙ – КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ С 5% АМИНОКАПРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ ПРИ РЕЗЕКЦИИ ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ ПРИ МЕСТНОМ ПРИМЕНЕНИИ

4.1 Изучение кровоостанавливающей активности 6% геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой при резекции печени и селезенки.

С целью повышения кровоостанавливающей активности 6% геля Na-КМЦ в его состав нами была введена усиливающая и применяемая в практике гемостатическая компонента — аминокaproновая кислота 5%. Массовая доля веществ составляла 5% раствора АКК – 94% и сухое вещество Na-КМЦ – 6%.

Результаты оценки времени остановки кровотечения нового средства в сравнительном аспекте представлены в таблице 12.

Как видно из таблицы 12 6% гель Na-КМЦ + 5% АКК достоверно и статистически значимо уменьшал время кровотечения относительно контроля на 72% (217,91 с). Сокращение времени остановки кровотечения относительно своего прототипа Na-КМЦ 4% («Мезогеля») произошло на 56% (107,97 с); усиленной 6% концентрацией геля Na-КМЦ — на 48% (78,97 с) ($p=0,0001$). Важным моментом стал тот факт, что 6% Na-КМЦ + 5% АКК не только не уступает своему твердому аналогу – губке гемостатической «Na-КМЦ», но и эффективнее сократил показатель на 10% (10 с) ($p=0,0001$). Что касается самого эффективного образца по результату сравнительного анализа – гемостатической пластины «Тахокомб», и здесь 6% Na-КМЦ+5% АКК превзошел его на 7% (6 с), однако в данном случае статистической значимости не было выявлено $p=0,012$.

Определение величины кровопотери показало, что разработанное нами средство 6% Na-КМЦ + 5% АКК также способствует ее снижению, это связано как с увеличением вязкости при повышении концентрации до 6%, так и с вазоконстрикторным действием 5% аминокaproновой кислоты.

Таблица 12 — 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 ¹	106,90 ±1,54	p=0,344 ³
«Na-КМЦ»	20	93,14 ±1,38	p=0,001 ²	156,70 ±1,48	p=0,0001
Гель Na-КМЦ 6%	20	163,12 ±1,22	p=0,0001	346,6 ±1,37	p=p0,0001
*Гель 6% Na-КМЦ + АКК 5 %	20	84,15 ± 1,65	p=0,012 ¹ p=0,001 ²	102,05 ±1,74	p=0,344 ³

Примечание: * — достоверность рассчитана относительно геля Na-КМЦ 6% + 5% АКК. Достоверность различий во всех группах рассчитана по критерию Манна-Уитни с поправкой Бонферрони на множественное сравнение, $p \leq 0,005$. Так, коэффициент равенства дисперсий Ливеня при травме печени 0,01

Снижение показателя относительно контрольной группы составило 78% (372,850 мг); относительно Na-КМЦ 4% («Мезогеля») — 74% (305,900 с); Na-КМЦ 6% — 70% (244,550 с) ($p=0,0001$). Также средство превзошло абсорбционную способность губки гемостатической «Na-КМЦ» на 34% (54,65 с $p=0,0001$) и даже зарубежный препарат «Тахокомб», уступил в сокращении величины кровопотери на 5% (4,85 с), однако статистически значимых различий в данном случае не выявлено ($p=0,344$) (таблица 12).

Что касается исследования, проведенного при моделировании резекции селезенки, и здесь 6% Na-КМЦ + 5% АКК являлся самым эффективным

образцом, при сокращении как времени, так величины кровопотери. Показатели остановки кровотечения при резекции селезенки представлены в таблице 13.

Таблица 13 — Показатели эффективности остановки кровотечения при резекции селезенки с применением нового средства и групп сравнения у крыс третьей серии ($M \pm m$)

Исследуемые группы	Количество исследований (n)	Резекция селезенки			
		Время остановки кровотечения (с)		Величина кровопотери (мг)	
		$M \pm m$	p^*	$M \pm m$	p^*
Контроль	20	323,67 $\pm 1,27$	$p=0,0001$	411,60 $\pm 2,15$	$p=0,0001$
«Тахокомб»	20	101,61 $\pm 1,09$	$p=0,344^2$	94,40 $\pm 1,29$	$p=0,0001$
«Na-КМЦ»	20	104,70 $\pm 1,20$	$p=0,244^3$	135,80 $\pm 1,96$	$p=0,001^2$
Гель 6% Na-КМЦ	20	193,96 $\pm 1,03$	$p>0,0001$	288,10 $\pm 1,50$	$p>0,0001$
*Гель 6% Na-КМЦ + 5% АКК	20	100,40 $\pm 1,39$	$p=0,344^2$ $p=0,2$	126,00 $\pm 1,74$	$p=0,001^2$

Примечание: * — достоверность рассчитана относительно 6% Na — КМЦ + 5% АКК, по критерию Манна-Уитни с поправкой Бенферрони на множественное сравнение, $p \leq 0,005$. Так, коэффициент равенства дисперсий Ливеня при травме печени 0,025. Характер распределения признака был нормальным

Сокращение времени остановки кровотечения относительно контроля произошло на 69% (223,27 с); геля 4% Na-КМЦ «Мезогеля» — на 57% (132,6 с); геля 6% Na-КМЦ — 48% (93,56 с) (таблица 12). Эффективность относительно «Na-КМЦ» и «Тахокомба» оказалась более низкой, чем при травме печени, и составила 4% (4,4 с, $p=0,244$) и 2% (1,2 с, $p=0,344$), различия не достоверны.

При анализе величины кровотечения было выявлено достоверно значимое снижение этого показателя у 6% геля Na-КМЦ+5% АКК относительно контроля на 69% (285,6 мг); геля 4% Na-КМЦ «Мезогеля» — на 63% (219,8 с); геля 6%

Na-КМЦ – 56% (162,1 с) ($p=0,0001$) и «Na-КМЦ» на 7% (9 с) ($p=0,001$). Однако сорбционные свойства «Тахокомба» превзошли образец на 25% (68,4 с) ($p=0,0001$).

Таким образом, наше исследование показало, что введение в 6% гель Na-КМЦ 5% аминокaproновой кислоты достоверно усиливает кровоостанавливающие свойства последнего, снижая время кровотечения при резекции печени относительно контроля на 72% (217,91 с, $p=0,001$), при резекции селезенки — на 69% (223,27 с, $p=0,001$). Снижение величины кровопотери при резекции печени составило 78% (372,85 мг, $p=0,001$); при резекции селезенки — 69% (285,6 мг, $p=0,001$).

Это свойство нового средства может быть эффективно использовано в практической хирургии при операциях на печени и селезенке.

4.2 Изучение противоспаечной активности 6% геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой в брюшной полости на модели краевой резекции печени и селезенки

Реализуя пятую задачу, нами выполнена четвертая серия хронических экспериментов на 63 крысах. Для изучения в сравнительном аспекте противоспаечной активности нового средства мы проводили анализ спаечного процесса в брюшной полости у животных группы контроля, прототипа «Мезогель» и нового образца, после выполнения резекции печени и селезенки на 3-и, 7-е и 14-е сутки.

Все экспериментальные животные этой серии исследований выжили.

При вскрытии в брюшной полости выявляли и описывали спаечный процесс различной степени выраженности в зависимости от групп исследований, наличие свободной жидкости, деформацию внутренних органов желудка, тонкого и толстого отдела кишечника, поджелудочной железы, инфильтраты. Описывали состояние органов грудной полости, забрюшинного пространства, головного мозга.

На ранних сроках в области оперированных органов отмечали признаки воспаления. Патологических процессов в грудной полости и ее органах, брюшинном пространстве, в полости черепа не обнаружено.

Анализ спаек показал, что коэффициент выраженности СПБП на 3-и сутки в контрольной группе составил 1,898 [1,433-2,237] балла (таблица 14).

Таблица 14 – Коэффициент выраженности спаечного процесса в брюшной полости у животных после резекции печени и селезенки, 4 серии

Группы исследования	Коэффициент выраженности спаечного процесса в брюшной полости на разных сроках исследования					
	3-и сутки		7-е сутки		14-е сутки	
	Me ИКР [25-75]	p* p**	Me ИКР [25-75]	p* p**	Me ИКР [25-75]	p* p**
*Контроль (n 20)	1,898 [1,43-2,23]	*p=0,0001	2,457 [2,11-2,45]	-	4,07 [3,75-4,60]	-
**Гель Na-КМЦ 4% «Мезогель» (n 20)	0 [0-0]		0 [0,00-0,49]	*p=0,0001	0,96 [0,00-0,96]	*p=0,0001 **p=0,001
Гель 6% Na-КМЦ + 5%АКК (n 20)	0 [0-0]	*p=0,0001 **p=0,637	0,48 [0,96-0,00]	*p=0,0001 **p=0,822	0,49 [0,96-0,00]	*p=0,0001 **p=0,637

Примечание: * – достоверность рассчитана относительно контрольной группы; ** – геля Na-КМЦ 4%; по критерию Манна-Уитни с поправкой на множественные сравнения Бонферрони при $p \leq 0,008$, так как равенства дисперсий нет (критерий Ливеня равен 0,015) и характер распределения признака был ненормальным

При вскрытии брюшной полости животных контрольной группы 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 (рисунок 7).

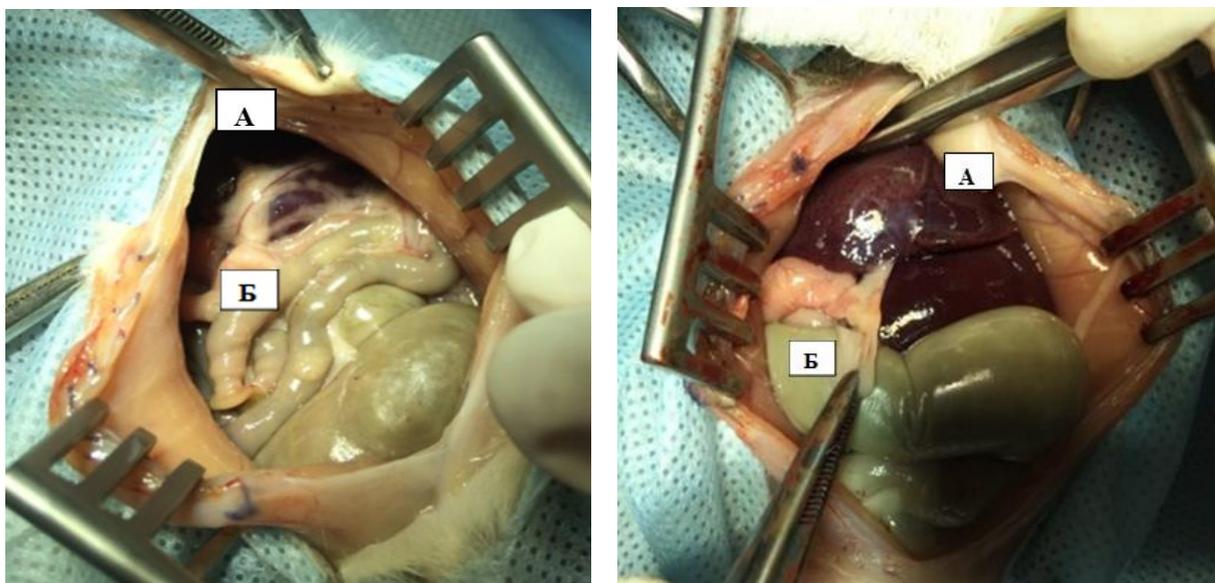


Рисунок 7 — Спаечный процесс в брюшной полости у животного контрольной группы, 3-и сутки. А — послеоперационный край печени. Б — прядь сальника, подходящая к ране

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 (рисунок 8).

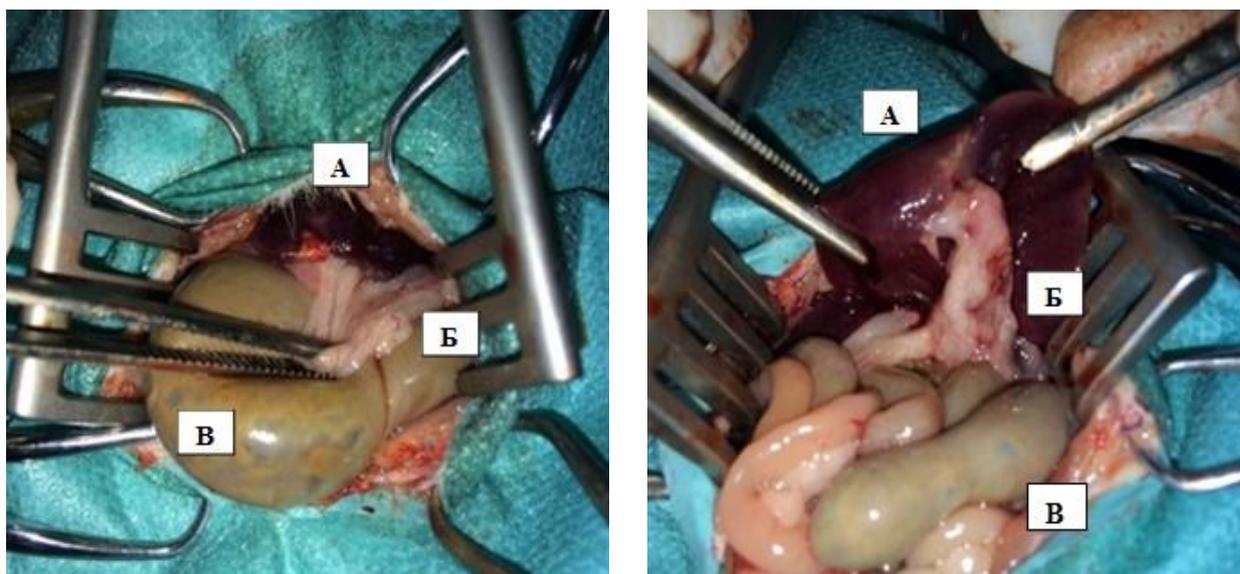


Рисунок 8 – Слева представлен спаечный процесс в брюшной полости у животного контрольной группы, 7-е сутки. А – область резекции печени. Б – сальниковая спайка, подходящая к резецированному краю печени и кишечнику. В – толстый кишечник с сужением дистального отдела. Справа представлен спаечный процесс в брюшной полости у другого животного контрольной группы, 7-е сутки. А – послеоперационный край селезенки. Б – конгломерат спаек, подходящих к ране и кишечнику. В – тонкий кишечник

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 так же множественные участки кровоизлияний, между которыми располагаются лимфоциты, макрофаги и плазматические клетки, коллагеновые волокна не выявлены (рисунок 9).

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,

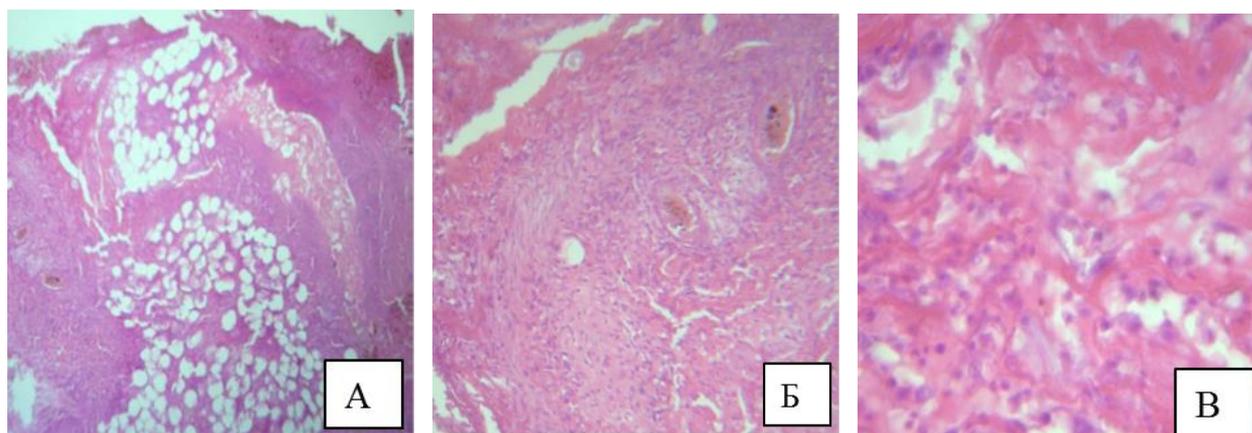


Рисунок 9 — Обширная спайка у животного контрольной группы на 7-е сутки после резекции печени. Окраска Г+Э. Ув. х40 (А), х100 (Б), х400 (В). При морфологическом исследовании спаек на 7-е сутки в области послеоперационной раны печени обнаружены участки кровоизлияний, мелкие очаги некроза и массивные отложения фибрина, между которыми располагаются лимфоциты, макрофаги и плазматические клетки. Коллагеновых волокон в спайке нет

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 (рисунок 10).

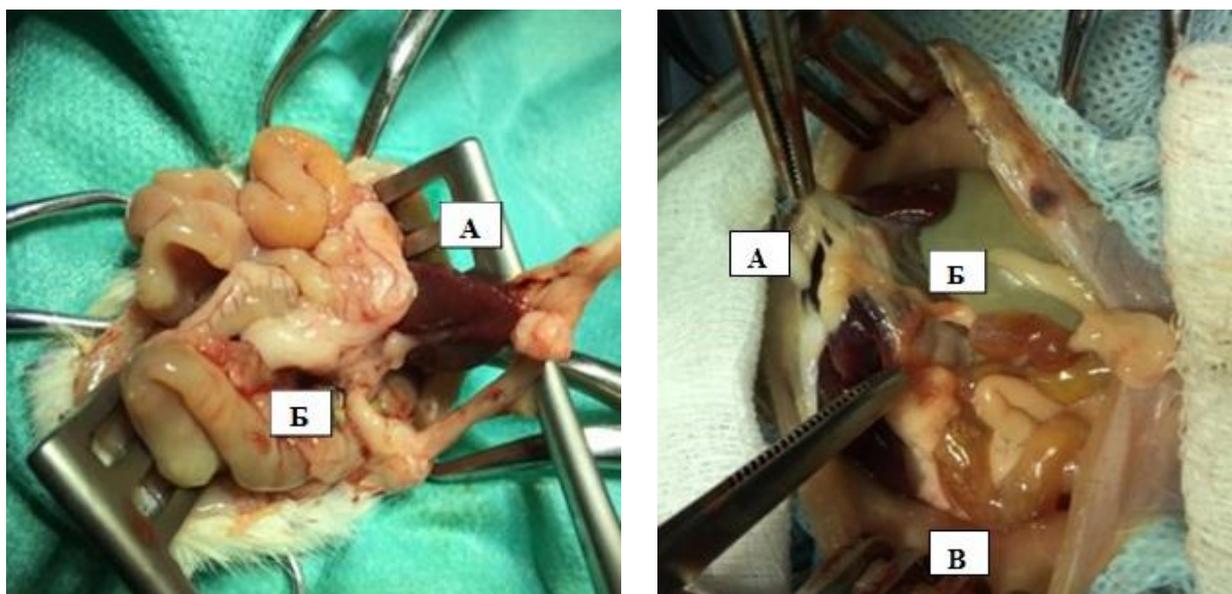


Рисунок 10 — Слева представлен спаечный процесс в брюшной полости у животного контрольной группы 14-е сутки. А — резецированный край селезенки. Б — конгломерат шнуровидных, тракционных спаек между селезенкой и кишечником. Справа представлен спаечный процесс в брюшной полости у другого животного, 14-е сутки контрольная группа. А — резецированный край селезенки. Б — плоскостная спайка между селезенкой и кишечником. В — тонкий кишечник

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 (рисунок 11).

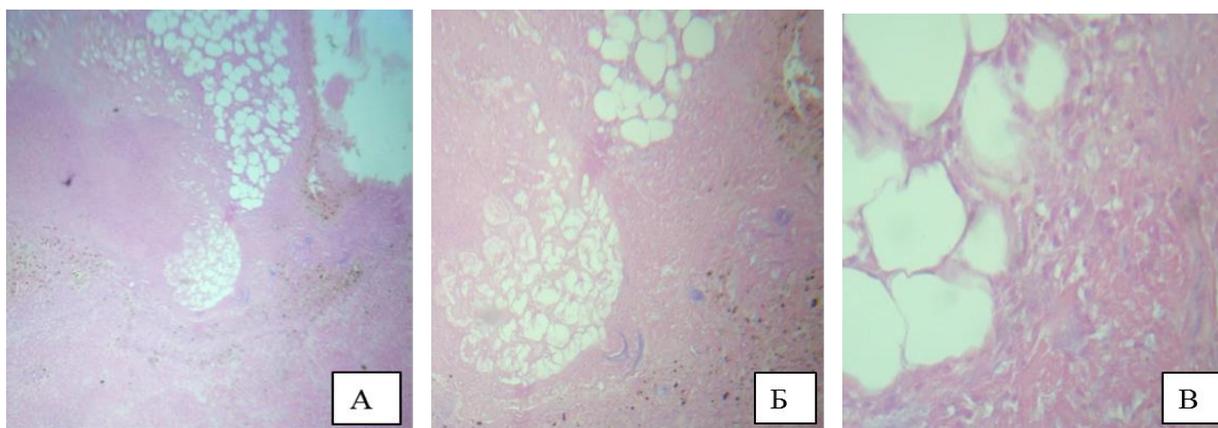


Рисунок 11 — Обширная спайка в области резецированного участка печени у животного контрольной группы, 14-е сутки. Окраска Г+Э. Ув. x40 (А), x200 (Б), x400 (В). При гистологическом исследовании в области резецированного фрагмента печени отмечаются многочисленные некрозы и кровоизлияния. В спайке островки жировой ткани (сальник) и отложения фибрина. Клеточный состав (фибробласты, макрофаги, лимфоциты) довольно скудный и распределен неравномерно. Зрелых коллагеновых волокон практически нет. В ряде случаев спайки прорастали в паренхиму печени, раздвигая гепатоциты и нарушая их балочную организацию.

На рисунке 12 представлен фрагмент спайки в области послеоперационной раны печени другого животного данной группы. Отмечаются внутриклеточные дегенеративные и некробиотические процессы и минимальное количество коллагеновых волокон.

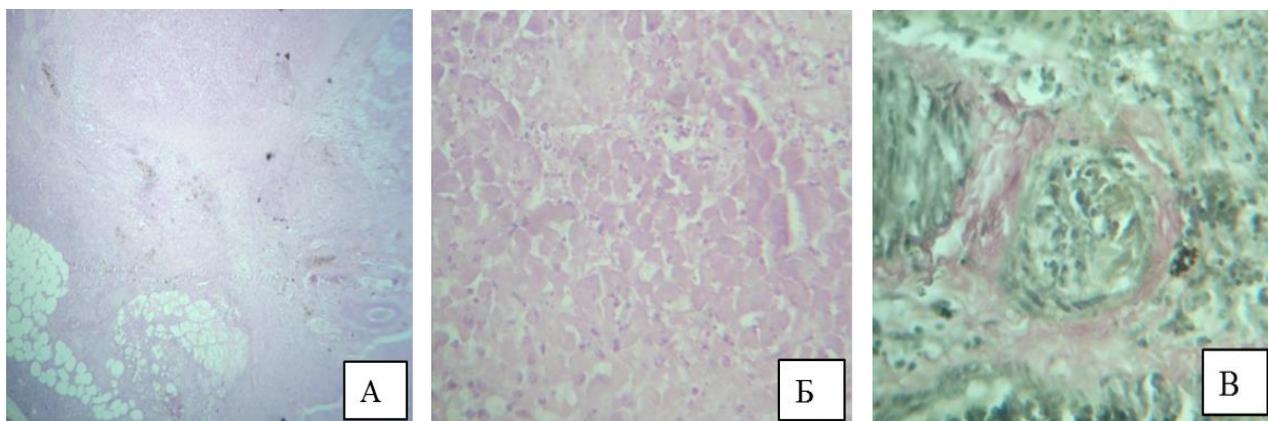


Рисунок 12 — Широкая спайка в области резецированного участка печени другого контрольного животного, 14-е сутки. Окраска Г+Э (А, Б), по

Ван Гизон (В). Ув. х40 (А), х400 (Б, В). Фрагмент спайки в области послеоперационной раны другого животного данной группы. Балочная организация гепатоцитов нарушена (рис. 12 Б). Гепатоциты обособлены. У многих признаки некробиоза и дистрофических изменений (кариорексис, отсутствие базофильной окраски у ядер гепатоцитов) (рис. 12 Б). Коллагеновых волокон немного. Они концентрируются главным образом в адвентициальной оболочке кровеносных сосудов (рис. 12 В)

При изучении спайки в области послеоперационной раны селезенки наблюдаем, что последняя представлена тяжами, островками клеточного инфильтрата и жировой тканью (сальник) (рисунок 13).

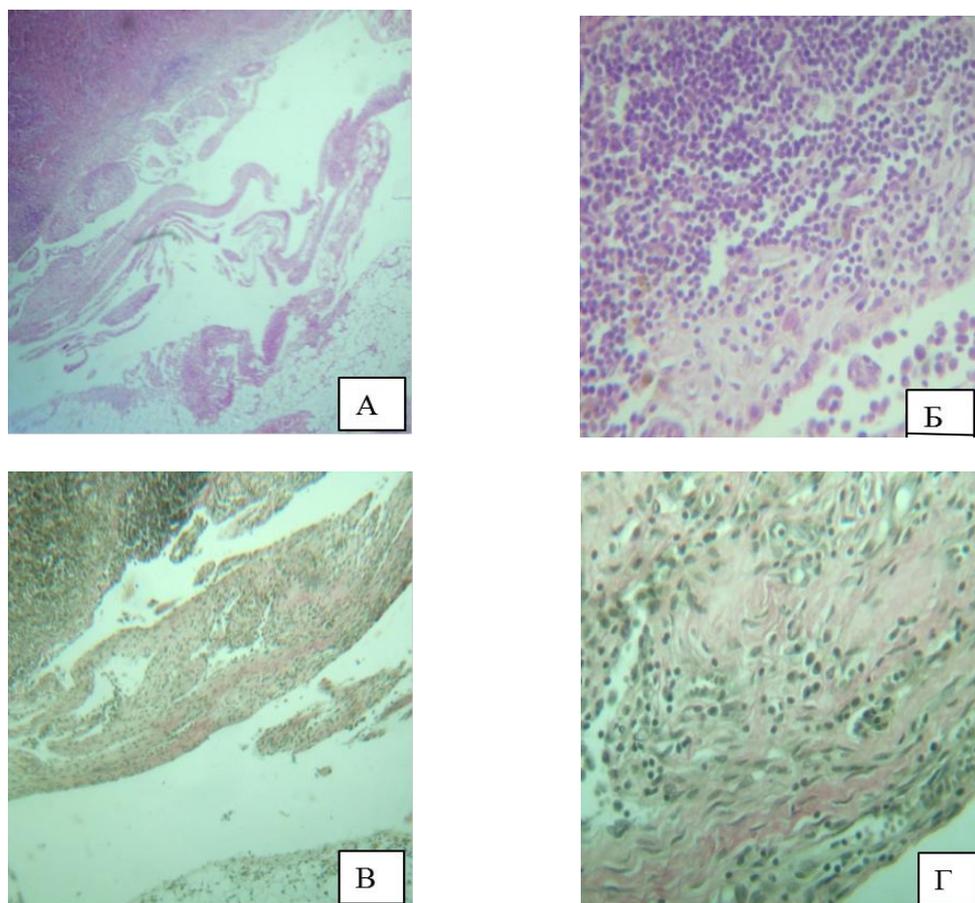


Рисунок 13 — Фрагменты спайки, сформировавшейся к 14-м суткам у животного контрольной группы, в области резецированного участка селезенки. Окраска Г+Э (А, Б), по Ван-Гизон (В, Г). Ув. х40 (А), х100 (В), х400 (Б, Г). Спайки в области послеоперационной раны селезенки, последняя

представлена тяжами, островками клеточного инфильтрата и жировой тканью — сальник. Островки клеточного инфильтрата представлены в основном лимфоцитами, макрофагами, плазматическими клетками и сравнительно небольшим количеством фибробластов (Б). Коллагеновые волокна (окрашены в красный цвет) присутствуют (В, Г). Между ними располагаются новообразованные кровеносные сосуды и небольшие клеточные группы макрофагов, фибробластов, лимфоцитов и плазматических клеток (Г)

Выявлено наличие воспалительного инфильтрата, в составе которого входят лимфоциты, макрофаги, плазматические клетки и фибробласты (Б). 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 (рисунок 14)

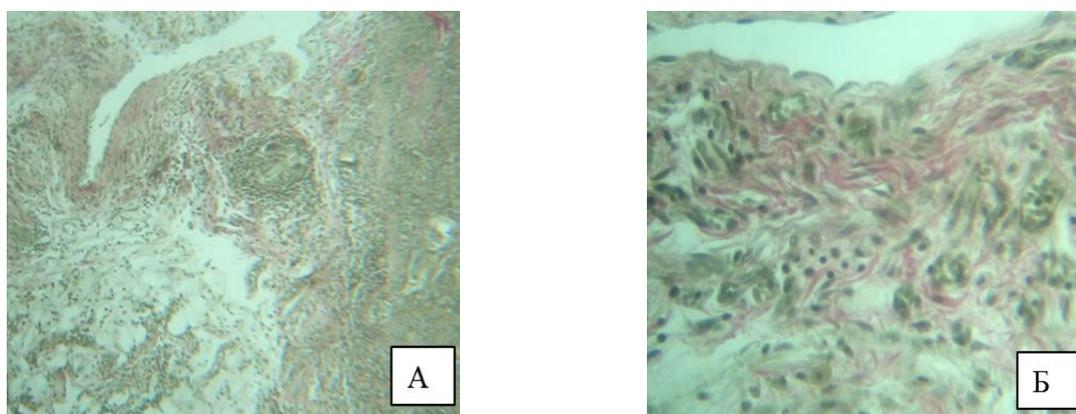


Рисунок 14 — Фрагмент спайки ещё одного животного контрольной группы рядом с участком резекции селезенки на 14-е сутки. Окраска по Ван-Гизон. Ув. x100 (А), x400 (Б)

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.

У животных в группе сравнения Na-КМЦ 4% («Мезогель») и исследуемой с использованием Na-КМЦ 6% + 5% АКК на 3-и сутки спаечный процесс в брюшной полости полностью отсутствовал: край послеоперационной раны был покрыт нежным налетом фибрина, отсутствовали изменения соседних органов, выпота в брюшной полости не зафиксировано (рисунок 15).

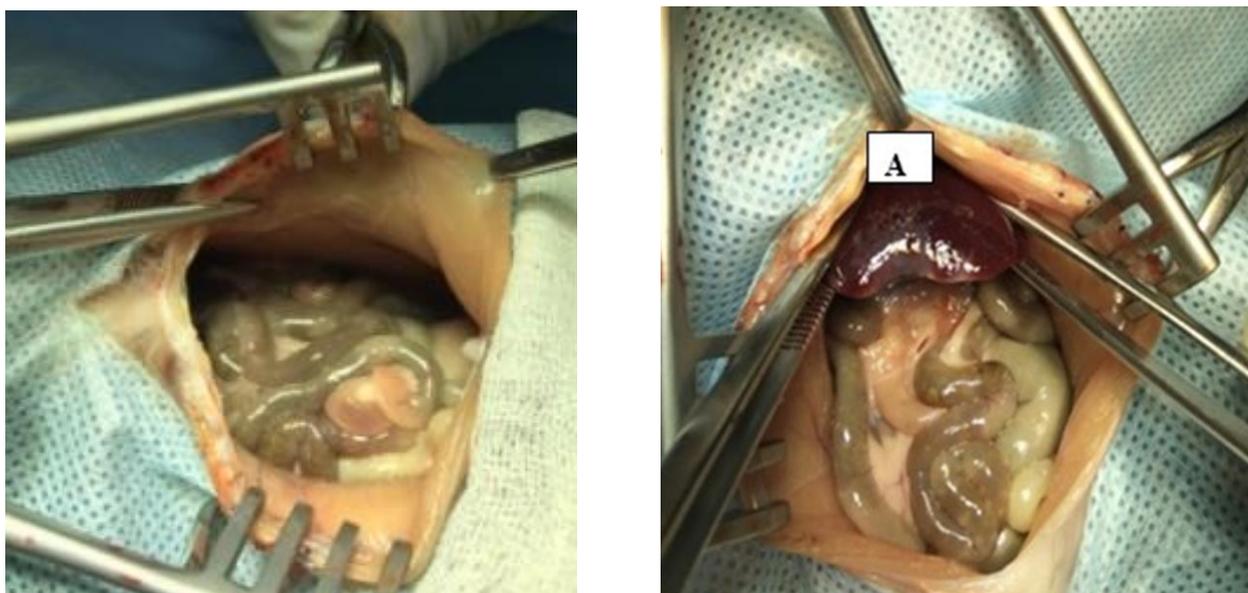


Рисунок 15 – Брюшная полость животного с применением геля Na-КМЦ 6% + 5% АКК на 3-и сутки, осмотр мезогастральной области, левого бокового канала (спаечный процесс отсутствует). А – послеоперационный край печени с налетом фибрина.

При гистологическом исследовании препаратов печени и селезенки с применением геля 4% Na-КМЦ «Мезогель» на 3-и сутки эксперимента также не выявлено морфологических признаков образования спаек на данном сроке (рисунки 16,17).

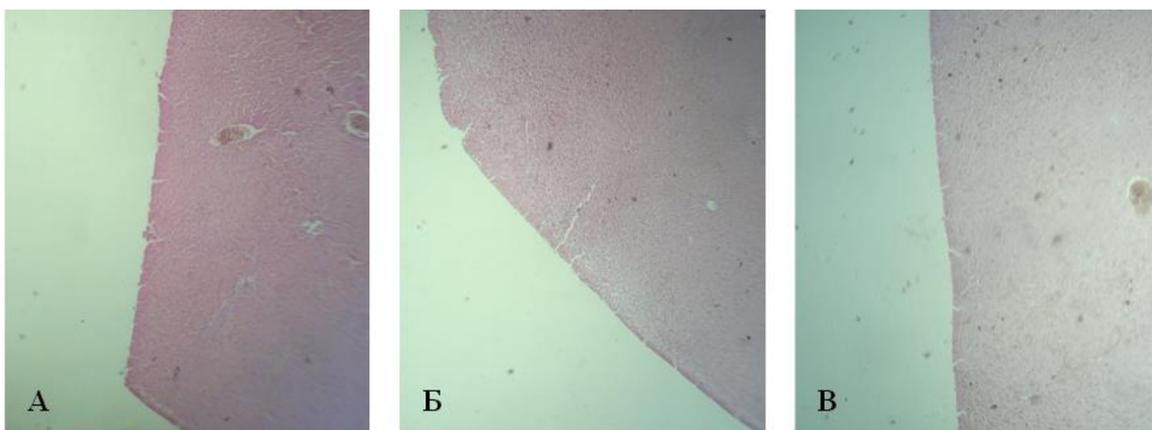


Рисунок 16 – Отсутствие спаек в области резекции печени у животных исследуемой группы с применением геля Na-КМЦ 6% + 5% АКК. Окр. Г+Э. Ув. x40

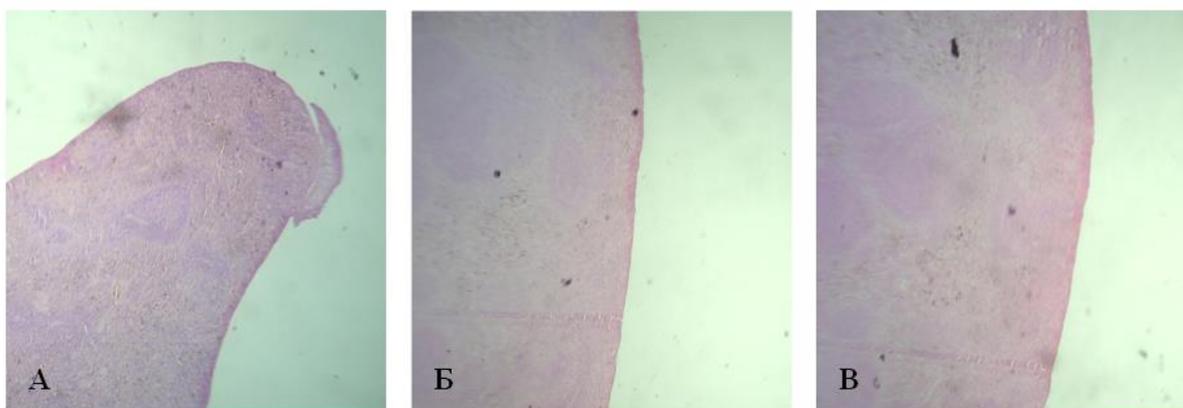


Рисунок 17 – Отсутствие спаек в области резекции селезенки у животных исследуемой группы с применением геля Na-КМЦ 6% + 5% АКК. Окр. Г+Э. Ув. x40

Аутопсия животных на 7-е сутки с применением «Мезогеля» и нового средства показала наличие единичных салниковых спаек, подходящих к краю послеоперационной раны, отсутствовала деформация органов. На 7-е сутки спаечный процесс оценен для Na-КМЦ 4% в 0 [0,000-0,497] балла; для Na-КМЦ 6% + 5% АКК – в 0,481 [0,962- 0] балла. Разница при попарном сравнении с контролем статистически значима $p=0,0001$, однако различий между группами не выявлено – $p=0,637$.

При вскрытии животных, выведенных из эксперимента на 14-е сутки, спаечный процесс в исследуемых группах оценен для Na-КМЦ 4%

(«Мезогель») в 0,960 [0,000-0,962] балла; для Na-КМЦ 6% + 5% АКК в 0,497 [0,962-0] балла (таблица 13).

На 14-е сутки у животных групп сравнения и исследуемой выявляли единичные сальниковые спайки (рисунок 18).

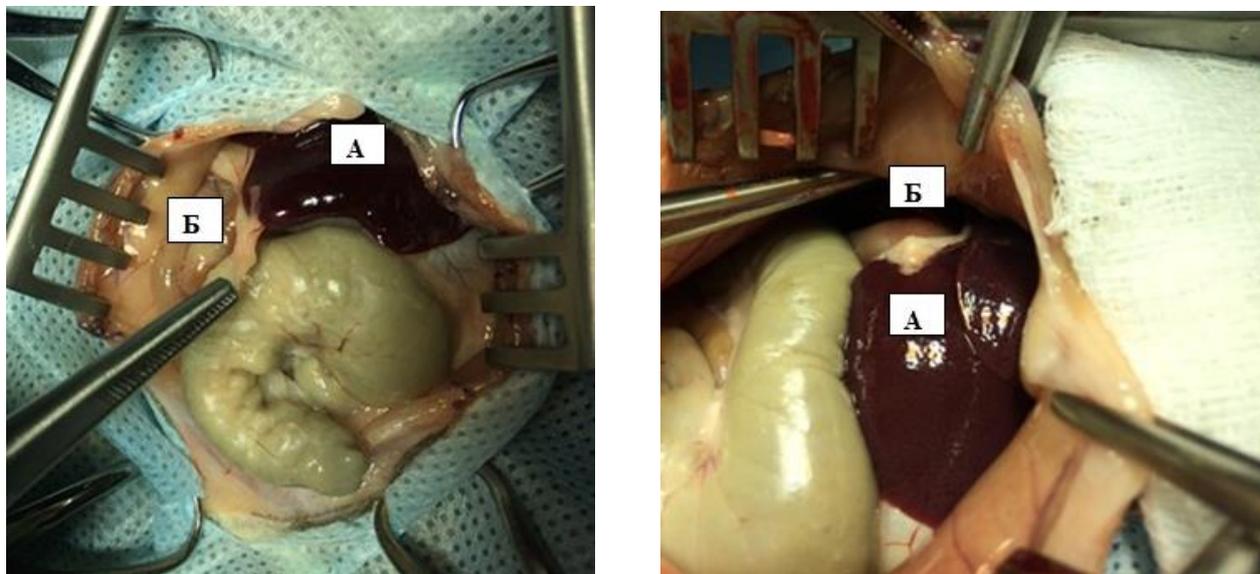


Рисунок 18 – Слева представлена брюшная полость животного группы сравнения с применением геля 4% Na-КМЦ на 14-е сутки. А – послеоперационный край печени. Б – прядь сальника, подходящая к послеоперационной ране печени. Справа представлена брюшная полость животного с применением геля 6% Na-КМЦ 6% + 5% АКК5 на 14-е сутки. А – послеоперационный край печени. Б – прядь сальника, подходящая к ране

Несмотря на барьерные свойства геля 4% Na-КМЦ «Мезогель», полностью избежать образования спаек не удастся. На 7-е и на 14-е сутки на стороне резецированного участка при гистологическом анализе наблюдали узкие тяжи формирующейся соединительной ткани, представленные тонкими коллагеновыми волокнами, адипоцитами в стадии формирования, фибробластами и макрофагами. Тем не менее выраженность спаечного процесса значительно ниже, чем в контрольной группе. При применении нового средства спайки на гистологических препаратах отсутствовали, за исключением одного животного, у которого на 14-е сутки сформировался узкий тяж коллагеновых волокон, сращенный с жировой тканью сальника.

Таким образом, патоморфологическая картина, распространенности спаечного процесса, характер спаек, степень деформации внутренних органов, коэффициент выраженности спаечного процесса на 14-е сутки (4,07 [3,75-4,60] балла ($p=0,0001$)) показали, что у всех животных без применения барьерных средств наблюдается выраженный спаечный процесс в брюшной полости, что связано с операционной травмой органов, кровотечением и желчеистечением. Применение у животных средства «Мезогель» достоверно – 0,96 [0,00-0,96] балла ($p=0,0001$) – уменьшает количество спаек и их характер на 14-е сутки. Использование нового 6% геля Na-КМЦ + 5% АКК не усиливало, а напротив предупреждало СПБП. Коэффициент выраженности спаечного процесса в брюшной полости на 14-е сутки составил 0,49 [0,96-0,00] балла ($p=0,0001$).

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что 6% гель Na-КМЦ с 5% АКК может быть использован во время операции на печени и селезенке не только как кровоостанавливающее средство, но и для профилактики СПБП. Введение в его состав 5% аминокaproновой кислоты не приводит к снижению барьерной функции, что подтверждается гистологическими исследованиями.

ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ НОВОГО СРЕДСТВА 6% ГЕЛЯ НАТРИЙ – КАРБОКСИМЕТИЛЦЕЛЛЮЛОЗЫ С 5% АМИНОКАПРОНОВОЙ КИСЛОТОЙ НА ПАРЕНХИМУ ПЕЧЕНИ И СЕЛЕЗЕНКИ

Для решения задачи изучения влияния геля 6% геля Na-КМЦ + 5% АКК на ткань печени и селезенки нами проведено сравнительное исследование с группой контроля и прототипом («Мезогель»). Для этого были использованы общегистологические, гистохимические и иммуногистохимические исследования. Для объективной оценки влияния нового средства на печень при ее резекции у всех животных изучали: кровенаполнения печени (синусоидных капилляров), площадь гепатоцитов и их ядер, гликоген – запасующую функцию, уровень экспрессии маркера митотической активности Ki-67.

5.1 Морфологическая оценка печени после ее резекции и местного применения 6% геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой

Морфологическая оценка печени после ее резекции и местного применения 6% геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой

Гистологические исследования печени после ее резекции показали, что в контрольной группе животных наблюдали увеличение диаметра вен и синусоидных капилляров и их повышенное кровенаполнение, вызванные нарушением венозного оттока в связи с операционной травмой (рисунок 19).

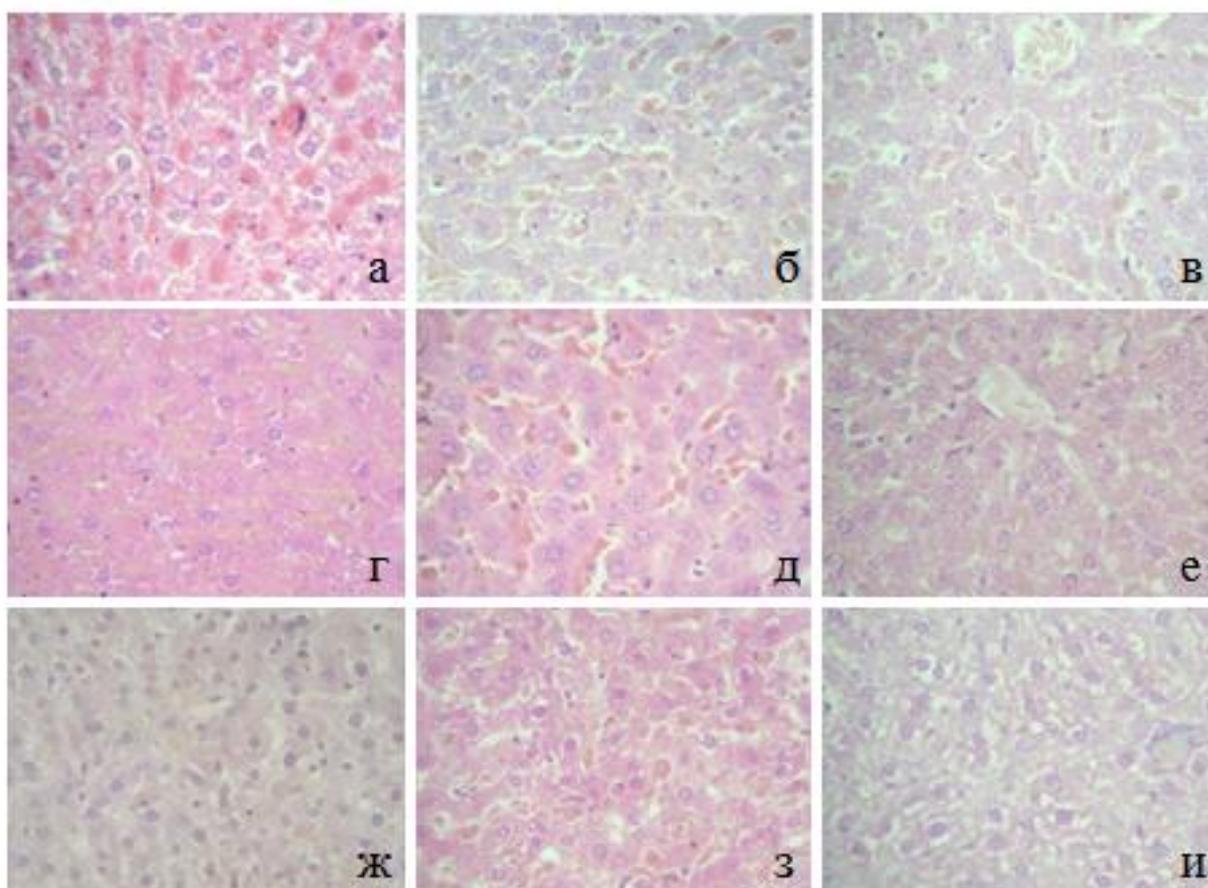


Рисунок 19 – Окрашивание гематоксилином и эозином печени экспериментальных животных: а, г, ж – контрольная группа; б, д, з – после аппликации 4% геля Na-КМЦ; в, е, и – при использовании нового гемостатического средства. Сроки эксперимента: 3 –и сутки – а, б, в; 7-е сутки – г, д, е; 14-е сутки – ж, з, и. Увеличение х 400

При использовании 4% геля Na-КМЦ «Мезогель» на 3-и сутки эксперимента полнокровие синусоидных капилляров и расширение вен выявлено в меньшей степени, чем в контроле (рисунок 21). К 7-м и 14-м суткам выраженность этих изменений снижается. В целом, к 14-м суткам у большинства животных происходит нормализация гистологической структуры печени, диаметр венозных сосудов уменьшается (рисунок 20), что говорит о восстановлении кровотока.

После аппликации нового гемостатического средства синусоидные капилляры и вены расширены и полнокровны. Выраженность этих изменений постепенно снижается к 7-м и 14-м суткам эксперимента. По данным RGB гистограмм, степень кровенаполнения синусоидных капилляров при использовании нового кровоостанавливающего средства значимо ниже, чем в контрольной и группе сравнения («Мезогель») ($p < 0,01$). Это, по-видимому, свидетельствует о нормализации венозного оттока и восстановлении кровообращения в области резекции (рисунок 20).

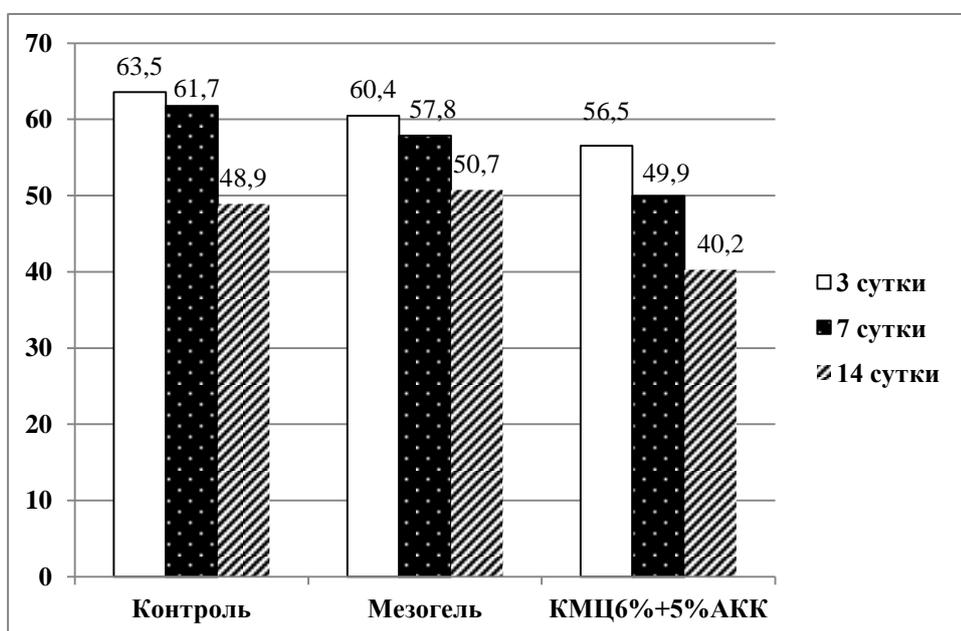


Рисунок 20 – Оценка кровенаполнения печени крыс по интенсивности распределения пикселей в R канале при анализе RGB гистограмм

Таким образом, использование 6% геля Na-КМЦ + 5% АКК позволяет уменьшить посттравматические последствия в виде расширений капилляров и вен, связанных с застойными явлениями. По-видимому, это связано с вазоконстрикторным действием 5% аминокaproновой кислоты, входящей в состав средства.

Для оценки состояния метаболической активности гепатоцитов и выраженности внутриклеточных регенераторных (компенсаторных) процессов определяли площадь сечения гепатоцитов и их ядер (рисунки 21,22) [49].

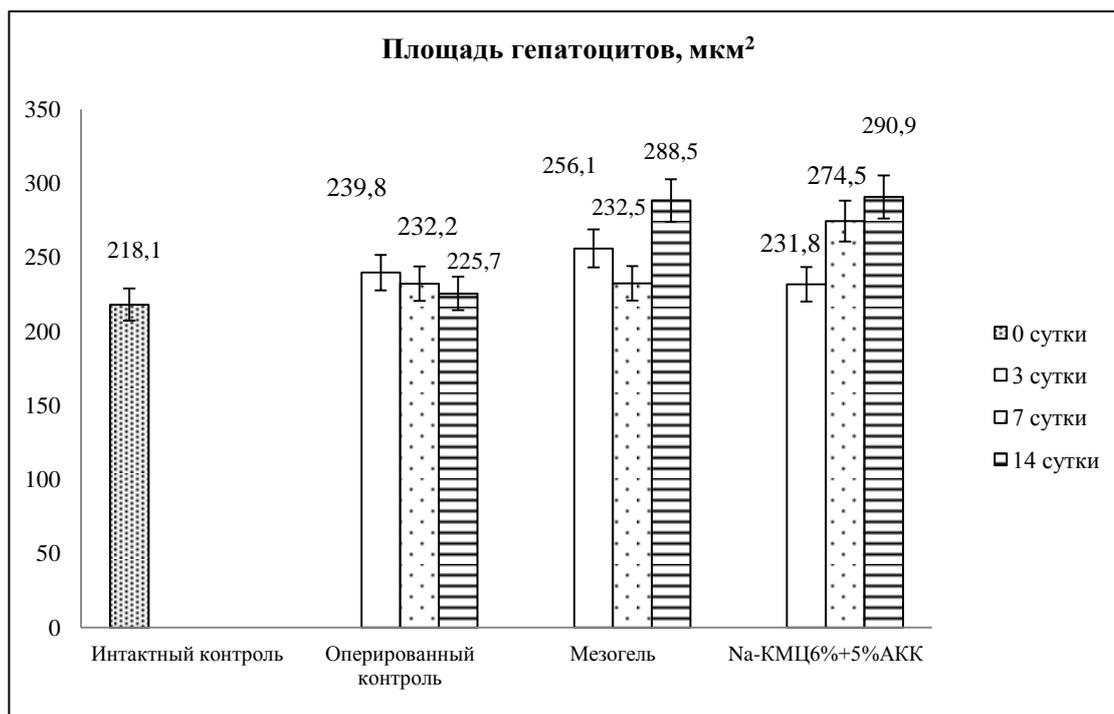


Рисунок 21 – Площадь гепатоцитов ($\mu\text{м}^2$) крыс в изученных экспериментальных группах средние значения

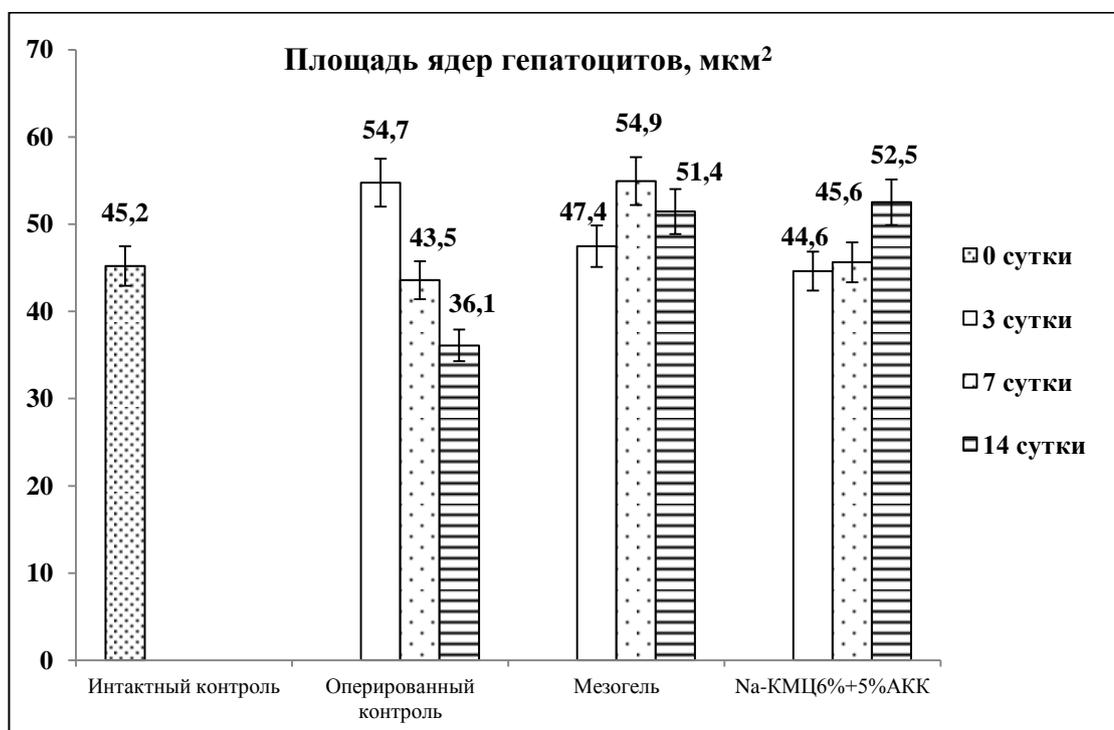


Рисунок 22 – Площадь ядер гепатоцитов ($\mu\text{м}^2$) крыс в изученных экспериментальных группах средние значения

Анализ полученных результатов показал, что в контрольной группе после резекции печени размеры гепатоцитов с 3-х по 14-е сутки достоверно не менялись и не отличались от показателей интактных животных (рисунок 21). В то же время размеры ядер гепатоцитов на 3-и сутки после травмы печени были больше, чем у интактных крыс. С 3-х по 14-е сутки наблюдалось значимое уменьшение размеров ядер гепатоцитов ($p < 0,01$) (рисунок 22). По этой причине на 14-е сутки размеры ядер гепатоцитов были достоверно меньше, чем у интактных животных ($p < 0,01$) (рисунок 22).

Таким образом, сразу после травмы происходит активизация синтетической функции печени, что может быть связано с синтезом белков воспаления (С – реактивного белка, белков системы комплемента и др.). Последующее снижение размеров ядер гепатоцитов ниже уровня интактного контроля свидетельствует об ухудшении функционального состояния гепатоцитов в отдаленном послеоперационном периоде, связанным с недостаточно эффективным восстановлением гемодинамики печени и развитием спаечного процесса.

Использование геля 4% Na-КМЦ («Мезогеля») приводит к постепенной активизации внутриклеточной регенерации, что проявляется достоверным увеличением размеров гепатоцитов с 3-х по 14-е сутки ($p < 0,05$) при отсутствии изменений со стороны ядер гепатоцитов. На 14-е сутки эксперимента размеры гепатоцитов ($p < 0,01$) и их ядер ($p < 0,05$) были достоверно больше, чем в интактном контроле (рисунки 21,22).

Аппликация нового гемостатического средства приводила к увеличению размеров гепатоцитов и их ядер с 3-х по 14-е сутки ($p < 0,05$) (рисунки 21,22). Оба показателя на 14-е сутки были выше значений интактных животных ($p < 0,05$). Следует отметить, что гипертрофия гепатоцитов, в отличие от геля 4% Na-КМЦ («Мезогеля»), ассоциировалась с увеличением размеров ядер печеночных клеток, что говорит о стимуляции секреторных процессов в печени.

Таким образом, на 14-е сутки эксперимента размеры гепатоцитов и их ядер оказались достоверно выше в группах с использованием противоспаечного

средства и нового средства по сравнению с контрольной и интактной группами ($p < 0,05$), что свидетельствует об активизации секреторных и метаболических процессов, компенсаторной гипертрофии и, возможно, более высокой активности гладкой эндоплазматической сети, ответственной за инактивацию вводимых препаратов.

Известно, что гликоген является индикатором функционального состояния гепатоцитов. Содержание гликогена коррелирует со степенью гипоксии, и при тяжелых паренхиматозных поражениях печени его количество снижается. При анализе результатов ШИК-реакции на гликоген (рисунок 23) установлено, что наиболее выраженные нарушения гликоген-запасающей функции гепатоцитов наблюдаются на 7-е сутки эксперимента в группе с использованием геля 4% Na-КМЦ («Мезогеля»), что свидетельствует о наличии жировой дистрофии.

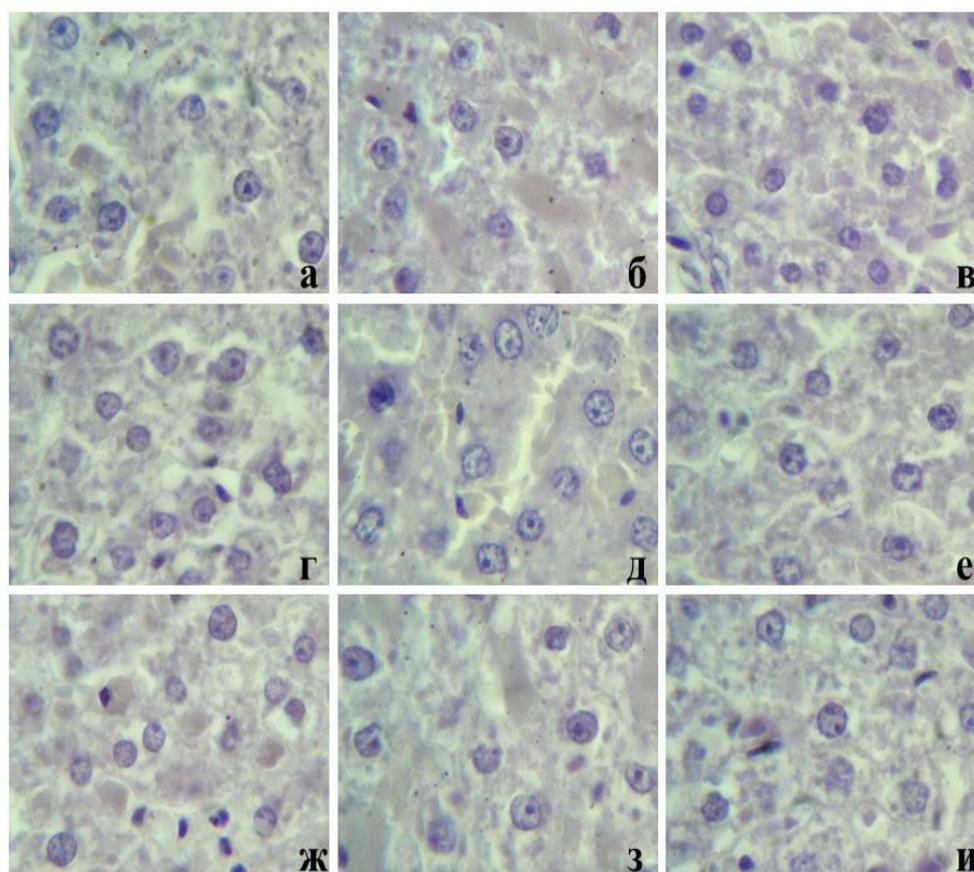


Рисунок 23 – Гистохимическая ШИК – реакция на гликоген в печени экспериментальных животных: а, г, ж – контрольная группа; б, д, з – после

аппликации геля 4% Na-КМЦ («Мезогеля»); в, е, и – при использовании 6% геля Na-КМЦ + 5% АКК. Сроки эксперимента: 3-и сутки – а, б, в; 7-е сутки – г, д, е; 14-е сутки – ж, з, и. Увеличение $\times 1000$

При аппликации 6% гель Na-КМЦ + 5% АКК количество глыбок гликогена с 3-х по 14-е сутки достоверно не меняется, однако больше, чем в группах сравнения, что свидетельствует о сохранности гликоген-запасающей функции гепатоцитов, а следовательно, и об отсутствии выраженной пост-травматической гипоксии и структурных повреждений печени.

Для оценки митотической активности печеночных клеток в области резекции нами проанализировано количество двухъядерных гепатоцитов. Однако известно, что они могут содержать и в норме до 20%, поэтому для верификации и дополнительной объективной оценки митотической активности проведен анализ экспрессии иммуногистохимического маркера Ki-67 активности пролиферации.

В контрольной группе выявлено увеличение данного показателя с 3-х по 14-е сутки, с максимальной экспрессией Ki-67 на поздних сроках эксперимента ($p < 0,01$) (рисунок 24). Учитывая влияние гипоксии на стимуляцию репаративных процессов, можно констатировать, что высокие показатели митотической активности гепатоцитов в контрольной группе на 14-е сутки говорят о наличии гипоксических последствий вследствие неполного восстановления гемодинамики.

При использовании геля 4% Na-КМЦ («Мезогеля») экспрессия Ki-67 достоверно увеличивается к 7-м суткам и остается повышенной по сравнению с контролем на 14-е сутки эксперимента ($p < 0,01$) (рисунок 24).

Аппликация 6% геля Na-КМЦ + 5% АКК ассоциируется с более ранней (на 3-и сутки) активизацией митотической активности гепатоцитов (на 30% выше значений контрольной группы). Затем этот показатель постепенно снижается к 14-м суткам ($p < 0,01$). В результате экспрессия Ki-67 на 14-е сутки эксперимента в этой экспериментальной группе значимо ниже по сравнению с

контролем и группой, где использовался гель 4% Na-КМЦ («Мезогель») ($p < 0,001$). Это свидетельствует о более ранней активизации регенераторных процессов в печени.

Следует отметить, что при местном применении геля 4% Na-КМЦ («Мезогеля») отмечен высокий уровень экспрессии Ki-67 на всех сроках эксперимента, а следовательно, и более высокий уровень митотической активности.

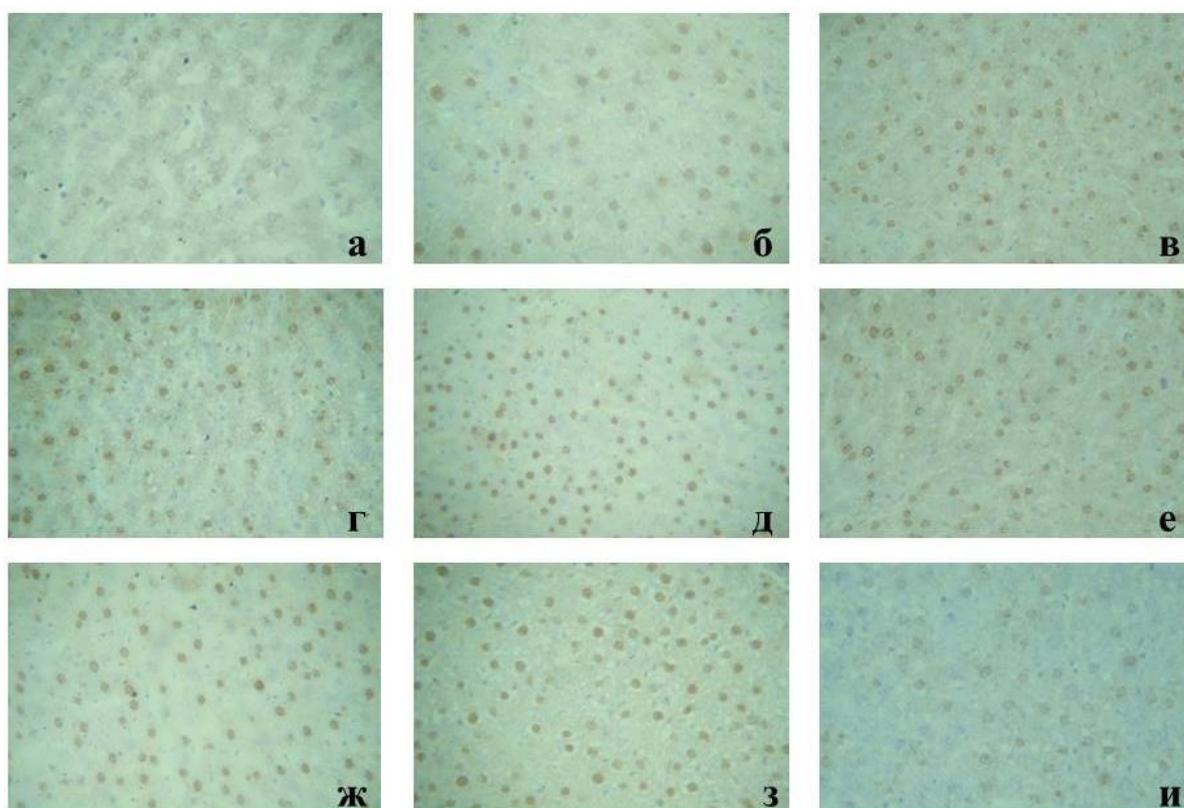


Рисунок 24 – Иммуногистохимическое окрашивание Ki-67 в печени экспериментальных животных: а, г, ж – контрольная группа; б, д, з – после аппликации геля 4% Na-КМЦ («Мезогеля»); в, е, и – при использовании 6% геля Na-КМЦ+ 5% АКК. Сроки эксперимента: 3-и сутки – а, б, в; 7-е сутки – г, д, е; 14-е сутки – ж, з, и. Увеличение $\times 40$

Данные, полученные с помощью иммуногистохимического исследования Ki-67, подтверждаются результатами подсчета двухъядерных гепатоцитов. Так, в контрольной группе количество двухъядерных клеток достоверно (в 2 раза)

увеличивается от 3-х к 14-м суткам ($p < 0,05$), а в группах с использованием геля 4% Na-КМЦ («Мезогеля») и нового гемостатического средства число таких клеток, напротив, выше на ранних сроках эксперимента. В дальнейшем, при использовании гемостатических средств наблюдается снижение числа двухъядерных гепатоцитов (в 2 раза). При этом наиболее близкие к интактным животным показатели двухъядерных гепатоцитов отмечены на 14-е сутки в группе с аппликацией 6% Na-КМЦ + 5% АКК (рисунок 25).

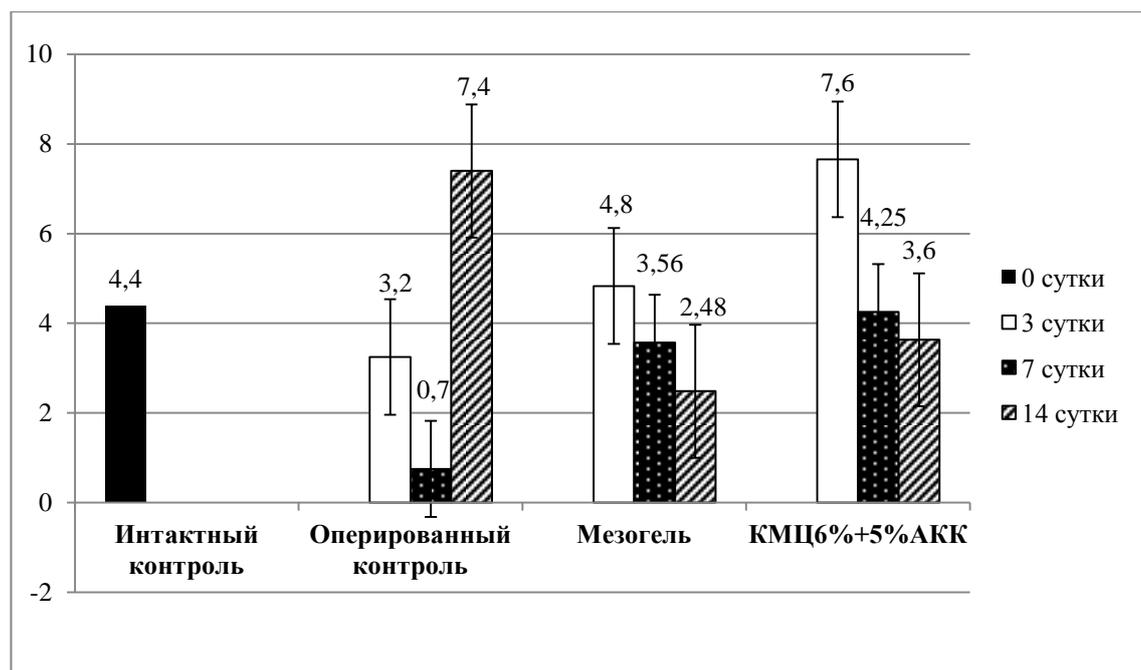


Рисунок 25 – Количество двухъядерных гепатоцитов в микропрепаратах резецированных участков печени крыс

Таким образом, комплексное гистологическое исследование ткани печени показало, что аппликация 6% Na-КМЦ + 5% АКК приводит к постепенному росту на всех сроках эксперимента площади гепатоцитов и их ядер (на 31%), что говорит о компенсаторной гипертрофии. Гликоген – запасаящая функция, была высокой на всех сроках эксперимента и достоверно выше, чем в группах контроля и сравнения. Происходит нормализация венозного оттока в области раны печени, что связано с вазоконстрикторным действием аминокaproновой кислоты и восстановлением кровообращения в резецированном участке. Изучение митотической активности гепатоцитов в группе применения 6% Na-

КМЦ + 5% АКК, показало достоверное повышение данного показателя на ранних сроках исследования, тогда как в группе контроля этот показатель начинает расти только с 7-х по 14-е сутки. Это свидетельствует о более ранней репаративной активности ткани печени, что имеет важное клиническое значение.

5.2 Морфологическая оценка селезенки после ее резекции и местного применения 6% геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы с 5% аминокaproновой кислотой

Для объективной оценки влияния нового средства на ткань селезенки при ее резекции у всех животных изучали: уровень кровенаполнения синусоидных капилляров, площадь лимфоидных узелков (фолликулов) и их плотность, а также уровень экспрессии CD4+ Т-лимфоцитов.

Анализ гистологических препаратов селезенки животных контрольной группы показал, что на 3-и сутки белая пульпа на гистологических срезах была представлена небольшим количеством крупных лимфоидных узелков с нерезко выраженными границами. На 7-е сутки количество лимфоидных узелков возрастало в 2-3 раза ($p < 0,05$) и оставалось повышенным к 14-м суткам эксперимента ($p < 0,01$). При этом площадь их на 3-и и на 14-е сутки достоверно не меняется ($p > 0,05$) (рисунок 26).

Некоторое снижение этого показателя на 7-е сутки может быть связано с появлением новых более мелких фолликулов. В целом, изменения белой пульпы свидетельствуют об активизации иммунной функции селезенки на 7-е сутки эксперимента, что совпадает с динамикой воспалительного процесса и формированием спаек. На 14-е сутки активность белой пульпы, судя по объему лимфоидной ткани, остается повышенной по сравнению с группами, где использовали противовоспалительные средства. Это свидетельствует о большей

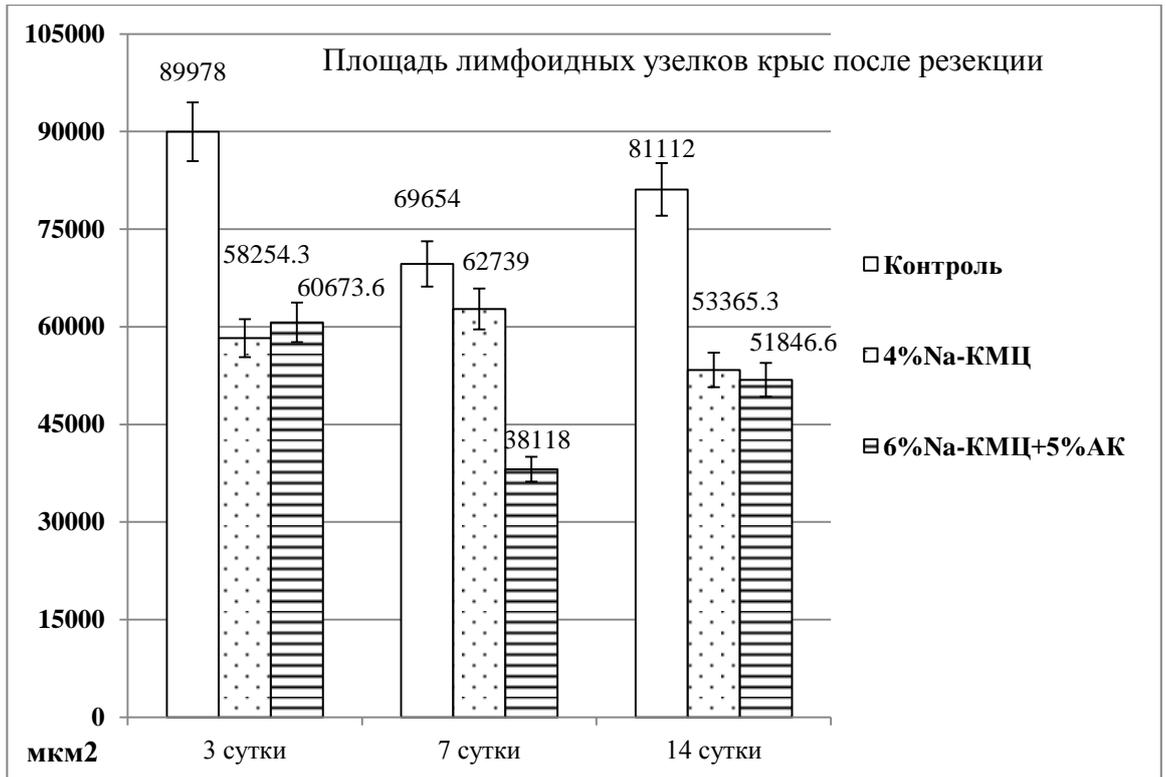


Рисунок 26 – Площадь лимфоидных узелков крыс после резекции селезенки (мкм²) средние значения

интенсивности воспалительных процессов, связанных, в том числе, с обширным спаечным процессом.

С целью комплексного и углубленного анализа иммунного ответа тканей селезенки как на операционную травму, так и на аппликацию средств выполнено определение количества CD4⁺ Т-лимфоцитов, связанных как с гуморальным иммунитетом, так и с реакциями клеточного иммунитета.

Экспрессия CD4⁺ Т-лимфоцитов в целом соответствует изменениям белой пульпы. Количество клеток этой популяции Т-лимфоцитов в контрольной группе возрастает с 3-х по 7-е сутки и остается повышенной к 14-м суткам. Причём на 14-е сутки CD4⁺ Т-лимфоцитов достоверно больше ($p < 0,01$), чем в случае использования противоспаечных средств (рисунок 27), что также свидетельствует о более высокой степени воспалительных процессов, которые, в свою очередь, ассоциируются с более активно проявляющимся спаечным процессом.

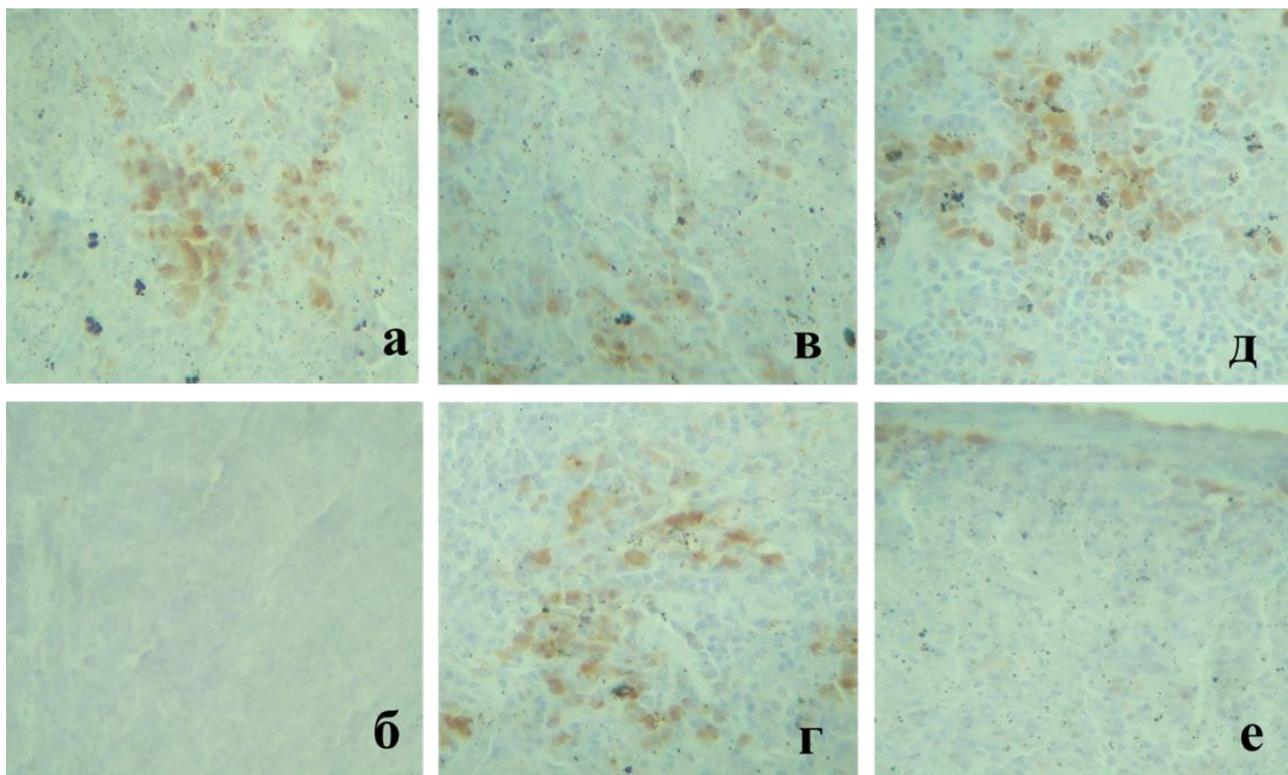


Рисунок 27 – Иммуногистохимическое окрашивание CD4+ Т-лимфоцитов в селезенке крыс после ее резекции (а, в, д) и при аппликации нового гемостатического средства на основе 6% геля Na-КМЦ + 5% АКК (б, г, е) на 3-и (а, б), 7-е (в, г) и 14-е (д, е) сутки эксперимента. Ув. x400

При использовании 4% геля натрия – карбоксиметилцеллюлозы («Мезогель») достоверного изменения плотности и площади лимфоидных фолликулов на 3-и и 14-е сутки эксперимента не наблюдали ($p > 0,05$).

Однако следует отметить, что в целом наблюдается меньшая активизация лимфоидной ткани селезенки в группе применения «Мезогеля» по сравнению с контрольной, о чем свидетельствует достоверное и значимое снижение площади лимфоидных фолликулов на всех сроках эксперимента и снижение показателя плотности узелков на 7-е и 14-е сутки в 2-3 раза. Более того, использование 4% геля натрия – карбоксиметилцеллюлозы позволило предотвратить развитие спаечного процесса (рисунок 28).

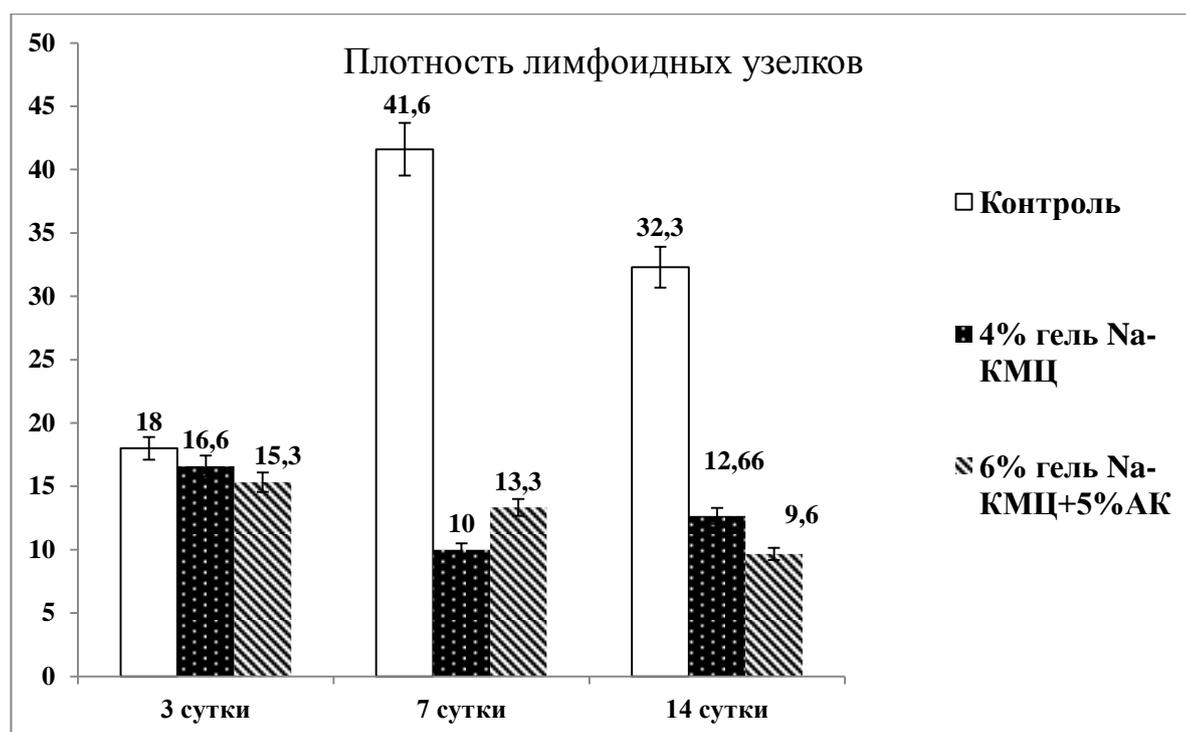


Рисунок 28 – Плотность лимфоидных узелков после резекции селезенки у крыс

В опытной группе животных, где на раневую поверхность селезенки после резекции наносили 6% гель Na-КМЦ + 5% АКК, площадь и плотность лимфоидных фолликулов значительно снижались с 3-х по 7-е сутки эксперимента ($p < 0,05$). Наибольшая активность белой пульпы в этой группе животных зафиксирована на 3-и сутки эксперимента, что связано с нанесением резекционной раны. Однако площадь лимфоидных фолликулов была значительно ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,01$). Наибольшее количество CD4+ Т-лимфоцитов отмечено на 7-е сутки по сравнению с 3-ми и 14-ми ($p < 0,05$) сутками эксперимента. При этом плотность лимфоидных фолликулов (на 30%) и CD4+ Т-лимфоцитов (на 60%) снижалась к 14-м суткам. При сравнительном анализе изменений в группе с аппликацией нового средства выявлено, что на 14-е сутки количество лимфоидных фолликулов достоверно ниже, чем в контрольной группе ($p < 0,01$). Более того, при использовании нового средства на 3-и ($p < 0,05$) и на 7-е ($p < 0,01$) сутки площадь лимфоидных узелков была значительно ниже, чем в контроле, что свидетельствует об изначально меньшей

выраженности иммунных реакций в селезенке, связанных с послеоперационным воспалительным процессом.

В целом полученные при использовании 6% геля Na-КМЦ + 5% АКК результаты свидетельствуют о меньшей степени активности лимфоидной ткани селезенки, являющейся индикатором интенсивности воспалительных процессов. Следствием этого являются более низкий уровень воспалительных изменений и спаечного процесса.

Для красной пульпы были характерны пористость структуры за счет увеличения венозных синусов и полнокровие крупных венозных сосудов, максимально выраженные на 3-и сутки эксперимента (рисунок 29).

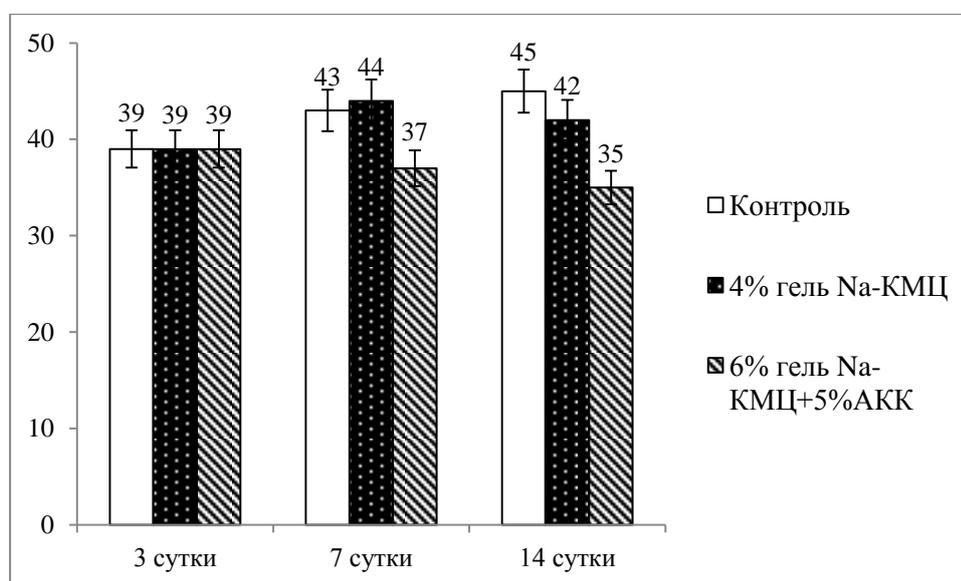


Рисунок 29 – Оценка кровенаполнения селезенки по интенсивности распределения пикселей в R – канале при анализе RGB гистограмм

На 7-е и 14-е сутки выраженность этих изменений снижается, но не исчезает полностью. По данным RGB гистограмм, в группе с использованием нового гемостатического средства уровень кровенаполнения самый низкий, что свидетельствует, по-видимому, о наиболее эффективном гемостазе и восстановлении внутриорганного кровообращения. Признаков дегенеративных изменений селезеночной паренхимы не наблюдали, что свидетельствовало об отсутствии негативных эффектов нового гемостатического средства.

Таким образом, использование 6% геля Na-КМЦ + 5% АКК при резекции селезенки приводит к достоверно значимому снижению площади лимфоидных узелков на 33% и их плотности - на 30% относительно контрольной группы, что свидетельствует о минимально выраженных воспалительных изменениях в послеоперационном периоде ($p < 0,05$). Этот факт подтверждается минимальным уровнем экспрессии CD4+ Т-лимфоцитов, ответственных как за клеточный, так и гуморальный иммунитет, после применения у животных 6% геля Na-КМЦ + 5% АКК. Снижение реактивности белой пульпы в целом ведет к сокращению выработки медиаторов воспаления, что, в свою очередь, приводит к профилактике образования спаек в брюшной полости.

Таким образом, наше исследование показало, что гель натрий – карбоксиметилцеллюлозы обладает достоверным кровоостанавливающим свойством, однако менее выраженным по сравнению с современными местными гемостатическими препаратами. Это делает возможным его применение при операциях на паренхиматозных органах, в том числе и на печени. В условиях крово- и желчеистечения гель не меняет своих свойств. Максимальный кровоостанавливающий эффект нами выявлен у 6% геля Na-КМЦ. Введение в его состав 5% аминокaproновой кислоты способствует увеличению кровоостанавливающей активности 6% геля выше уровня сравниваемых и используемых в клинике препаратов. Наши исследования достоверно показали, что повышение концентрации геля до 6% и введение в его состав 5% АКК полностью сохраняет противоспаечную активность. Морфологические исследования достоверно показали, что местное применение при резекции печени и селезенки разработанного средства для остановки кровотечения и профилактики спайкообразования приводит к улучшению кровообращения, нормализации функции органов, улучшению репаративных и метаболических процессов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Актуальной проблемой современной хирургии являются осложнения, связанные с оперативными вмешательствами на печени и селезенке. Кровотечение, как во время операции, так и в послеоперационном периоде, в короткие сроки может привести к летальному исходу и быть причиной смерти от 6-12% до 28-72% в зависимости от открытого или закрытого характера повреждений [21,130,215].

Сложность гемостаза связана во многом с особенностями строения и функций 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 ведет к развитию желчного перитонита. Примесь желчи к излившейся крови задерживает ее свертывание, что также повышает кровоточивость тканей [36,55,63,156].

С другой стороны, в послеоперационном периоде возникает новая проблема – развитие спаечного процесса как в области манипуляции, так и 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 [68].

Хирурги во время операций на печени и селезенке применяют как прошивание тканей, так и местные гемостатические препараты. Они обладают выраженным кровоостанавливающим эффектом, но в то же время способствуют спайкообразованию в брюшной полости. Анализ литературы показал, что в практической хирургии отсутствуют препараты, для одновременного проведения гемостаза и профилактики спайкообразования. Поэтому целью нашего исследования явилось экспериментальное изучение кровоостанавливающих свойств геля Na-КМЦ, поиск его оптимальной гемостатической концентрации и изучение его противоспаечного эффекта в

сравнительном аспекте с современными гемостатическими препаратами [20]. Выше изложенное определило цель и задачи данного исследования.

Для решения обозначенных задач нами было выполнено экспериментальное исследование по изучению и усилению кровоостанавливающей и противоспаечной активности препарата на основе геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы при резекции печени и селезенки. Дизайн исследования представлен на рисунке 1.

Нами было впервые доказано наличие кровоостанавливающего действия у 4% геля Na-КМЦ *in vitro*, так как ранее эту форму полимера применяли, только как противоспаечное барьерное средство, а с целью остановки кровотечения использовали гемостатическую губку «Na-КМЦ» [54,56,90,165].

Наши исследования показали, что во всех опытах происходило возрастание величины гематокрита при добавлении средства к нативной крови, за счет абсорбции составляющим компонентом – карбоксиметилцеллюлозой 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 также подтвердил, что гель Na-КМЦ 4% обладает гемостатической активностью, сокращая время свертывания крови на 37%, 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%. 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 [196]. Поверхность геля является гладкой, не содержащей пор и пустот, это и приводит к более медленному образованию тромба или кровяного сгустка.

Чтобы проверить полученные в эксперименте *in vitro* данные, 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. Последние включали контрольную группу – без применения гемостатических средств, исследуемую (гель Na-КМЦ 4%) и 4 группы сравнения (гемостатические губки «Белкозин», «КМЦ», «Тахокомб», марлевая салфетка). Полученные данные подтвердили, что при краевой резекции паренхиматозных органов гель обладает кровоостанавливающей активностью, уменьшая время остановки кровотечения относительно контрольной группы на 36% при травме печени и на 28% при травме селезенки (рисунок 31).

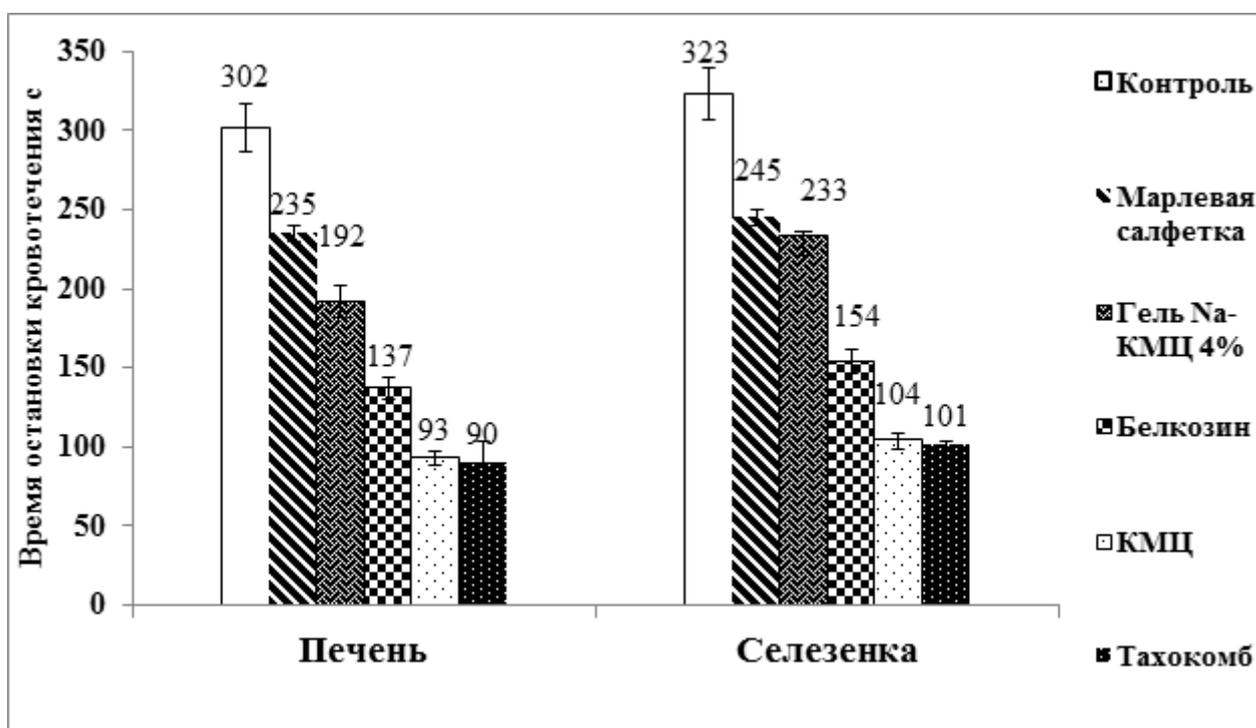


Рисунок 31 — Средние показатели времени остановки кровотечения при резекции печени и селезенки в секундах в опыте *in vivo* у крыс первой серии

Сокращение величины кровопотери происходит на 14% при травме печени и на 16% при травме селезенки. Как и в предыдущем исследовании, все гемостатические губки: «Белкозин», «Na-КМЦ», «Тахокомб» оказались более эффективными (рисунок 32).

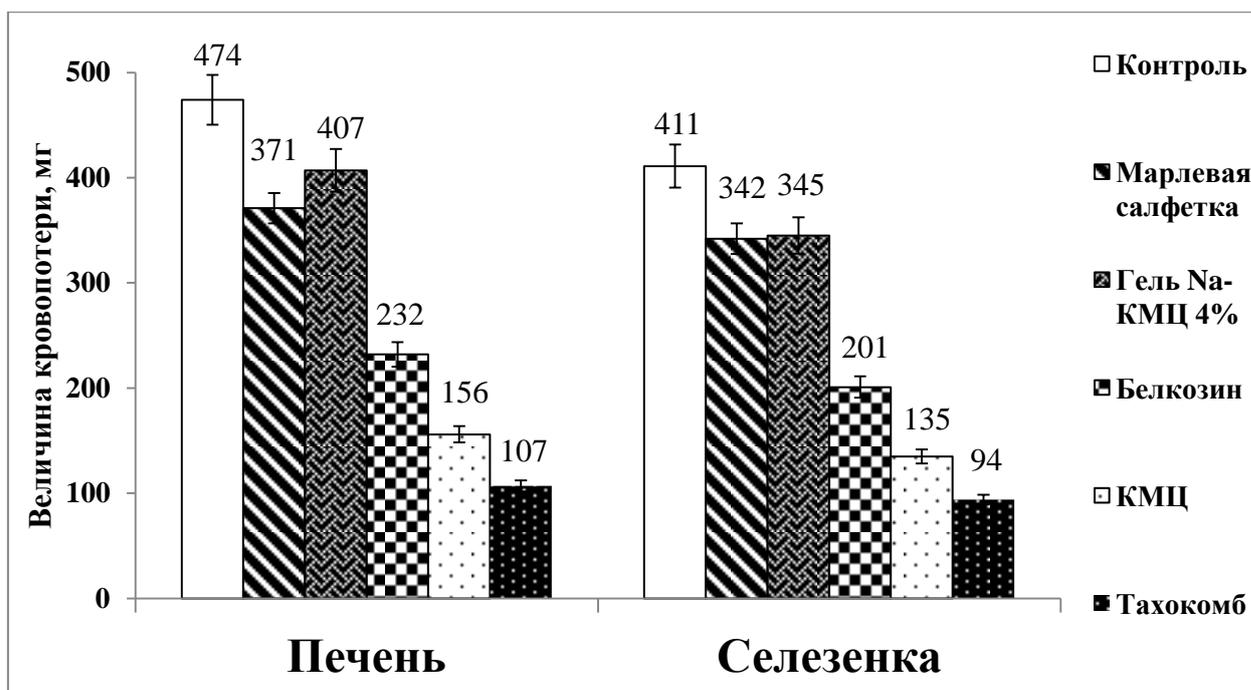


Рисунок 32 — Средние показатели величины кровопотери при резекции печени и селезенки в миллиграммах в опыте *in vivo* у животных первой серии

Это подтверждает тот факт, что в основе активности препаратов лежит, прежде всего, их агрегатное состояние – губчатая форма, так как даже разные по составу «Na-КМЦ» и «Тахокомб» не имели достоверных различий между собой (основа «Na-КМЦ» – полимер натрий – карбоксиметилцеллюлозы; «Тахокомб» коллагеновая губка с добавлением фибриногена и тромбина). Однако губка «Na-КМЦ» и гель Na-КМЦ 4% имеют одну и ту же природу. Для осуществления поставленной цели необходимо достигнуть эффективности губки, но при этом сохранить гелеобразную форму. Следовательно, механизм данного эффекта связан с природой и свойствами вещества карбоксиметилцеллюлозы, изучение которых, несомненно, важно для понимания дальнейшего пути совершенствования материала, учетом полученных данных сравнительного анализа. Для этого необходимо понимать механизм кровоостанавливающего действия Na-КМЦ.

Необходимо также знать, как будут влиять на гель активные среды организма во время операций на печени и селезенке – кровь и желчь, богатый

органический состав которых может изменить структуру геля и его кровоостанавливающую и противоспаечную активность. Эта информация является весьма значимой.

Для ответа на этот вопрос мы впервые совместно с сотрудниками кафедр общей и биоорганической химии КГМУ и кафедры химии КГУ изучили характер изменения геля Na-КМЦ 4% при взаимодействии с желчью и кровью *in vitro*. Анализ взаимодействия желчи и Na-КМЦ в концентрациях от 0,5% до 9% показал лишь изменение рН и вязкости данных веществ вследствие подкисления геля желчью и его разжижения (снижения вязкости) за счет разбавления желчью. Отсутствовали объективные признаки образования нового вещества, такие как выделение газа, образование осадка, изменение цвета, изменение запаха, излучение света и выделение тепла. Однако только использование инфракрасной спектроскопии позволило объективно и достоверно доказать отсутствие химического взаимодействия между гелем и желчью, гелем и кровью. На спектрограммах веществ и их смесей отсутствовали полосы поглощения, характерные для новых функциональных групп, появляющихся при наличии химического взаимодействия между реагентами и при образовании нового вещества.

Нами впервые при анализе взаимодействия Na-КМЦ в различных концентрациях (0,5-9%) и крови 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%. Это объясняется тем, что расстояние между фибриллами полимера становится меньше, также возрастает сила поляризации поперечных гидроксильных групп. С одной стороны, это способствует формированию решетки, на которой задерживаются форменные элементы, и условий для формирования кровяного сгустка, с другой стороны – повышается процесс полимеризации, который усиливает набухание геля за счет абсорбции жидкой части крови (плазмы) полимером. 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 средства 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.

Таким образом, гель Na-КМЦ обладает максимальным коагулирующим эффектом в 6% концентрации, при этом желчь не нарушает его структуры, а следовательно, функций.

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.

Наиболее выраженный эффект отмечен у Na-КМЦ 6%, который уменьшал как время кровотечения на 46% при травме печени и на 40% при травме селезенки (рисунок 33), так и величину кровопотери при травме печени на 27%, при травме селезенки на 30% (рисунок 34).

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%. Его спад можно также объяснить тем, что

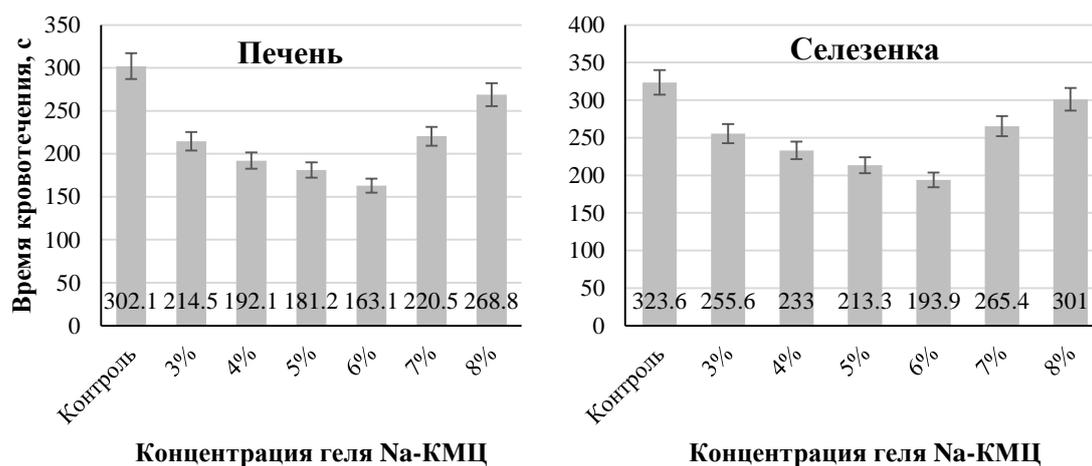


Рисунок 33 – Средние значения времени остановки кровотечения при резекции печени и селезенки у крыс второй серии ($M \pm m$)

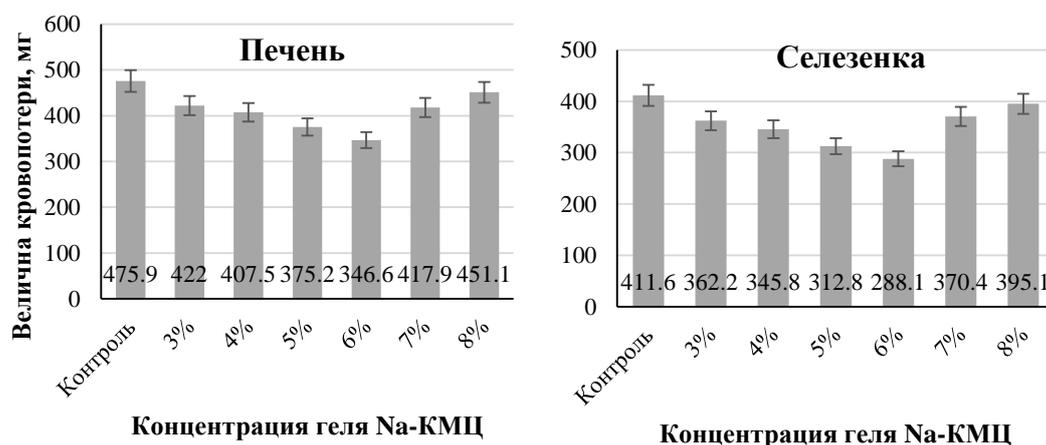


Рисунок 34 – Средние значения величины кровопотери при резекции печени и селезенки у крыс второй (M±m)

условия эксперимента, которые максимально приближены к условиям настоящей операции у человека, не способствуют увеличению гемостатических свойств образцов Na-KMЦ 7-8%, по сравнению с опытом *in vitro*. Так как время растворения (набухания) геля практически равно времени остановки кровотечения без применения гемостатиков. В условиях реальной операции на печени у человека выдерживать такую экспозицию не предоставляется возможным и является даже опасным.

Температурный режим также не способствует более быстрому растворению образцов. Он был увеличен по сравнению с опытом *in vitro* для приближения к условиям реальной операции. Температура тела здорового животного (крысы) 38,5-39,5 °С; температура тела пациента, как здорового, так и с гипо- и гипертермией лежит в диапазоне 34,7-41,0 °С, а гель непосредственно контактирует с поверхностью резецированного края печени и селезенки. Согласно данным Ш. А. Йулдошова и соавт. (2016), увеличение температуры не приводит к увеличению скорости растворения (набухания) гелей Na-КМЦ. Данные образцы являются непригодными для применения в рамках практической медицины.

Как видно из эксперимента, время кровотечения сокращалось более выражено, чем величина кровопотери. Например, для геля 6% Na-КМЦ эти показатели составили 46% и 27% соответственно. Это можно объяснить условиями эксперимента, когда в отличие от искусственных моделей, из поврежденного сосудистого русла вытекает разный объем крови за единицу времени. Это обусловлено включением каскада системы гемостаза после нанесения операционной раны, причем как сосудисто-тромбоцитарного (местного), так и коагуляционного (системного), так как характер раны моделирует процесс паренхиматозного кровотечения как из мелких, так и крупных долевых сосудов печени и селезенки.

Вначале (момент нанесения раны) будет истекать максимальный объем крови, затем при подключении факторов гемостаза (сокращения стенок сосудов, образование тромбоцитарной пробки, что способствует остановке из кровотечения из мелких капилляров) объем теряемой крови уменьшится. Параллельно с этим начинает работать система коагуляционного гемостаза, отвечающая за остановку кровотечения в крупных сосудах: начало необратимой агрегации тромбоцитов и запуск образования фибрина на их поверхности, приводящие, под действием тромбина плазмы на фибриноген, к образованию тромба, что еще больше сокращает величину кровопотери. Однако если повреждены крупные сосуды и не приняты меры к остановке

кровотечения, тромб может оторваться и объем излившийся крови вновь увеличится [196]. Это, в свою очередь, влияет в каждую конкретную секунду на объём кровопотери. Именно поэтому мы не наблюдали пропорциональной зависимости в уменьшении времени и величины кровопотери. Гель Na-КМЦ представляет собой местное кровоостанавливающее средство, и оно не оказывает системного действия и не регулирует скорость гемостаза на каждом этапе.

Это подтверждается и корреляционным анализом коагулирующего эффекта в опыте *in vitro* и кровоостанавливающим *in vivo* и концентрацией геля. 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, обратная сильная связь для образцов 7-8% и отсутствие взаимосвязи для геля Na-КМЦ 9% вследствие отсутствия коагулирующего эффекта.

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

Выбор данного гемостатического средства связан с его фармакологическими свойствами.

Аминокaproновая кислота относится к синтетическим аналогам лизина. Она ингибирует фибринолиз, конкурентно насыщая лизин-связывающие рецепторы, благодаря которым плазминоген (плазмин) связывается с фибриногеном (фибрином). Препарат также ингибирует биогенные полипептиды – кинины (тормозит активизирующее действие стрептокиназы, урокиназы, тканевых киназ на фибринолиз), нейтрализует эффекты

калликреина, трипсина и гиалуронидазы, уменьшает проницаемость капилляров. Аминокапроновая кислота обладает также антиаллергическим эффектом, усиливает детоксицирующую функцию печени, угнетает антителообразование [85,127].

Активный компонент этого средства помогает в короткие сроки остановить внутреннее и наружное кровотечения. Этот эффект достигается благодаря действию на факторы свертываемости. Препарат блокирует выработку веществ, отвечающих за разжижение крови, и повышает количество тромбоцитов. Помимо этого, он способствует их склеиванию и образованию сгустка в месте повреждения сосудов.

Препарат также уменьшает проницаемость капилляров, что способствует снижению активности ферментов, отвечающих за разрушение тромбов. Благодаря этому защитные реакции организма усиливаются в несколько раз, и начинается активное склеивание тромбоцитов. Таким образом, достигается синергия при сочетании геля натрий – карбоксиметилцеллюлозы и аминокапроновой кислоты как препаратов, влияющих на разные звенья местного гемостаза.

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%.

Таким образом, введение в 6% гель Na-КМЦ аминокапроновой кислоты привело к значимому увеличению кровоостанавливающих свойств образца. Его эффективность оказалась выше во всех случаях твердой агрегационной формы губки гемостатической 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.

При сопоставлении полученных данных с результатами экспериментальных работ других авторов, схожих по способу моделирования операционной раны и по методике оценки кровоостанавливающих свойств, установлено, что 6% Na-КМЦ + 5% АКК более эффективен, при остановке кровотечения по сравнению не только с отечественными аналогами: губкой гемостатической «Зеленая дубрава» (г. Москва), раневым покрытием «Биотравм» (г. Санкт-Петербург), но и с такими зарубежными препаратами, такими, как «Серджисел», «Серджисел Нью-Нит» (производство «Джонсон и Джонсон», США) [79].

При сравнении с результатами работы Г. М. Чижикова, наше комбинированное средство оказалось более эффективным, чем образец 2 на основе КМ с пролонгированным сроком биodeградации [165]. Этот препарат являлся до настоящего времени одним из самых эффективных в плане снижения времени кровопотери относительно контроля на 58 %, а объёма кровопотери - на 49 % Чижиков Г.М. и соавт. (2011). Преимуществами образца 2 являются длительное сохранение твердой агрегационной формы, обратная сторона которого – повышение выраженности спаечного процесса, которая будет проанализирована далее. «Образец 1», без пролонгированного срока биodeградации снижал время кровотечения относительно контроля еще меньше – на 52%, а величину кровопотери на 43% [165].

При анализе результативности гемостатических губок на основе КМЦ, изученных в исследовании Ю. Е. Константиновой и соавт. (2016), наиболее эффективными в отношении остановки кровотечения из печени оказались образцы № 6 и № 7 на основе химически модифицированной КМЦ с добавлением аминокислотной (глицина) и салициловой кислот [103]. Снижение времени остановки кровотечения при травме печени, заявленное авторами,

составляло 62% и 61% относительно контроля, а величина кровопотери – 53% в обоих случаях, что ниже кровоостанавливающей активности 6% Na-КМЦ + 5% АКК.

В работе В. В. Давыденко (2015), установлено, что при травме печени время остановки кровотечения по сравнению с контролем снижалось на 30% при использовании нового гемостатического средства на основе хитозана «Гемофлекс Про» (ООО «Инмед», РФ), на 24% – при использовании гемостатической пластины на основе прокоагулянтов животного и человеческого происхождения «Tachocomb» (Nycomed, Австрия), на 18% - при использовании «Surgicel Nu-knit» (Johnson & Johnson, США), на 16% - при использовании гемостатического средства на основе хитозана «Celox™ Gauze Hemostat» (MedTrade Products Ltd, Великобритания) [145]. Уменьшение величины кровопотери относительно контрольной группы происходило на 88%, 82% и 88% при использовании «Surgicel Nu-knit», «Tachocomb» и «Celox™ Gauze Hemostat» соответственно. Гель 6% Na-КМЦ + 5% АКК не уступает в гемостатической эффективности ни одному из перечисленных образцов.

В исследовании Н. И. Мельновой (2013), по изучению эффективности нового средства «Гамастат» на основе неорганических солей (полный состав не раскрывается) и «Вискостата» — гемостатического геля с 25% содержанием хлорида алюминия (Ultradent, США) выявлено уменьшение показателя времени остановки кровотечения на 80% и 84% соответственно [107]. Однако в тексте статьи есть существенное примечание: «в единичных случаях «Гамастат» наносили повторно, при этом окончательный гемостаз наступал через 6-8 мин.» (Мельнова Н. И. и соавт. (2013)). Этот временной промежуток значительно превосходил время остановки кровотечения в контрольной группе ($1712,5 \pm 242,4$ с). «В случаях когда остановка кровотечения была неполной и из-под краев пленки просачивалась кровь, «Вискостат» наносили повторно. При этом окончательный гемостаз наступал через 10-11 минут» (Мельнова Н.И. и соавт., (2013)). В ходе нашего эксперимента гемостаз в исследуемых группах 6% Na-КМЦ + 5% АКК был всегда окончательным и не превышал времени в

контрольной группе. Величина кровопотери уменьшалась при применении «Вискостата» только на 25% и «Гамастата» на 47% относительно контрольной группы. Таким образом, анализ показал, что кровоостанавливающая активность 6% Na-КМЦ + 5% АКК достоверно значимо увеличилась не только по сравнению с прототипом, но и в целом с новыми инновационными препаратами.

Однако необходимо также выяснить, не повлияло ли негативно на противоспаечные свойства геля 6% Na-КМЦ + 5% АКК увеличение концентрации полимера и введения аминокaproновой кислоты. Для этого был выполнен хронический эксперимент на 63 крысах по изучению уровня 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). 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 35).

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 не выявлено достоверных различий. Также 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. Этот момент является важным, так как в хирургической практике гемостаз сальником считается достаточно эффективным и в некоторых случаях окончательным. Часто при отсутствии массивного поражения органа и продолжающегося кровотечения прядь сальника подходит к травмированному участку и тампонирует его.



Рисунок 35 – Коэффициент выраженности спаечного процесса в брюшной полости у оперированных животных в баллах

Интраоперационно хирурги воспроизводят этот механизм фиксации пряди сальника в области повреждения на питающей ножке. При сравнительном анализе выявлено, что применение зарубежных образцов не позволило избежать спаечного процесса. Например, при использовании «Серджисел» и «Серджисел Нью-Нит» выраженность спаечного процесса на 14-е сутки составляла $2,171 \pm 0,32$ и $2,424 \pm 0,17$ балла соответственно Майстренко А.Н. и соавт. (2009).

Анализ работы Г. М. Чижикова и соавт. (2011), показал, что эффективный с точки зрения кровоостанавливающей активности образец 2 на основе КМЦ с пролонгированным сроком биodeградации, преимущество которого в длительном сохранении твердой агрегационной формы, имеет низкую противоспаечную активность. Выраженность спаечного процесса составила 1,04 балла. При уменьшении сроков биodeградации, как в случае образца 1, выраженность спаечного процесса снижалась до 0,75 балла, однако этот показатель выше, чем у изучаемого образца 6% Na-КМЦ + 5% АКК [165].

В работе В. В. Давыденко по изучению противоспаечной активности

«Гемофлекс Про» (ООО «Инмед», РФ), «Tachocomb» (Nycomed Austria, Австрия), «Surgicel Nu-knit» (Johnson & Johnson, США), «Celox™ Gauze Hemostat» («MedTrade Products Ltd», Великобритания), обнаружено, что при вскрытии животных на 7-е сутки с использованием всех образцов наблюдается: «небольшое количество рыхлых спаек в зоне аппликации гемостатического средства; а на 30-е сутки — выраженные плотные спайки, данный вид спаек выявлен и в контрольной группе» Давыденко В.В. и соавт. (2015). В нашем исследовании 6% Na-КМЦ + 5% АКК значительно снижает развитие спаечного процесса в брюшной полости в отличие от сравниваемых образцов.

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

Для оценки морфологических изменений, происходящих после аппликации 6% Na-КМЦ + 5% АКК на рану, были выполнены гистологические исследования в трех группах хронического эксперимента: исследуемой, группе сравнения («Мезогель») и группе контроля (без применения аппликации средств). Мы оценивали кровенаполнение печени (синусоидных капилляров), площадь гепатоцитов и их ядер, гликоген-запасяющую функцию, уровень экспрессии маркера митотической активности Ki-67.

Наши 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-запасяющей функции на всех сроках эксперимента. В целом, гепатоциты не испытывают отрицательного влияния 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. Происходит нормализация кровоснабжения резецированного участка, обусловленное вазоконстрикторным действием аминокaproновой кислоты и абсорбирующим – полимером, кровенаполнение синусоиды капилляров было ниже на всех сроках исследования при применении нового средства.

Для объективной оценки влияния на ткань 6% Na-КМЦ + 5% АКК селезенки при ее резекции изучали уровень кровенаполнения синусоидных капилляров, площадь лимфоидных узелков (фолликулов) и их плотность, а также уровень экспрессии CD4+ Т-лимфоцитов.

Исследования показали, что и в данном случае происходит достоверно более быстрая нормализация кровообращения в области операционной раны. А также аппликация комбинированного средства ведет к снижению уровня послеоперационных воспалительных явлений в области резекции. Это подтверждается снижением площади и плотности лимфоидных узелков относительно контрольной группы на 33% и 30% соответственно ($p < 0,01$) и также снижением экспрессии CD4+ Т-лимфоцитов (на 60%) на 14 сутки эксперимента по сравнению с контролем.

Исследования показали, что и в данном случае происходит достоверно более быстрая нормализация кровообращения в области операционной раны. Аппликация комбинированного средства ведет к снижению уровня послеоперационных воспалительных явлений в области резекции. Это подтверждается снижением площади и плотности лимфоидных узелков относительно контрольной группы на 33% и 30% соответственно ($p < 0,01$) и уменьшением экспрессии CD4+ Т-лимфоцитов (на 60%) на 14 сутки эксперимента по сравнению с контролем.

Таким образом, в работе экспериментально доказана эффективность применения 6% геля натрия — карбоксиметилцеллюлозы и 5% аминокaproновой кислоты, как средства комбинированного действия при краевой резекции печени и селезенки, обладающего высокой

кровоостанавливающей и противоспаечной активностью. Это делает возможным его применение в хирургии паренхиматозных органов и в целом открывает новые перспективы в абдоминальной хирургии. В конечном итоге применение предлагаемого нами комбинированного средства, обладающего одновременно выраженным кровоостанавливающим и противоспаечным эффектами, должно способствовать не только улучшению ближайших послеоперационных, но и отдаленных результатов, повышению качества жизни пациентов.

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, изучения температурного режима использования геля, возможности эндоскопического введения средства при операциях на печени и селезенке.

Перспективным является в качестве дальнейшего изучения включении в состав натрий — карбоксиметилцеллюлозы различных фармакологических веществ, с целью синергии эффектов и детальное изучение реакций тканей в области имплантации, с помощью предложенных гистологических методик.

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 натрия 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 натрия 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 натрия — 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 (по данным экспрессии Ki-67 и количества двуядерных гепатоцитов на 30% на 3-и сутки эксперимента, $p < 0,01$) гепатоцитов, создавая благоприятные условия для регенерации ткани в раннем послеоперационном периоде.
6. При применении 6% геля натрия — 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. Средство готовится в следующем соотношении компонентов: 6 мас.% натрия — карбоксиметилцеллюлозы и 94 мас.% 5% раствора аминокaproновой кислоты. Гель наносят из расчета 4 мл на 2 см² 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.

Искренне благодарю д.м.н., профессора А. И. Бежина и д.м.н. профессора Т. А. Ишунину за огромный труд по руководству и наставничеству данного диссертационного исследования., д.т.н., профессора, директора ООО «Линтекс» В. А. Жуковского за предоставленные материалы и возможность работы с инновационными образцами; к.х.н., доцента Т. А. Кудрявцеву и д.ф.н., профессора Е. В. Будко за помощь в выполнении и анализ химической части работы. Искренне благодарю сотрудников кафедры оперативной хирургии и типографической анатомии им. профессора А. Д. Мясникова за многолетнюю помощь, советы, рекомендации и моральную поддержку данной работы. И конечно выражаю благодарность кружковцам кафедры за помощь в выполнении нашего исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдулхакимов, А. Р. Пути повышения эффективности лечения и диагностики послеоперационной спаечной болезни (обзор литературы) / А. Р. Абдулхакимов // Биология и интегративная медицина. – 2017. – № 1. – С. 225–233.
2. Абзаева, К. А. Первый представитель новых уникальных гемостатиков-феракрил: применение в практической медицине / К. А. Абзаева // Наука в современном информационном обществе. – 2016. – С. 133–135.
3. Айдемиров, А. Н. Применение плазменных технологий в хирургии эхинококкоза : дис. ... д-ра мед. наук / А. Н. Айдемиров. – Москва, 2002. – 259 с.
4. Альмяшев, А. З. Опухоли и кисты селезенки. К 150-летию первой успешной операции. Обзор литературы и наш опыт // Актуальные вопросы диагностики, лечения и реабилитации : материалы XVIII Межрегиональной научно-практической конференции. – Пенза, 2016. – С. 28.
5. Альперович, Б. И. Хирургия печени. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 352 с : ил. – (Библиотека врача специалиста).
6. Анализ ассортимента лекарственных средств, применяемых для лечения аномальных маточных кровотечений / В. Ю. Кузнецова, В. С. Кисличенко, Л. Н. Горячая, Н. А. Сущук // Рецепт. – 2018. – Т. 21, № 2. – 231–237.
7. Антошкина П. В. Оценка эффективности методов эндоскопического гемостаза при язвенных желудочно-кишечных кровотечениях / П. В. Антошкина, И. А. Захаренков // Смоленский медицинский альманах. – 2015. – №. 1. – С. 52.
8. Ахметзянов, Ф. Ш. Способы резекции печени / Ф. Ш. Ахметзянов, М. Н. Идрисов // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, № 4. – С. 563–567.

9. Байгазаков, А. Т. Лапароскопические технологии и антиадгезивные барьерные средства в лечении женщин с патологиями маточных труб / А. Т. Байгазаков // Эндоскопическая хирургия. – 2015. – Т. 21, № 5. – С. 33–35.
10. Белеков, Ж. О. Анализ причин ятрогенных повреждений внепеченочных желчных протоков / Ж. О. Белеков, У. Х. Джапиев, Н. А. Маманов // Московский хирургический журнал. – 2015. – № 6. – С. 35–39.
11. Биоразлагаемые композитные каркасы из биоактивного стекла хитозана карбоксиметилцеллюлозы для гемостатической и костной регенерации / К. Чен, Х. Ли, Дж. Пан [и др.] // Письма о биотехнологии. – 2015. – Т. 37, № 2. – С. 457–465.
12. Ближайшие и отдаленные результаты микродискэктомии с применением «линтекс-мезогель» / В. А. Лазаренко, И. Н. Гамазинов, В. А. Липатов, И. Л. Привалова // Экспериментальная и клиническая хирургия: проблемы и решения : материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Курск, 2016. – С. 45–47.
13. Бордаков В. Н. Экспериментальное изучение эффективности лекарственного средства «Фибриностаг М» / В. Н. Бордаков, М. В. Доронин, П. В. Бордаков // Военная медицина – 2013. – Т. 4. – С. 29-32.
14. Борисенко, Е. А. Биологическая этика: рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных / Е. А. Борисенко, Ю. К. Кисьора. – Новосибирск, 2017. – 63 с.
15. Буланов, А. Ю. Средства фармацевтического гемостаза в современной клинической практике / А. Ю. Буланов, Н. В. Прасолов // Тольяттинский медицинский консилиум. – 2013. – № 3-4. – С. 25–29.
16. Бутавин Н. Ю. Возможность использования инфракрасной спектроскопии в диагностике задержки психического развития / Н. Ю. Бутавин, Г. М. Зубарева // Успехи современного естествознания. – 2014. – № 4. – С. 12–15

17. Бычковских, В. А. Сравнительная морфология очагов лазерного воздействия в паренхиматозных органах (печень, почка, селезенка) / В. А. Бычковских, И. Я. Бондаревский, Л. В. Астахова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 153, № 5. – С. 739–741.
18. Влияние лекарственных препаратов, депонированных в средстве «Мезогель», на его противовоспалительную активность в эксперименте / И. Н. Звягин, О. Г. Фролова, В. А. Липатов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 6. – С. 89–89.
19. Влияние способа декомпрессии желчных протоков после их повреждения на результаты восстановительных операций / А. В. Пугаев, К. А. Покровский, Е. Е. Ачкасов [и др.] // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2018. – № 8. – С. 19–24.
20. Вопросы патогенеза спаечной болезни брюшины и современные подходы к ее предупреждению. обзор литературы / О. Э. Луцевич, В. П. Акимов, В. Г. Ширинский, А. А. Бичев // Московский хирургический журнал. – 2017. – № 3. – С. 11–26.
21. Гаин, Ю. М. Современные методы местного гемостаза при повреждениях паренхиматозных органов живота / Ю. М. Гаин, О. С. Александрова, В. Н. Гапанович // Новости хирургии. – 2009. – Т. 17, № 4. – С. 160–171.
22. Ганжий, В. В. Тактика выполнения органосохраняющих операций при травме селезенки / В. В. Ганжий, Н. С. Кравец // Клінічна хірургія. – 2015. – № 1. – С. 41–42.
23. Гемостатическая активность новых аппликационных средств на основе карбоксиметилцеллюлозы / А. И. Бежин, А. Н. Майстренко, В. А. Липатов [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18, № 3. – С. 13–20.
24. Гемостатические средства местного действия (обзор) / Г. Г. Белозерская, В. А. Макаров, Е. А. Жидков [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – № 7. – С. 9–15.

25. Геньш К. В. Окисленная целлюлоза. Получение. Применение в медицине / К. В. Геньш, Н. Г. Базарнова // Химия растительного сырья. – 2013. – № 4. – С. 13–20.
26. Глава 6. Метод Хартри – Фока // Майер, И. Избранные главы квантовой химии: доказательства теорем и вывод формул. – Москва : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2006. – С. 197–267.
27. Гланц, С. Медико-биологическая статистика. – Москва : Практика, 1999. – 334 с.
28. Гомон, М. С. Использование дерината при моделированном спаечном процессе брюшной полости / М. С. Гомон, В. А. Липатов // Университетская наука: взгляд в будущее : материалы Международной научной конференции. – Курск, 2018. – С. 245–247.
29. Горохов Г. Г. и др. СВЧ-термокоагулятор для достижения гемостаза при операциях на паренхиматозных органах / Г. Г. Горохов, Л. В. Шкалова, А. В. Стриковский [и др.] // Современные технологии в медицине. – 2018. – Т. 10, № 2. – С. 59–65.
30. ГОСТ Р 52623.0-2006. Технология выполнения простых медицинских услуг. Общие положения. – Введен впервые; введ. 01.01.08. – Москва : Стандартинформ, 2007. – 12 с.
31. Гржибовский, А. М. Анализ трех и более независимых групп количественных данных / А. М. Гржибовский // Экология человека. – 2008. – № 3. – С. 50–58.
32. Гржибовский, А. М. Сравнение количественных данных трех и более независимых выборок с использованием программного обеспечения Statistica и SPSS: параметрические и непараметрические критерии / А. М. Гржибовский, С. В. Иванов, М. А. Горбатова // Наука и здравоохранение. – 2016. – № 4. – С. 5–37.
33. Григорьев, С. Е. Применение принципов доказательной медицины к изучению хирургических заболеваний селезенки / С. Е. Григорьев, К. А.

- Апарцин // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2016. – Т. 21, № 1. – С. 119.
34. Деев, Л. А. История создания плазменного скальпеля / Л. А. Деев // *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. – 2019. – № 1. – С. 223–227.
35. Дзидзава И. И. Осложнения после обширных резекций печени / И. И. Дзидзава, А. В. Слободяник, В. И. Ионцев // *Вестник российской военно-медицинской академии*. – 2015. – Т. 51, № 3. – С. 261–266.
36. *Диагностическая и лечебная тактика при острых хирургических заболеваниях живота и груди: руководство* / под ред. В. П. Акимова. — СПб.: СЗГМУ им. И.И. Мечникова, 2018. — 292 с.
37. Дриго, С. А. Клиника и диагностика острых кровотечений в просвет органов пищеварительного канала : практическое пособие для врачей / С. А. Дриго, Н. В. Тишкова. – Гомель : ГУ «РНПЦ РМиЭЧ», 2014. – 40 с.
38. *Заболеваемость всего населения России в 2016 году : статистические материалы* / Министерство здравоохранения Российской Федерации. Департамент мониторинга, анализа и стратегического развития здравоохранения ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Минздрава России. – Москва, 2017. – Часть I. – 140 с.
39. *Заболеваемость всего населения России в 2017 году : статистические материалы* / Министерство здравоохранения Российской Федерации. Департамент мониторинга, анализа и стратегического развития здравоохранения ФГБУ «Центральный научно-исследовательский институт организации и информатизации здравоохранения» Минздрава России. – Москва, 2018. – Часть I. – 140 с.
40. *Заболевания селезенки в хирургии* / С. Н. Стяжкина, О. А. Белобородова, Ю. А. Казанцева [и др.] // *Научный журнал*. – 2016. – Т.13, №12.- С. 16–18.

41. Закрытые повреждения печени: алгоритм действий хирурга в условиях травмоцентра I уровня / С. С. Маскин, В. В. Александров, В. В. Матюхин, Н. К. Ермолаева // Политравма. – 2020. – № 2. – С. 84–91.
42. Значение местного применения транексамовой кислоты при кардиохирургических операциях с искусственным кровообращением / С. И. Колбинцев, А. Г. Яворовский, Т. П. Зюляева, О. В. Дымова // Вестник анестезиологии и реаниматологии. – 2017. – Т. 14, № 3. – С. 10–17.
43. Игнатъев, И. М. Применение препарата Тахокомб в сердечно-сосудистой хирургии / И. М. Игнатъев, С. В. Моисеев // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2017. – Т. 23, № 3. – С. 173–176.
44. Изменение структуры целлюлозы, хитозана и их смесей при экструзионном размоле / Т. В. Смотрина, А. К. Смирнов, Г. А. Вихорева [и др.] // Химия растительного сырья. 2004. – № 3. – С. 39–42.
45. Изучение реологических свойств растворов натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы / В. В. Чернова, М. С. Котяшов, Р. Ю. Лаздин [и др.] // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия Химия. Биология. Экология. – 2020. – Т. 20, № 2. – С. 163–169.
46. Изучение физико-химических и технологических свойств различных марок кроскармелозы (НА-КМЦ) / В. М. Воробьева, О. Г. Макарова // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация. – 2013. – № 4 (147). – С. 219–225.
47. Иммунологические аспекты в хирургии разрывов селезенки при закрытой травме живота / А. И. Хрипун, А. Н. Алимов, А. Д. Прямиков, В. А. Алимов // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2015. – № 3. – С. 76–80.
48. Интраоперационные способы гемостаза при операциях на печени / Г. Ц. Дамбаев, А. Н. Байков, Е. В. Семичев [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – № 4. – С. 89–93.

- 49.Ишунина, Т. А. Размеры ядер и перикарионов нейронов базального ядра мейнерта и заднего гипоталамуса в разных возрастных группах / Т. А. Ишунина // Успехи геронтологии.– 2015. – № 1. – С. 37–41.
- 50.Карпухин В. А. Теоретическое изучение применения амплитудной модуляции при радиочастотной электрокоагуляции / В. А. Карпухин, В. А. Замятина // Машиностроение и компьютерные технологии. – 2015. – № 6. – С. 178–189.
- 51.Кира, Е. Ф. Роль рН-метрии в диагностике вагинальных инфекций / Е. Ф. Кира, К. Е. Семенова, А. М. Маркарян // Гинекология. – 2014. – Т. 16, № 2. – С. 9–13.
- 52.Клёц, О. П. Современные возможности в лечении спаечной болезни // Инновационные технологии в фармации : материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Иркутск, 2017. – С. 177–181.
- 53.Клинико-экономические особенности различных стратегий гемостаза у пациентов в ходе обширной операции по резекции печени / В. В. Ряженов, С. Г. Горохова, Е. Р. Волкова, С. А. Максимкин // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2015. – № 6. – С. 65–69.
- 54.Клиническая эффективность внутрибрюшной имплантации противоспаечного средства «Мезогель» / Б. С. Суковатых, А. И. Бежин, В. А. Липатов [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. 17, № 3. – С. 16–18.
- 55.Клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи пострадавшим с повреждениями живота и органов брюшной полости в чрезвычайных ситуациях / Б. П. Кудрявцев, Ю. Н. Саввин, С. А. Краснов, А. М. Поярков // Клинические рекомендации по политравме. – Москва, 2016. – С. 69-90.
- 56.Коагулометрический метод сравнительного анализа образцов губчатых кровеостанавливающих средств / В. А. Липатов, К. А. Сотников, Д. А. Северинов [и др.] // Молодежь – практическому здравоохранению :

- материалы XIII Всероссийской международной научной конференции студентов и молодых ученых-медиков. – Иваново, 2019. – С. 171–173.
57. Кованов В. В. Оперативная хирургия и топографическая анатомия: Учебник. – Медицина, 2001 – с. 408.
58. Ковязина, Н. А. Исследование физико-химических свойств пластин лекарственных на основе биodeградируемых криоструктурированных полимеров / Н. А. Ковязина // Медицинский альманах. – 2017. – № 6 (51). – С. 162–166.
59. Колышев, И. Ю. Особенности применения лазерного излучения при резекции печени (экспериментальное исследование) : автореферат дис. ... кандидата медицинских наук / И. Ю. Колышев. – Москва, 2015. – 23 с.
60. Комбинированные навигационные оперативные вмешательства у детей с солитарными кистами селезенки / О. А. Беляева, С. А. Кондрашин, Ю. А. Поляев [и др.] // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2016. – Т. 6, № 1. – С. 16–23.
61. Коренная, В. В. Использование гемостатического агента Тахокомб в практике акушера-гинеколога / В. В. Коренная // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2017. – Т. 17, № 1. – С. 113–117.
62. Коррекция нарушений иммунитета при экспериментальном спаечном процессе брюшной полости с использованием дерината и лонгидазы / В. А. Лазаренко, А. И. Бежин, В. А. Липатов [и др.] // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2010. – № 3. – С. 37–43.
63. Котельникова Л. П. Билиарные осложнения после резекции печени / Л. П. Котельникова, С. В. Гребенкина, Д. В. Трушников // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. – 2018. – № 8. – С. 99-106.
64. Криохирurgia новообразований печени / Н. В. Мерзликин, В. Ф. Цхай, Н. А. Бражникова [и др.] // Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии. – 2018. – Т. 17, №. 2. – С. 41–48.

65. Кыжыров, Ж. Н. Эндоскопические методы гемостаза при кровотечениях желудочно-кишечного тракта / Ж. Н. Кыжыров, А. Р. Сарсенгалиева, А. С. Туремуратова // Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2015. – № 2. – С. 290–293.
66. Левитин Е.Я., Бризицкая А.Н., Ключева Р.И. Общая и неорганическая химия. – Х.: Золотые страницы, 2002. – 536 с.
67. Магнитно-резонансная томография печени и селезенки в диагностике болезней накопления (обзор литературы) / А. А. Соловьева, Г. А. Яцык, У. Л. Джулакян, Е. А. Лукина // Онкогематология. – 2018. – Т. 13, № 2. – С. 100–104.
68. Маилова, К. С. Влияние степени кровотечения на спайкообразование и методы профилактики образования послеоперационных спаек в лапароскопической модели на мышах / К. С. Маилова, А. А. Осипова, Л. В. Адамян // Проблемы репродукции. – 2012. – № 2. – С. 18–22.
69. Маркосьян, С. А. Этиология, патогенез и профилактика спайкообразования в абдоминальной хирургии / С. А. Маркосьян, Н. М. Лысяков // Новости хирургии. – 2018. – Т. 26, № 6. – С. 735–744.
70. Маслова, Е. Н. Органосохраняющие операции при травмах селезенки у собак / Е. Н. Маслова, А. А. Кончакова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2017. – № 12-4 (66). – С. 79–82.
71. Массивные кровотечения при повреждениях печени у пострадавших с сочетанной травмой / А. В. Базаев, А. Р. Кокобелян, С. К. Королёв, А. Г. Родин // Журнал МедиАль. – 2015. – № 2 (16). – С. 11–14.
72. Мельникова, О. В. Иммуногистохимическое исследование по выявлению CD4-позитивных клеток селезенки на фоне длительного употребления кальция / О. В. Мельникова, В. Е. Сергеева // Acta Medica Eurasica. – 2015. – № 1. – С. 12-19.
73. Местные гемостатические средства и пути их совершенствования / Е. В. Будко, Д. А. Черникова, Л. М. Ямпольский, В. Я. Яцык // Российский

- медико-биологический вестник имени академика И. П. Павлова. – 2019. – Т. 27, № 2. – С. 274–285.
74. Минаева, Е. А. Интраоперационный метод лечения и профилактики спаечной болезни малого таза у пациенток с трубно-перитонеальным бесплодием : дис. ... канд. мед. наук / Е. А. Минаева. – Волгоград, 2015. – 133 с.
75. Мирский М. Б. История медицины и хирургии // М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2010. – Т. 528. – С. 48.
76. Можейко, Л. Ф. Маточные кровотечения пубертатного периода: диагностика, лечение, реабилитация : учебно-методическое пособие / Л. Ф. Можейко, И. А. Гузей. – Минск : БГМУ, 2016. – 24 с.
77. Молчанова, А. А. Кровоостанавливающие средства в гистологических препаратах / А. А. Молчанова, В. Б. Гринберг, К. Т. Кушиков // Вестник АГИУВ. – 2018. – № 2. – С. 23–26.
78. Насртдинов, И. Г. Противоспаечные способы обработки брюшной полости / И. Г. Насртдинов, Р. Э. Ишкинин, И. И. Гарипов // Новая наука: проблемы и перспективы. – 2016. – № 4-2. – 30–33.
79. Определение объема кровопотери при моделировании травм паренхиматозных органов с аппликацией новых гемостатических средств в эксперименте / А. Н. Майстренко, А. И. Бежин, В. А. Липатов, Г. М. Чижиков // Innova. – 2018. – №2 (11). – С. 12–14.
80. Опыт использования раневого покрытия “Тахокомб” при эхинококкозе печени / Ш. Ш. Амонов, М. И. Прудков, О. Г. Орлов [и др.] // Доклады Академии наук Республики Таджикистан. – 2013. – Т. 3, № 5. – С. 415–419.
81. Опыт клинического применения гемостатического средства «Гемоблок» в хирургической практике / А. И. Андреев, Р. А. Ибрагимов, М. В. Кузнецов [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, № 3. – С. 451–455.

82. Опыт применения противоспаечного барьера на основе гиалуроната натрия и карбоксиметилцеллюлозы в гинекологической хирургии / А. С. Молотков, Э. Н. Попов, А. О. Иванова, Е. В. Казанцева // Медицинский совет. – 2019. – № 13. – С. 149–153.
83. Опыт применения противоспаечного барьера при органосберегающих операциях в гинекологии / Н. А. Щукина, С. Н. Буянова, Е. Л. Бабунашвили, Н. Ю. Земскова // Медицинский алфавит. – 2017. – № 4 (37). – С. 10–13.
84. Опыт применения цифрового фотокоагулятора в хирургии печени / В. М. Тимербулатов, Ю. В. Богдасаров, В. М. Сибаев [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. – 2008. – Т. 13, № 3. – С. 29–30.
85. Особенности оказания стоматологической помощи пациентам с гемофилией и болезнью Виллебранда на амбулаторном хирургическом приеме / И. В. Русакова, М. П. Харитоновна, Е. В. Авхадыева, А. А. Зобнина // Актуальные направления научных исследований: от теории к практике. – 2015. – № 3. – С. 75–77.
86. Особенности течения острого панкреатита в условиях моделирования эффектов микрогравитации (экспериментальное исследование) / Д. Н. Панченков, М. В. Баранов, В. А. Логинов [и др.] // Анналы хирургической гепатологии. – 2009. – Т. 14, № 2. – С. 89–93.
87. Острая спаечная тонкокишечная непроходимость: лапаротомия или лапароскопия / И. С. Малков, Э. Б. Багаутдинов, И. Ф. Шарафисламов [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2018. – Т. 99, № 3. – С. 508–514.
88. Оценка эффективности гемостатического действия препарата «Гемоблок» при полостных и лапароскопических вмешательствах. Мультицентровые клинические исследования / А. В. Плоткин, Е. Ж. Покровский, Г. В. Воронова, К. А. Менглет // Вестник современной клинической медицины. – 2015. – Т. 8, № 1. – С. 56–61.
89. Патент 2289330 Российская Федерация, МПК А 61 В 17/03. Сетка для гемостаза паренхиматозных органов / Л. Л. Колесников, Ш. Р. Сабилов ;

- заявитель и патентообладатель ГОУ ВПО "Московский государственный медико-стоматологический университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию". – № 2005135007/14 ; заявл. 11.11.2005 ; опубл. 20.12.2006, Бюл. № 35.
90. Патент 2352584 Российская Федерация, МПК C08B 15/04, A61L 15/60. Способ получения геля на основе карбоксиметилцеллюлозы / Д. А. Вербицкий, В. А. Жуковский, В. Е. Немилов, И. В. Слепцов, И. И. Жуковская ; заявитель и патентообладатель Общество с ограниченной ответственностью "ЛИНТЕКС". – № 2007133376/04 ; заявл. 06.09.2007 ; опубл. 20.04.2009, Бюл. № 11.
91. Патент 2352940 Российская Федерация, МПК G01N 33/49. Способ сравнительной оценки тромборезистентных свойств хирургических шовных материалов / А. А. Нетяга, А. Н. Майстренко, А. И. Бежин, В. А. Липатов, Г. М. Чижиков, В. С. Белоус, М. С. Гомон, Е. А. Бобровская ; заявитель и патентообладатель А. А. Нетяга, А. Н. Майстренко. – № 2007123839/15 ; заявл. 25.06.2007 ; опубл. 20.04. 2009, Бюл. № 11.
92. Патент 2606181 Российская Федерация, МПК A61B 17/00. Способ зашивания раны паренхиматозного органа / А. Д. Каприн, В. Б. Филимонов, Р. В. Васин, А. А. Костин, А. С. Киндяков ; заявитель и патентообладатель А. Д. Каприн, В. Б. Филимонов, Р. В. Васин, А. А. Костин. – № 2015146549 ; заявл. 28.10.2015 ; опубл. 10.01.2017, Бюл. № 1.
93. Патент 2624812 Российская Федерация, МПК A61B 17/00, A61B 17/34. Способ лапароскопического дистального спленоренального анастомоза с перевязкой селезеночной артерии и деваскуляризацией желудка при портальной гипертензии / Б. Н. Котив, И. И. Дзидзава, С. Я. Ивануса, И. Е. Онницев, А. В. Слободяник, А. В. Смородский, С. А. Солдатов ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное военное образовательное учреждение высшего образования Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова Министерства обороны

- Российской Федерации (ВМедА). – № 2015150780 ; заявл. 26.11.2015 ; опубл. 06.07.2017, Бюл. № 19.
94. Патент 2649495 Российская Федерация, МПК А61В 17/00. Способ органосохраняющей операции на селезёнке / Э. Н. Праздников, В. В. Маховский, Д. Р. Зинатулин ; заявитель и патентообладатель Э. Н. Праздников, В. В. Маховский, Д. Р. Зинатулин. – № 2016148306 ; заявл. 09.12.2016 ; опубл. 03.04.2018, Бюл. № 10.
95. Патент 2691576 С1 Российская Федерация, МПК А61В 17/94, А61В 10/04. Способ комплексного эндоскопического пособия пациентам с осложнёнными формами инсульта / М. Л. Штейнер, А. В. Жестков, Ю. И. Биктагиров, Т. В. Белоусова, Н. Е. Лаврентьева, А. Д. Протасов ; заявитель и патентообладатель М. Л. Штейнер, А. В. Жестков, Ю. И. Биктагиров, Т. В. Белоусова, Н. Е. Лаврентьева, А. Д. Протасов. – № 2017144327 ; заявл. 18.12.2017 ; опубл. 14.06.2019, Бюл. № 17.
96. Пахлеваян, В. Г. Гемостаз в хирургии паренхиматозных органов брюшной полости. Обзор литературы / В. Г. Пахлеваян, С. А. Колесников // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2015. – № 1-2. – С. 50–56.
97. Первый опыт применения противоспаечного рассасывающегося полимерного средства «Мезогель» при остром аппендиците / В. А. Лазаренко, Б. С. Суковатых, А. И. Бежин [и др.] // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2011. – № 1. – С. 56–65.
98. Перспективы использования локального криогемостаза при травмах печени и селезёнки / В. В. Александров, С. С. Маскин, Л. А. Иголкина, Н. К. Ермолаева // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – № 7. – С. 45–51.
99. Плазменные потоки в хирургической практике / А. М. Шулутко, Э. Г. Османов, М. О. Чантурия, А. Д. Мачарадзе // Российский медицинский журнал. – 2018. – № 2. – С. 93–98.

100. Плотников, Ф. В. Комплексное лечение пациентов с гнойными ранами в зависимости от способности микроорганизмов-возбудителей формировать биопленку / Ф. В. Плотников // Новости хирургии. – 2014. – Т. 22, №. 5. – С. 575–581.
101. Плотникова, Т. А. Анализ ассортимента медицинских изделий, применяемых в современной терапии хронических ран во влажной среде (на примере продукции компании «Пауль Хартманн») / Т. А. Плотникова, Т. Г. Афанасьева // Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ : материалы 6-ой Международной научно-методической конференции «Фармообразование-2016». – Воронеж, 2016. – С. 457–462.
102. Подкаменев, В. В. Первичная профилактика аспленизма при травме селезенки у детей / В. В. Подкаменев, И. А. Пикало // Педиатрия. Журнал им. Г. Н. Сперанского. – 2015. – Т. 94, № 4. – С. 87–92.
103. Показатели кровоостанавливающей активности губок на основе карбоксиметилцеллюлозы / Ю. Е. Константинова, Н. В. Абросимова, К. А. Сотников [и др.] // Журнал научных статей здоровье и образование в 21 веке. – 2016. – № 18. – С. 142–144.
104. Преч Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных ; пер. с англ. Тарасевича Б. Н.. – Мир: БИНОМ. Лаб. Знаний, 2006 – 441 с.
105. Применение гемостатического средства «Фибринолат» для эмболизации сосудистого русла почки / И. Д. Дуб, В. Н. Бордаков, М. В. Доронин [и др.] // Военная медицина. – 2019. – № 1. – С. 41–44.
106. Применение генномодифицированных дермальных фибробластов кожи для лечения ожогов 3 степени / М. Н. Журавлева, Е. Ю. Закирова, А. Н. Валеева [и др.] // Гены и Клетки. – 2017. – Т. 12, № 3. – С. 97–97.
107. Применение нового гемостатического средства "гамастат" при паренхиматозном кровотечении в эксперименте / Н. И. Мельнова, И. С.

- Жаворонок, И. Н. Жук [и др.] // Военная медицина. – 2013. – № 2. – С. 22–66.
108. Применение препарата Тахокомб при лапароскопических операциях / И. Франко, Б. Н. Башанкаев, Б. Т. Юнусов [и др.] // Эндоскопическая хирургия. – 2017. – Т. 23, № 6. – С. 19–24.
109. Применение противоспаечного средства Протескал при операции по поводу спаечной острой тонкокишечной непроходимости / С. А. Степанян, Г. О. Сафарян, Р. Н. Месропян [и др.] // Эндоскопическая хирургия. – 2016. – Т. 22, № 3. – С. 25–27.
110. Применение стоматологических пленок при заболеваниях слизистой полости рта / С. В. Аверьянов, К. А. Хайрзаманова, И. Р. Исхаков, А. И. Исаева // Успехи современной науки. – 2017. – № 5 (1). – С. 99–104.
111. Применение транексамовой кислоты при кровотечениях в оториноларингологии / В. М. Авербух, М. З. Джафарова, Г. Б. Бебчук, К. С. Авдеева // Вестник оториноларингологии. – Т. 80, № 2. – С. 67–69.
112. Профилактика спайкообразования при гинекологических операциях на органах малого таза / П. Н. Веропотвелян, И. С. Цехмистренко, Н. П. Веропотвелян, С. А. Журавлева // Медицинские аспекты здоровья женщины. – 2015. – № 9. – С. 63–70.
113. Пшеницына, Е. В. Местное применение транексамовой кислоты при эндопротезировании коленного сустава / Е. В. Пшеницына, В. И. Загреков, Е. Е. Малышев // Травматология и ортопедия России. – 2016. – Т. 22, № 4. – С. 16–24.
114. Пышкин, С. А. Диагностический и лечебный алгоритм при объемных поражениях печени / С. А. Пышкин, Д. Л. Борисов, В. Г. Маслов // Непрерывное медицинское образование и наука. – 2015. – Т. 10, № S3. – С. 30–31.

115. Рагимов, Г. С. Новые гемостатические швы в хирургии паренхиматозных органов / Г. С. Рагимов // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. 18, № 4. – С. 111–113.
116. Рагимов, Г. С. Способы остановки кровотечения при повреждениях печени и селезенки / Г. С. Рагимов // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2010. – № 12. – С. 53–57.
117. Рагимов, Г. С. Топографо-анатомические предпосылки к разработке способов гемостаза на селезёнке / Г. С. Рагимов, Р. И. Рагимова // Хирургия и онкология: эксперимент и клиника : материалы научно-практической конференции. – 2019. – С. 67-70.
118. Реброва, О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Москва : МедиаСфера, 2002. – 305 с.
119. Репродуктивные исходы после хирургического лечения миомы матки / А. Е. Митичкин, Ю. Э. Доброхотова, Н. Ю. Иванников [и др.] // Медицинский сове. – 2019. – № 3. – С. 110–118.
120. Рохоев, М. А. Метод водоструйной диссекции при операциях по поводу солидных опухолей у детей / М. А. Рохоев, Т. А. Шароев // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2017. – № 4. – С. 91–100.
121. Рубцова, О. Ю. Усовершенствование методов реабилитации с целью коррекции фертильности при трубной беременности / О. Ю. Рубцова // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2013. – Т. 3, № 2. – С. 72.
122. Саковчук, О. А. Экспертная оценка повреждений паренхиматозных органов живота при травме тупыми предметами / О. А. Саковчук // Вестник судебной медицины. – 2015. – Т. 4, № 2. – С. 34–37.
123. Саркисов, Д. С. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов / Д.С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – Москва : Медицина, 1996. – 544 с.

124. Семенова, Е. А. Экспертная система хирурга экстренной помощи при лечении пациентов с тяжелыми повреждениями печени / Е. А. Семенова // Биотехносфера. – 2015. – № 4 (40). – С. 43–46.
125. Семичев, Е. В. Экспериментальная хирургия паренхиматозных органов (обзор литературы) / Е. В. Семичев, О. Ю. Бородин, П. С. Бушланов // Русский медицинский журнал. – 2012. – № 36. – С. 1743.
126. Сигуа Б. В. Сочетанная и изолированная травма живота с повреждением печени / Б. В. Сигуа, В. П. Земляной, А. К. Дюков // Вестник хирургии имени И.И. Грекова. – 2015. – Т. 174, № 1. – С. 9–15.
127. Сирота, О. М. Медикаментозная коррекция системы гемостаза при хирургическом лечении геморрагической формы апоплексии яичника / О. М. Сирота, А. П. Момот, Н. И. Фадеева // Бюллетень сибирской медицины. – 2008. – Т. 7, Приложение 2. – С. 139–145.
128. Случай эндоскопического применения препарата «Капрофер» для остановки легочного кровотечения / В. И. Малов, В. П. Мусорина, Л. Н. Скажутина, Л. Ю. Заворыкина // Вестник современной клинической медицины. – 2010. – Т. 3, Приложение 1. – С. 110.
129. Смоляр, А. Н. Закрытая травма живота. Повреждения печени. Часть 1 / А. Н. Смоляр // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2015. – № 12. – С. 5–13.
130. Смоляр, А. Н.. Закрытая травма живота. Повреждения селезенки. Часть 2 / А. Н. Смоляр // Хирургия. Журнал им. Н. И. Пирогова. – 2016. – № 2. – С. 4–10.
131. Современные возможности экстренной и неотложной рентгеноэндоваскулярной помощи при сосудистых посттравматических повреждениях : лекция / В. В. Бояринцев, Н. В. Закарян, А. А. Шелеско [и др.] // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2019. – № 1. – С. 105–115.

132. Современные кровоостанавливающие средства на догоспитальном этапе / В. В. Бояринцев, Л. И. Дежурный, А. В. Трофименко [и др.] // Кремлевская медицина. Клинический вестник. – 2015. – № 2. – С. 26–29.
133. Современные подходы к диагностике и интенсивной терапии кровотечений из острых язв желудка и двенадцатиперстной кишки / Н. В. Мешкова, Т. И. Березьянская, Е. Н. Образцова, И. А. Шibaева // Многопрофильный стационар. – 2017. – Т. 4, № 2. – С. 100–103.
134. Современные подходы к хирургическому лечению опухолей печени / С. В. Лунев, В. Ю. Сельчук, С. С. Чистяков [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2011. – № 2. – С. 44.
135. Современные представления о комплектовании индивидуального медицинского оснащения личного состава силовых ведомств и правоохранительных органов в условиях чрезвычайных ситуаций мирного времени и локальных войн / В. И. Логинов, Ю. В. Толмосов, А. Г. Ботяков [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 2. – С. 170.
136. Современные тенденции применения локальных аппликационных кровоостанавливающих средств / В. А. Липатов, М. П. Ершов, К. А. Сотников [и др.] // Innova. – 2016. – Т. 2 (3). – С. 64–69.
137. Современные технологии в хирургическом лечении последствий травмы черепа и головного мозга / А. А. Потапов, В. Н. Корниенко, А. Д. Кравчук [и др.] // Вестник Российской академии медицинских наук. – 2012. – Т. 67, № 9. – С. 31–38.
138. Создание новых гемостатических покрытий локального действия на основе альгината натрия / Г. Г. Белозерская, Д. Ю. Бычичко, В. А. Кабак [и др.] // Клиническая физиология кровообращения. – 2018. – Т. 15, № 3. – С. 222–229.
139. 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.
140. Состояние сосудисто-тромбоцитарного звена системы гемостаза в отдаленном послеоперационном периоде у детей, оперированных на селезенке / В. В. Масляков, В. Г. Барсуков, А. Н. Памлуха, Д. В. Бочкарев // Вестник медицинского института «Реавиз»: реабилитация, врач и здоровье. – 2015. – № 1(17). – С. 45–49.
141. Спаечная болезнь брюшной полости / А. А. Андреев, А. П. Остроушко, Д. В. Кирьянова // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2017. – Т. 10, № 4. – С. 320–326.
142. Спаечный процесс в брюшной полости: история изучения, классификация, патогенез (обзор литературы) / Л. В. Адамян, А. В. Козаченко, Л. М. Кондратович // Проблемы репродукции. – 2013. – № 6. – С. 7–13.
143. Спленэктомия при разрыве селезенки в результате закрытой травмы живота (клинический случай) / М. Э. Кулемин, А. А. Чернова, С. Н. Стяжкина [и др.] // Академический журнал. – 2019. – № 3(40). – С. 79–81.
144. Сравнительная характеристика методов местного гемостаза при кровотечении из печени в эксперименте / В. Н. Бордаков, М. В. Доронин, Д. С. Савицкий [и др.] // Медицинский журнал. – 2009. – № 3. – С. 16–18.
145. Сравнительная эффективность аппликационных гемостатических средств местного действия при остановке экспериментального паренхиматозного и артериального кровотечения / В. В. Давыденко, Т. Д. Власов, И. Н. Доброскок [и др.] // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2015. – Т. 8, № 2. – С. 186–194.
146. Сравнительный анализ методов гемостаза при операциях на селезенке / Е. В. Семичев, А. Н. Байков, П. С. Бушланов, Г. Ц. Дамбаев // Бюллетень сибирской медицины. – 2015. – Т. 14, № 2. – С. 91–99.
147. Сравнительный анализ методов профилактики рубцово-спаечного эпидурита при микродискэктомиях на пояснично-крестцовом отделе

- позвоночника / Д. М. Завьялов, П. О. Владимир, М. Н. Кравцов, К. Н. Бабичев // Хирургия позвоночника. – 2018. – Т. 15, № 2, – С. 56–65.
148. Стрижельчик, Н. Г. Оценка мутагенной активности новых вспомогательных фармацевтических веществ на млекопитающих / Н. Г. Стрижельчик // Вестник Харьковского национального университета имени В. Н. Каразина. Серия «Медицина». – 2000. – № 1 (494). – С. 63–67.
149. Тагиева, Ф. Р. Гемостатические средства местного действия в стоматологической практике / Ф. Р. Тагиева // Здравоохранение. – 2015. – № 1. – С. 27–31.
150. Ткаченко, Л. В. Способ профилактики спаечной болезни после миомэктомии / Л. В. Ткаченко, Н. И. Свиридова, Р. Р. Хохлова // Вестник Волгоградского государственного медицинского университета. – 2019. – № 3 (71). – С. 70–73.
151. Травматические внутриорганные гематомы печени и селезёнки / В. М. Тимербулатов, А. А. Халиков, Ш. В. Тимербулатов [и др.] // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. – 2015. – Т. 174, № 3. – С. 43–49.
152. Трескова, В. И. Взаимодействие натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы с аллиламином / В. И. Трескова, О. Т. Шипина, С. М. Романова // Вестник Казанского технологического университета. – 2016. – Т. 19, № 15. – С. 184–187.
153. Успешная эмболизация селезеночной артерии при лечении рецидивирующего кровотечения из варикозно расширенных вен желудка при левосторонней портальной гипертензии / Э. В. Могилевец, Л. Ф. Васильчук, А. А. Сушко, О. Н. Могилевец // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2017. – № 5. – С. 20–26.
154. Установление структурных особенностей кровоостанавливающих имплантов на основе натрий-карбоксиметилцеллюлозы с помощью световой микроскопии / В. А. Липатов, Н. Н. Григорьев, С. В. Лазаренко

- [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 6. – С. 83.
155. Характеристика регенераторной способности печени (по экспрессии ki-67) у больных с неблагоприятными исходами хронических вирусных гепатитов / К. Е. Новак, В. Е. Карев, Н. В. Дунаева, Е. В. Эсауленко // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 6. – С. 138-143
156. Хирургическая тактика при травматических повреждениях печени / Р. Ш. Шаймарданов, Р. Ф. Губаев, С. З. Шарафиев [и др.] // Вестник современной клинической медицины. – 2015. – Т. 8, Приложение 1. – С. 104–108.
157. Хирургические операции на печени, желчных путях и поджелудочной железе. Часть II. Хирургия желчных путей / Ю. А. Пархисенко, А. И. Жданов, В. Ю. Пархисенко, Р. С. Калашник // Анналы хирургической гепатологии. – 2018. – Т. 20, № 1. – С. 137–149.
158. Хирургия печени: от истоков развития до современных возможностей / С. В. Перескоков, А. В. Дмитриев, В. С. Грошилиин [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 5. – С. 170–170.
159. Хубутя, А. Ш. История отечественной трансплантологии, приоритеты и особенности развития / А. Ш. Хубутя, С. А. Кабанова // Трансплантология. – 2011. – № 1. – С. 55–64.
160. Цыплаков, К. Г. Первый опыт применения отечественного лекарственного средства Фибринолат Мв комбинации с механическим швом для формирования колоректального соустья в условиях лапароскопически ассистированной операции / К. Г. Цыплаков, В. Л. Денисенко, Ю. М. Гаин // Хирургия. Восточная Европа. – 2019. – Т. 8, № 4. – С. 540–548.
161. Чарышкин, А. Л. Устройство для гидроплазменной коагуляции биологических тканей / А. Л. Чарышкин, М. А. Котов // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4. – С. 341–341.

162. Чарышкин, А. Л. Хирургическое лечение травматических повреждений паренхиматозных органов брюшной полости / А. Л. Чарышкин, М. Р. Гафиуллов, В. П. Демин // Креативная хирургия и онкология. – 2012. – № 1. – С. 81–83.
163. Черкова, Н. В. Эффективность использования ультразвукового скальпеля при лапароскопической холецистэктомии / Н. В. Черкова // Медицина сьогодні і завтра. – 2015. – № 2 (67). – С. 113–118.
164. Ыдырысов, И. Т. Результаты нейрохирургического лечения при сочетанной черепно-мозговой травме / И. Т. Ыдырысов, К. Б. Ырысов // Синергия. – 2018. – № 2. – С. 59–66.
165. Экспериментальное изучение новых средств местного гемостаза в хирургии печени и селезенки / Г. М. Чижиков, А. И. Бежин, А. В. Иванов // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". – 2011. – № 1. – С. 19–25.
166. Экспериментальное исследование противоспаечной эффективности d-пенициллина в сочетании с Мезогелем при различных способах введения / В. А. Лазаренко, В. А. Липатов, А. М. Ефременков [и др.] // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2011. – № 4. – С. 56–65.
167. Экспериментальное моделирование ВЗК in vivo / А. Ю. Адамович, О. Г. Дыбов, А. М. Старостин [и др.] // Колопроктология – 2019. – Т. 18, № 3. – С. 78-78.
168. Экспериментальное обоснование кровоостанавливающего эффекта 3% геля карбоксиметилцеллюлозы / А.И. Бежин, Д.С. Солдатова, И.В. Литвиненко [и др.] // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2018. – № 4. – С. 72–79.
169. Эндovasкулярная эмболизация селезеночной артерии в профилактике и лечении последствий портальной гипертензии / Ш. И. Каримов, М. Ш. Хакимов, У. И. Маткулиев [и др.] // Вестник экстренной медицины. – 2015. – № 4. – С. 20–26.

170. Эндовидеохирургия при закрытых травмах органов брюшной полости у детей / Х. А. Акилов, Х. П. Алимова, Ф. Ш. Примов // Роль больниц скорой помощи и научно исследовательских институтов в снижении предотвратимой смертности среди населения : материалы 4-го съезда врачей неотложной медицины с международным участием. – Москва, 2018. – С. 233–234.
171. Эндоскопический гемостаз при кровотечении из верхних отделов желудочно-кишечного тракта / А. В. Кузнецов, А. А. Архипова, С. С. Йолчиев [и др.] // Междисциплинарные аспекты многопрофильной клиники: диагностика, лечение, профилактика : материалы научно-практического образовательного форума. – Новосибирск, 2018. – С. 72–78.
172. Эффективность антиспаечного средства с барьерным действием «Мезогель» после рассечения спаек у пациентов с острой спаечной кишечной непроходимостью / Б. С. Суковатых, А. Д. Мясников, А. И. Бежин [и др.] // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. – 2008. – Т. 167, № 5. – С. 29–32.
173. Эффективность применения препарата «Мезогель» при эндоназальной эндоскопической дакриоцисториностомии / Е. Л. Атькова, Н. Н. Краховецкий, В. Д. Ярцев, А. О. Роот.// Точка зрения. Восток-Запад. – 2015. – № 1. – С. 222–224.
174. Эффективность различных форм местных гемостатических материалов на основе окисленной целлюлозы в эксперименте / А. Р. Таркова, А. М. Чернявский, И. А. Григорьев [и др.] // Вестник хирургии имени И. И. Грекова. – 2015. – Т. 174, № 6. – С. 56–59.
175. A multicentre, prospective, randomized, controlled study to evaluate the use of a fibrin sealant as an adjunct to sutured dural repair / A. L. Green, A. Arnaud, J. Batiller [et al.] // British journal of neurosurgery. – 2015. – Vol. 29, Iss. 1. – P. 11–17.

176. A prospective randomized controlled trial comparing N-butyl-2 cyanoacrylate (Histoacryl), octyl cyanoacrylate (Dermabond), and subcuticular suture for closure of surgical incisions / S. L. Koonce, D. L. Eck, K. K. Shaddix, G. Perdakis // *Annals of plastic surgery*. – 2015. – Vol. 74, Iss. 1. – P. 107–110.
177. A randomized controlled trial on the hemostasis of femoral artery using topical hemostatic agent / S. S. Kordestani, F. Noohi, H. Azarnik [et al.] // *Clin Appl Thromb Hemost*. – 2012. – Vol. 18, Iss. 5. – P. 501–505.
178. Alginate-based composite materials for wound dressing application: a mini review / K. Varaprasad, T. Jayaramudu, V. Kanikireddy [et al.] // *Carbohydrate Polymers*. – 2020. – Vol. 236, Iss. 15. – P. 116025.
179. Bleeding after prostatectomy: endovascular management / A. M. Ierardi, M. L. Jannone, P. M. Brambillasca [et al.] // *Gland Surgery*. – 2019. – Vol. 8, Iss. 2. – P. 108.
180. Bleeding-related complications and readmission rates associated with fibrin sealant use in patients undergoing coronary artery bypass graft surgery in the United States / Y. Wan, S. Lim, X. Gao [et al.] // *Journal of Cardiothoracic and Vascular Anesthesia*. – 2017. – Vol. 31, Iss. 3. – P. 876–882.
181. Blunt splenic injury: use of a multidetector CT-based splenic injury grading system and clinical parameters for triage of patients at admission / N. Saksobhavit, K. Shanmuganathan, H. H. Chen [et al.] // *Radiology*. – 2015. – Vol. 274, Iss. 3. – P. 702–711.
182. Brundage, C. M. Magnetic resonance imaging appearance and mechanism of action of five hemostatic agents used in neurosurgery / C. M. Brundage, R. A. Packer, M. D. Jones // *Veterinary Surgery*. – 2016. – Vol. 45, Iss. 8. – P. 996–1004.
183. Celox-coated gauze for the treatment of civilian penetrating trauma: a randomized clinical trial / H. R. Hatamabadi, F. A. Zarchi, H. Kariman [et al.] // *Trauma monthly*. – 2015. – № 20(1).

184. Comparison between resection, bipolar coagulation and Plasmajet: A preliminary animal study / N. Bourdel, P. Chauvet, H. Roman, B. Pereira // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod Biol.* – 2017. – Vol. 211, Iss. 10. – P. 127–133.
185. Comparison of A 1940 nm Thulium-Doped Fiber Laser and A 1470 nm Diode Laser for Cutting Efficacy and Hemostasis in A Pig Model of Spleen Surgery / B. Żywicka, Z. Rybak, M. Janeczek 2 [et al.] // *Materials.* – 2020. – Vol. 13, Iss. 5. – P. 1167.
186. Comparison of adhesion prevention capabilities of the modified starch powder-based medical devices 4DryField PH and Arista™ AH in the Optimized Peritoneal Adhesion Model / D. Poehnert, L. Neubert, J. Klempnauer [et al.] // *International journal of medical sciences.* – 2019. – Vol.16, Iss. 10. – P. 1350.
187. Comparison the efficacy of hemorrhage control of Surgiflo Haemostatic Matrix and absorbable gelatin sponge in posterior lumbar surgery: a randomized controlled study / L. Ma, L. Dai, Y. Yang, H. Liu // *Medicine.* – 2018. – Vol. 97, Iss. 49. – P. 1–5.
188. Controlled Hemostasis in Thoracic Surgery Using Drugs with Oxidized Cellulose / P. Habal, N. Omran, J. Mand'ak [et al.] // *Acta Medica (Hradec Kralove).* – 2011. – Vol. 54, Iss. 4. – P. 153–156.
189. Cook, K. A. Patch testing ingredients of dermabond and other cyanoacrylate-containing adhesives / K. A. Cook, A. A. White, D. W. Shaw // *Dermatitis.* – 2019. – Vol. 30, Iss. 5. – P. 314–322.
190. Cost-consequence analysis of different active flowable hemostatic matrices in cardiac surgical procedures / D. Makhija, M. Rock, Y. Xiong [et al.] // *Journal of Medical Economics.* – 2017. – Vol. 20, Iss. 6. – P. 565–573.
191. Davis, M. D. Severe allergic contact dermatitis to Dermabond Prineo, a topical skin adhesive of 2-octyl cyanoacrylate increasingly used in surgeries to close wounds / M. D. Davis, M. J. Stuart // *Dermatitis.* – 2016. – Vol. 27, Iss. 2. – P. 75–76.

192. Faivre, P. Multi European country cost consequence comparison of Floseal matrix and Surgiflo thrombin in major and severe spine surgeries / P. Faivre, S. Laplante, H. Kreuwel // *Value in Health*. – 2015. – Vol. 18, Iss. 7. – P. A370.
193. Farber, F. R. Atraumatic splenic rupture from Babesia: A disease of the otherwise healthy patient / F. R. Farber, A. Muehlenbachs, T. E. Robey // *Ticks and Tick-borne Diseases*. – 2015. – Vol. 6, Iss. 5. – P. 649–652.
194. Gugenheim, J. A randomized controlled trial comparing fibrin glue and PlasmaJet on the raw surface of the liver after hepatic resection / J. Gugenheim, L. Bredt, A. Iannelli // *Hepatogastroenterology*. – 2011. – Vol. 58, Iss. 107. – P. 922–925.
195. Hemostatic agents in dentistry / A. Mani, R. Anarthe, P. Kale [et al.] // *Galore International Journal of Health Sciences & Research*. – 2018. – Vol. 3. – P. 40–46.
196. Hoffman M., A cell-based model of hemostasis / M. Hoffman, D. M. Monroe III // *Thrombosis and haemostasis*. – 2001. – Vol. 85, Iss. 06. – P. 958-965.
197. Hyaluronic acid-carboxymethylcellulose reduced postoperative bowel adhesions following laparoscopic urologic pelvic surgery: a prospective, randomized, controlled, single-blind study / U. S. Ha, J. S. Koh, K. J. Cho [et al.] // *BMC urology*. – 2016. – Vol. 16, Iss. 1. – P. 28.
198. Intraoperative injection of combined fibrin sealant and methylene blue dye for surgery of branchial cleft cysts: A case report / P. Pitak-Arnnop, K. Subbalekha, N. Sirintawat [et al.] // *Journal of stomatology, oral and maxillofacial surgery*. – 2019. – Vol. 120, Iss. 4. – P. 378–382.
199. Loffroy, R. Glubran2, Histoacryl or Trufill: Which cyanoacrylate glue for endovascular use? / R. Loffroy // *Diagnostic and interventional imaging*. – 2016. – Vol. 97, Iss. 1. – P. 119.
200. Masel, J. L. Transurethral Use of Evicel Fibrin Sealant / J. L. Masel // *Urology case reports*. – 2015. – Vol. 4. – P. 5–7.

201. MP S. K. Local hemostatic agents in the management of bleeding in oral surgery / MP S. K. // *Asian J Pharm Clin Res.* – 2016. – Vol. 9, Iss. 3. – P. 35 – 41.
202. Patentees 2696575 Haemostatic powders of oxidised regenerated cellulose and methods for production thereof / Wang Y., Zhang G. authors; Ethicon, INC, (The United States of America patent US 2017 128 652.), 04.02.2019.
203. Quaternary ammonium groups modified starch microspheres for instant hemorrhage control / F. Chen, X. Cao, J. Yu [et al.] // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* – 2017. – Vol. 159. – P. 937–944.
204. Silva, W. T. Spontaneous splenic rupture during the recovery phase of dengue fever / W. T. Silva, M. Gunasekera // *BMC Res Notes.* – 2015. – Vol. 8. – P. 286.
205. Spontaneous splenic rupture in a patient with congenital afibrinogenemia / B. C. Arcagök, N. Özdemir, A. Tekin [et al.] // *Turkish Archives of Pediatrics.* – 2014. – Vol. 49, Iss. 3. – P. 247–249.
206. Spontaneous splenic rupture in a vivax malaria case treated with transcatheter coil embolization of the splenic artery / N. H. Kim, K. H. Lee, Y. S. Jeon [et al.] // *Korean Journal of Parasitology.* – 2015. – Vol. 53, Iss. 2. – P. 215–218.
207. Superabsorbent sponge and membrane prepared by polyelectrolyte complexation of carboxymethyl cellulose/hydroxyethyl cellulose- Al^{3+} / Y. Liu, Y. Chen, Y. Zhao [et al.] // *Bioresources.* – 2015. – Vol. 10, Iss. 4. – P. 6479–6495.
208. The rate of success of the conservative management of liver trauma in a developing country / S. Buci, M. Torba, A. Gjata [et al.] // *World Journal of Emergency Surgery.* – 2017. – Vol. 12, , Iss. 7. – P. 24–31.
209. The use of Tisseel™ fibrin sealant in selective neck dissection—a retrospective study in a tertiary Head and Neck Surgery centre / E. Mushi, A.

- Kinshuck, N. Svecova [et al.] // *Clinical Otolaryngology*. – 2015. – Vol. 40, Iss. 2. – P. 93–97
210. Topical hemostatic agents / L. Revelli, S. E. Tempera, C. Bellantone [et al.] // *Minimally invasive therapies for endocrine neck diseases*. – Springer, Cham, 2016. – C. 249-259.
211. Type IV hypersensitivity reactions following Dermabond adhesive utilization in knee surgery: A Report of Three Cases / M. Yagnatovsky, H. Pham, A. Rokito [et al.] // *The Physician and sportsmedicine*. – 2017. – Vol. 45, Iss. 2. – P. 195-198.
212. Use of a fibrin sealant within a blood-saving protocol in patients undergoing revision hip arthroplasty: effects on post-operative blood transfusion and healthcare-related cost analysis / M. Scardino, F. Martorelli, T. D'Amato [et al.] // *International orthopaedics*. – 2019. – Vol. 43, Iss. 12. – P. 2707–2714.
213. Use of chitosan-covered gauze (Celox) in 98 cases of severe postpartum hemorrhage--a multicenter registry analysis / A. K. Beckerath, H. Maul, G. Gebauer [et al.] // *American Journal of Obstetrics & Gynecology*. – 2016. – Vol. 214, Iss. 1. – P. S269.
214. Waweru, P. Complicated malaria and a covert ruptured spleen: a case report / P. Waweru, J. Macleod, A. Gikonyo // *International Journal of Surgery Case Reports*. – 2014. – Vol. 11. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4229653/>
215. WSES classification and guidelines for liver trauma / F. Coccolini, F. Catena, E. E. Moore [et al.] // *World Journal of Emergency Surgery*. – 2016. – Vol. 10, Iss. 11. – P. 50.