

## ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ ТКАНЕЙ НА ПРИМЕНЕНИЕ МЕСТНЫХ КРОВООСТАНАВЛИВАЮЩИХ СРЕДСТВ В ФОРМЕ ПОРОШКА IN VIVO

Липатов В.А.<sup>1</sup>, Циленко К.С.<sup>2</sup>, Денисов А.А.<sup>1</sup>, Кондакова П.Д.<sup>1</sup>, Похожай В.В.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России», Курск, e-mail: denisovaa@kursksmu.net;

<sup>2</sup>Европейский центр медицины, Москва;

<sup>3</sup>УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель

Имеющийся сегодня перечень местных гемостатиков с разнообразными механизмами воздействия на свертывающую систему крови разнообразен по своему химическому строению и составу, при этом особого внимания заслуживают применяемые интраоперационно кровоостанавливающие средства из производных целлюлозы. Цель исследования – сравнительная оценка выраженности спаечного процесса в качестве реакции тканей на применение местных кровоостанавливающих средств в форме порошка в хроническом эксперименте in vivo. В ходе исследования использовались кролики-самцы массой 3-3,5 кг, n=30. Животные равномерно были поделены на контрольную (№ 1) и две опытные группы согласно объектам исследования: № 2 (ARISTA AN), № 3 (Na-КМЦ medium viscosity). Оперативное вмешательство проводили под контролем видеоэндоскопического оборудования. После стандартной обработки операционного поля в стерильных условиях в мезогастррии при помощи иглы Veresh выполняли пункцию брюшной полости, накладывали карбоксиперитонеум с предустановленными параметрами. С помощью 5-мм эндоскопических ножниц проводили тангенциальную резекцию паренхимы средней доли печени. Исследуемые образцы под давлением распыляли на раневую поверхность. Каждому животному была проведена контрольно-диагностическая лапароскопия (КДЛ) на 1-е, 3-и и 7-е сутки после моделирования травмы печени. Частота встречаемости спаечного процесса и локализация спаечных сращений оценивались макроскопически. Животные были выведены из эксперимента под наркозом методом цервикальной дислокации на 14-е послеоперационные сутки. В ходе выполненного экспериментального исследования на кроликах выяснено, что в группе ГП на основе Na-КМЦ по сравнению с другими группами наблюдался наименее выраженный спаечный процесс. На 7-е послеоперационные сутки лишь у одного кролика из десяти наблюдались спаечные сращения с вовлечением большого сальника, которые были разделены диссектором без технических сложностей и кровотечения.

Ключевые слова: гемостаз, хирургия, паренхиматозное кровотечение, гемостатический порошок, спаечный процесс.

## IN VIVO STUDY OF TISSUE RESPONSE TO THE APPLICATION OF LOCAL HEMOSTATIC AGENTS IN POWDER FORM

Lipatov V.A.<sup>1</sup>, Tsilenko K.S.<sup>2</sup>, Denisov A.A.<sup>1</sup>, Kondakova P.D.<sup>1</sup>, Pokhozhay V.V.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>FGBOU VO "Kursk State Medical University» Ministry of Health of Russia", Kursk, e-mail: denisovaa@kursksmu.net;

<sup>2</sup>European Center of Medicine, Moscow;

<sup>3</sup>EE "Gomel State Medical University", Gomel

The list of local hemostatics available today with various mechanisms of action on the blood coagulation system is diverse in its chemical structure and composition, while intraoperatively used hemostatic agents from cellulose derivatives deserve special attention. The purpose of the study was a comparative assessment of the severity of the adhesive process as a tissue reaction to the use of local hemostatic agents in the form of a powder in a chronic experiment in vivo. The purpose of the study was a comparative assessment of the severity of the adhesive process as a tissue reaction to the use of local hemostatic agents in the form of a powder in a chronic experiment in vivo. The study used male rabbits weighing 3-3.5 kg, n=30. Animals were evenly divided into control (No. 1) and two experimental groups according to the objects of study: No. 2 (ARISTA AN), No. 3 (Na-CMC medium viscosity). Surgery was performed under the control of video endoscopic equipment. After the standard processing of the surgical field under sterile conditions in the mesogastrium, a puncture of the abdominal cavity was performed using a Veresh needle, and a carboxyperitoneum was applied with preset parameters. Using 5 mm endoscopic scissors, tangential resection of the parenchyma of the middle lobe of the liver was performed. The studied samples were sprayed under pressure on the wound surface. Each animal underwent control and diagnostic laparoscopy (CDL) on the 1st, 3rd and 7th days after the modeling of liver injury. The frequency of occurrence of the adhesive process and the localization of adhesive adhesions were assessed macroscopically. Animals were withdrawn from the experiment under anesthesia by cervical dislocation on the 14th postoperative day. In the course of the experimental study on rabbits, it was found that in the GP group based on Na-CMC, compared with other groups,

**the least pronounced adhesive process was observed. On the 7th postoperative day, only one out of ten rabbits had adhesive adhesions involving the greater omentum, which were separated by a dissector without technical difficulties and bleeding.**

---

Keywords: hemostasis, surgery, parenchymal bleeding, hemostatic powder, adhesive process.

Современные требования, которые предъявляются к алгоритму выполнения оперативного вмешательства, подразумевают в том числе сокращение времени выполнения хирургической операции, повышение её результативности, снижение риска развития осложнений и уменьшение расходов, в частности трансфузионных средств [1-3]. Данные условия возможно соблюсти только при помощи адекватного интраоперационного гемостаза. Особенно это касается вмешательств на паренхиматозных органах, поскольку капиллярное кровотечение опасно при травмах, например печени и селезенки, наблюдается массивное кровотечение, которое сложно диагностируется на ранних этапах, но при этом приводит к массивной кровопотере и летальному исходу.

Доступный в настоящее время спектр гемостатических средств, обладающих различными механизмами действия, разнообразен по своему химическому строению и составу. В качестве матрицы для производства данных медицинских изделий традиционно используют коллаген и его гидролизаты (желатин, окисленную форму целлюлозы), фибрин, альбумин, различные виды полисахаридов, неорганические вещества, различные полимеры растительного происхождения, а также синтетические химические соединения и многие другие [4-6].

Применяющиеся интраоперационно гемостатические средства из таких производных целлюлозы, как окисленная форма полимера, метилцеллюлоза, карбоксиметилцеллюлоза, заслуживают особого внимания. Биологическая инертность обуславливает отсутствие местной реакции окружающих тканей. Неоспоримым преимуществом аппликационных гемостатических средств на основе производных целлюлозы являются высокие темпы биodeградации, приводящие к элиминации полимера, не обеспечивая длительный эффективный гемостаз [7]. В свою очередь, коллаген способен вызвать реакцию местных тканей в ответ на имплантацию средств на его основе, однако он обладает более низкими темпами биodeградации, что позволяет пролонгировать гемостатический эффект [8].

Цель исследования: сравнительная оценка выраженности спаечного процесса в качестве реакции тканей на применение местных кровоостанавливающих средств в форме порошка в хроническом эксперименте *in vivo*.

**Материал и методы исследования.** Исследование проводили на самцах-кроликах породы советская шиншилла массой 3-3,5 кг, n=30. Животные были равномерно распределены на группы согласно объектам исследования: гемостатические порошки Arista АН (далее – группа № 2), натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы (NaКМЦ) *medium viscosity* (далее –

группа № 3). В качестве контроля использовали коагуляционный метод остановки кровотечения (группа № 1).

Исследование выполняли под контролем регионального этического комитета при ФГБОУ ВО «КГМУ» Минздрава России (протокол № 3 от 16.11.2020 г.) с соблюдением национальных и международных стандартов гуманного обращения с животными, используемыми в экспериментальных целях. Все исследования проводились в асептических условиях операционного блока под наркозом лаборатории экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины КГМУ. Животные содержались на базе экспериментально-биологической клиники КГМУ, где они на всем протяжении эксперимента имели круглосуточный доступ к пище и воде [9].

Для подготовки к операции животных фиксировали на операционном столе в положении лежа на спине. С целью проведения общей анестезии применяли ингаляционный масочный наркоз (концентрация изофлюрана во вдыхаемой газовой смеси – 3%, поток воздуха – 1 л/мин.) [9].

Оперативное вмешательство проводили под контролем видеоэндоскопического оборудования. После стандартной обработки операционного поля в стерильных условиях в мезогастррии при помощи иглы Veresh была выполнена пункция брюшной полости, наложен карбоксиперитонеум с предустановленными параметрами инсуффляции (давление 7 мм рт. ст., поток 1 л/мин.). Ревизию брюшной полости с идентификацией печени проводили при помощи 5-мм эндоскопа, введенного через 5-мм троакар. Затем для инструментов-манипуляторов последовательно устанавливали 2 троакара диаметром 3 и 5 мм [10].

При помощи 3-мм эндоскопического зажима и 5-мм ножниц выполняли тангенциальную резекцию паренхимы средней доли печени и радиально, отступая от нижнего края доли 12 мм (длина браншей 3-мм эндоскопического зажима). Затем, путем помещения гемостатического порошка (ГП) в замкнутую герметичную ёмкость с двумя отверстиями, при помощи подключенного к одному из отверстий компрессору в данной емкости создавали повышенное давление. В режиме постоянной подачи давления порошок распыляли на раневую поверхность при помощи 5-мм поливинилхлоридной трубки, подведенной через лапароскопический порт и подключенной к емкости с порошком. В послеоперационном периоде антибактериальная терапия животным не проводилась.

Каждому животному была проведена контрольно-диагностическая лапароскопия (КДЛ) на 1-е, 3-и и 7-е сутки после моделирования травмы печени. Макроскопически оценивали: морфологию и выраженность спаечного процесса по методам, разработанным профессором Липатовым В.А. [11], распространенность спаечных сращений по модифицированному методу, предложенному О.И. Блинниковым. Животные были выведены

из эксперимента под наркозом методом цервикальной дислокации на 14-е послеоперационные сутки [12; 13].

При сравнении данных, полученных в ходе выполнения контрольно-динамической лапароскопии, с учетом их качественного оценочного характера и применения балльной системы для определения уровня статистической значимости использовали критерий  $\chi^2$  [10]. Считали допустимой для экспериментальных медико-биологических исследований ошибку 5% (уровень  $p \leq 0,05$ ). В качестве программного обеспечения использовали программу Statistica 13.0 pro (производитель Dell Software Company, Round Rock, Texas, United States of America) [14; 15].

**Результаты исследования и их обсуждение.** При оценке морфологии и распространенности спаечного процесса по результатам эксперимента в каждой из исследуемых групп были получены результаты, представленные в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Распространенность спаечного процесса в брюшной полости лабораторных животных, n

№ группы	Название группы	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
1.	Электрокоагуляция	0	2	3
2.	Arista АН	0	2	1
3.	NaКМЦ medium viscosity	0	1	1
p1		-	-	0,33
p2		-	0,45	0,37
p3		-	0,51	-

Примечание: \* – статистически значимые значения ( $p \leq 0,05$ ), p1 – показатель статистической значимости при сравнении групп № 1 и № 2, p2 – показатель статистической значимости при сравнении групп № 1 и № 3, p3 – показатель статистической значимости при сравнении групп № 2 и № 3.

Таблица 2

Морфология спаек в брюшной полости лабораторных животных, n

№ группы	Название группы	1-е сутки	3-и сутки	7-е сутки
1.	Электрокоагуляция	0	3	4
2.	Arista АН	0	1	2
3.	NaКМЦ medium viscosity	0	0	1
p1		-	-	0,61
p2		-	0,79	0,58
p3		-	0,37	-

Примечание: \* – статистически значимые значения ( $p \leq 0,05$ ),  $p1$  – показатель статистической значимости при сравнении групп № 1 и № 2,  $p2$  – показатель статистической значимости при сравнении групп № 1 и № 3,  $p3$  – показатель статистической значимости при сравнении групп № 2 и № 3.

При межгрупповом сравнении результатов фото- и видеоданных, полученных в ходе КДЛ, в группе № 1 на 1-е послеоперационные сутки отсутствовали активное кровотечение и признаки спаечного процесса, однако в брюшной полости у восьми кроликов отмечалось небольшое количество свободной, еще нелизированной крови (рис. 1А).

На 3-и сутки после моделирования травмы у восьми животных из десяти группы № 1 в месте резекции определяются грубые спаечные сращения с вовлечением большого сальника, при разделении диссектором которых отмечается кровотечение (рис. 1Б). Во всех случаях паренхима в зоне резекции ишемизирована, что подтверждается макроскопическими изменениями по сравнению с интактной тканью. В перифокальной зоне определяются мелкие очаги гемолиза алого цвета. У пяти кроликов в левых отделах брюшной полости расположены организованные сгустки крови.

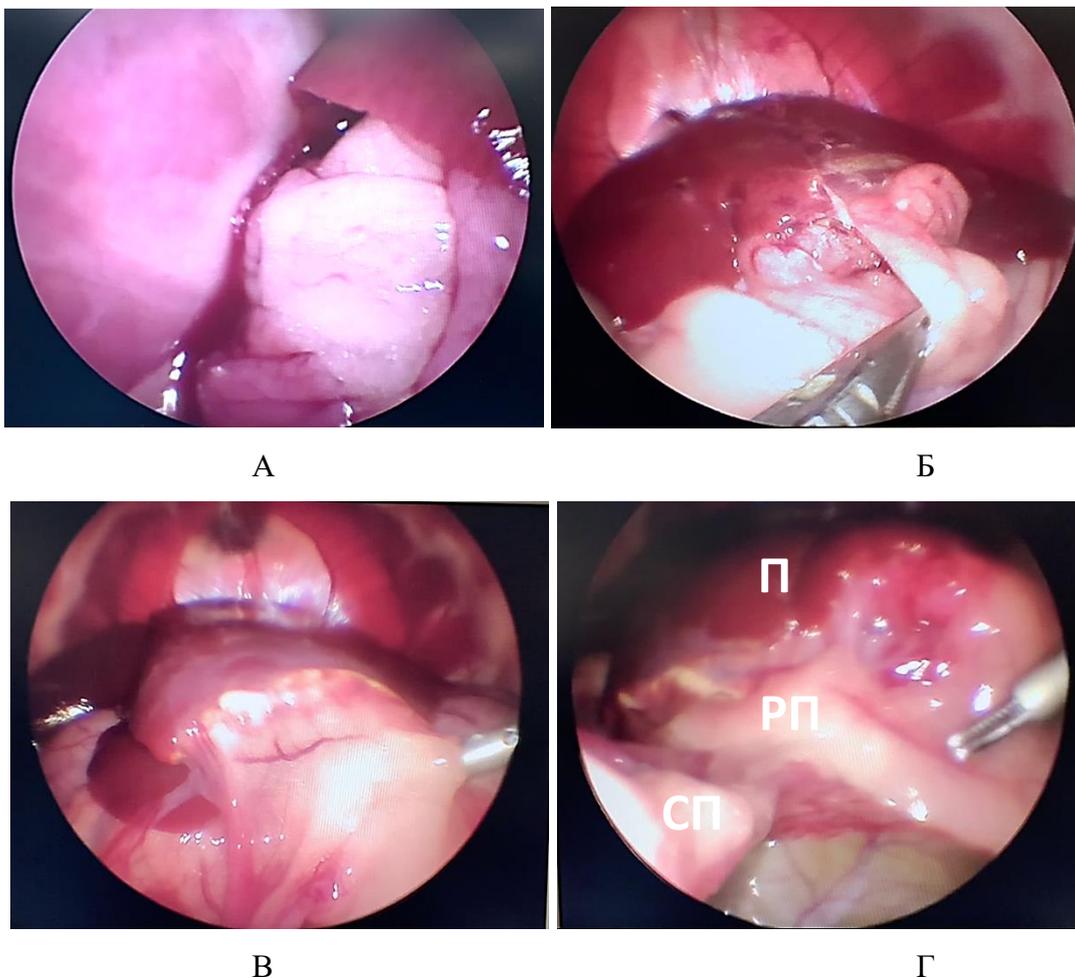


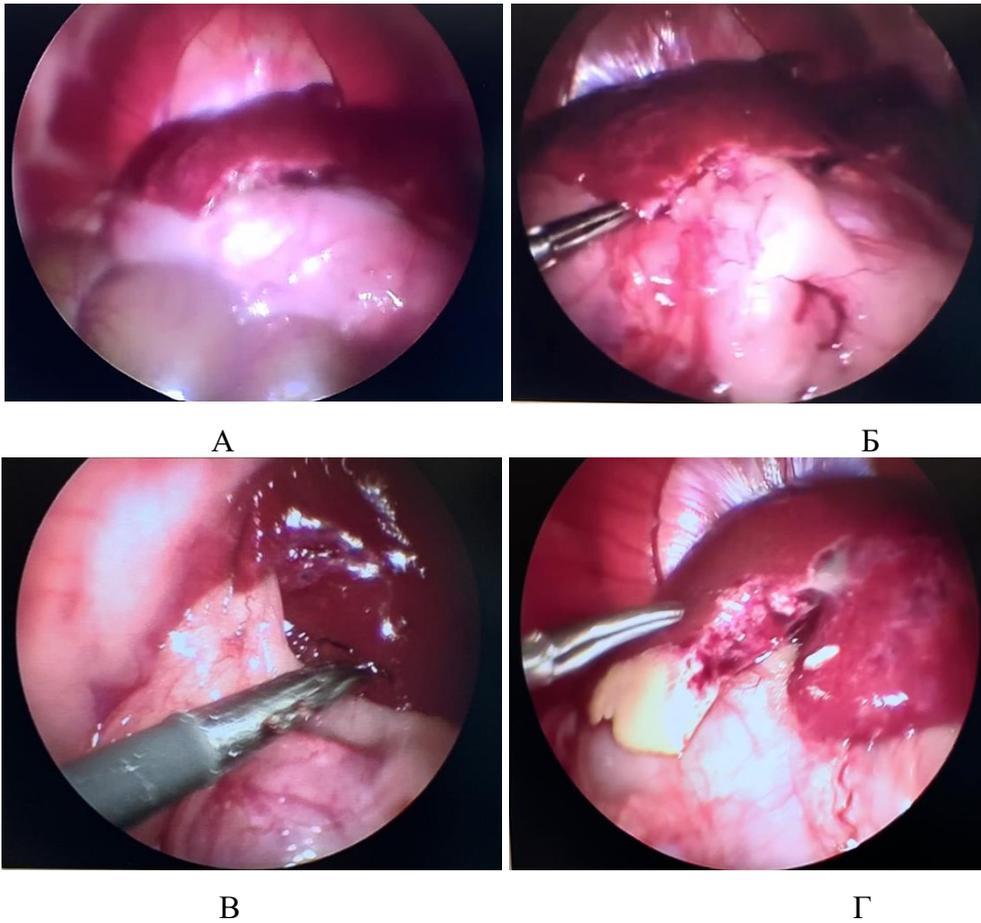
Рис. 1. Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 1: А – 1-е послеоперационные сутки после резекции печени; Б – 3-и послеоперационные сутки после резекции печени;

*В – 7-е послеоперационные сутки после резекции печени; Г – 7-е послеоперационные сутки после резекции печени, определяется шнуровидная спайка, протянувшаяся от большого сальника к брюшной стенке (П – печень, РП – зона резекции, СП – спайка)*

На 7-е послеоперационные сутки (рис. 1В) в группе № 1 у семи животных отмечаются спаечные сращения с вовлечением в зону резекции большого сальника, которые субъективно разделялись диссектором с меньшим усилием и кровотечением в сравнении с 3-ми сутками после резекции. Паренхима также ишемизирована, сгустков крови не определяется. Перифокально на поверхности печени выявлено значительное количество белесоватых пятен, которое может свидетельствовать о течении репаративных изменений, одним из этапов которых является разрастание соединительной ткани.

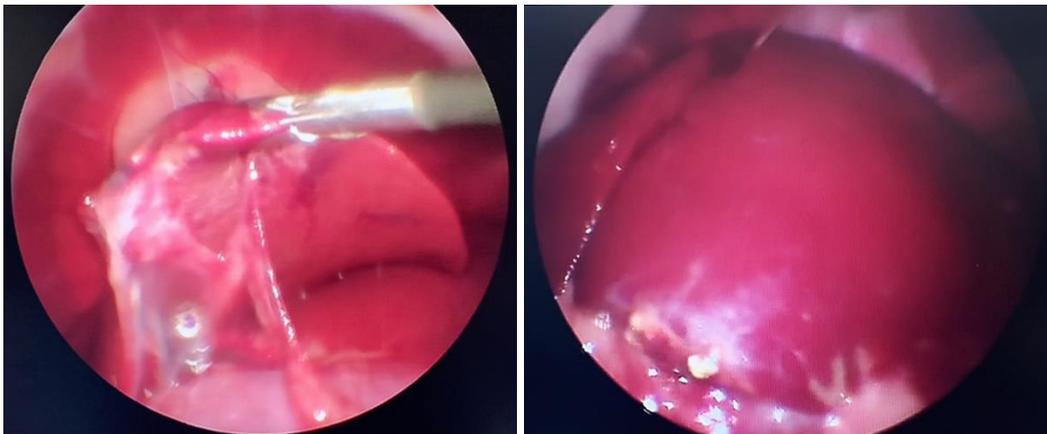
В группе № 1 у всех кроликов также определяются спаечные сращения с вентральной стенкой (рис. 1Г), впервые выявленные на 7-е сутки и представленные шнуровидными тяжами, морфологическим субстратом которых являлся большой сальник. Во всех случаях данные тяжи были отделены от брюшной стенки при помощи биполярной коагуляции и диссектора.

У животных группы № 2 не отмечалось свободной крови и ГП в брюшной полости (рис. 2А). В данной группе на 1-е послеоперационные сутки после резекции печени в четырех случаях наблюдения определялась миграция сальника к месту травмы (рис. 2Б). Вокруг места резекции формируется «белая дымка», появление которой можно связать с организацией и резорбцией ГП. На 3-и сутки после операции у 5 кроликов в месте резекции определялись спаечные сращения с вовлечением большого сальника, при разделении диссектором которых отмечалось незначительное кровотечение (рис. 2В). Субъективно разделение диссектором происходило с меньшим усилием и кровотечением в сравнении с 3-ми сутками после резекции в группе № 1. Во всех случаях паренхима в зоне резекции менее ишемизирована в сравнении с предыдущей группой. Очаги гемолиза и зоны резорбции ГП отсутствуют. Свободной крови в брюшной полости не было. В тех случаях, когда послеоперационная ситуация в брюшной полости не сопровождалась развитием соединительной ткани, в зоне резекции печени при КДЛ отмечаются явления организации (четко визуализируется формирование чрезмерной рубцовой ткани). В 2 случаях из 5 в спаечный процесс, помимо большого сальника, вовлечена соседняя доля печени (рис. 2Г).



*Рис. 2. Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 2: 1-е послеоперационные сутки после резекции печени, А – типичная картина в данной группе наблюдения; Б – миграция сальника к месту резекции печени; В – 3-и сутки после резекции печени, определяется спаечный процесс с вовлечением большого сальника; Г – 3-и сутки после резекции печени, выявлен спаечный процесс с вовлечением соседней доли печени*

На 7-е послеоперационные сутки у 4 кроликов в месте резекции определялись спаечные сращения, которые с минимальным усилием и кровотоком разделялись диссектором (рис. 3А). В случаях без спаечного процесса паренхима в зоне резекции окрашена менее интенсивно в сравнении с таковыми на 3-и сутки после операции, границы рубца нечеткие (рис. 3Б).

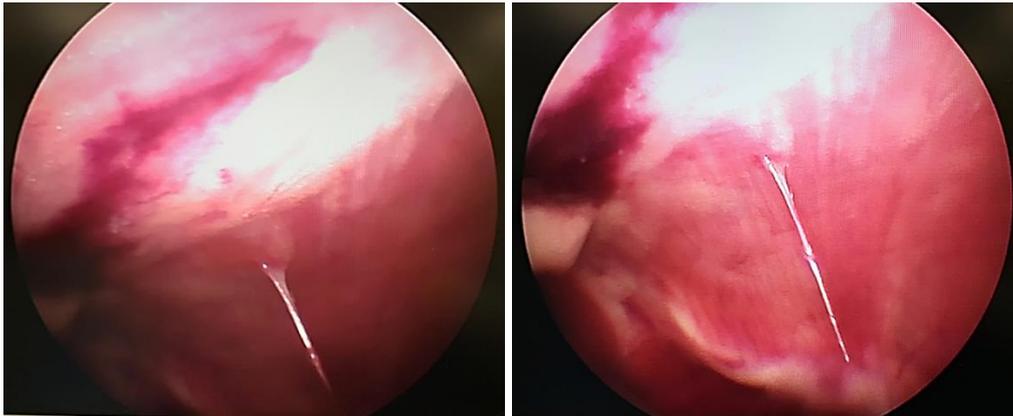


А

Б

*Рис. 3. Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 2: А – 7-е сутки после резекции печени; Б – 7-е сутки после резекции печени без спаечного процесса*

В группе № 2 у 5 кроликов определялись такие же спаечные сращения брюшной полости, как и в группе № 1 (рис. 4), причем на более ранних сроках (3-е и 7-е сутки), в сравнении с группой № 1. Спайки имели плотную консистенцию, но, несмотря на это, разделялись диссектором без развития кровотечения.

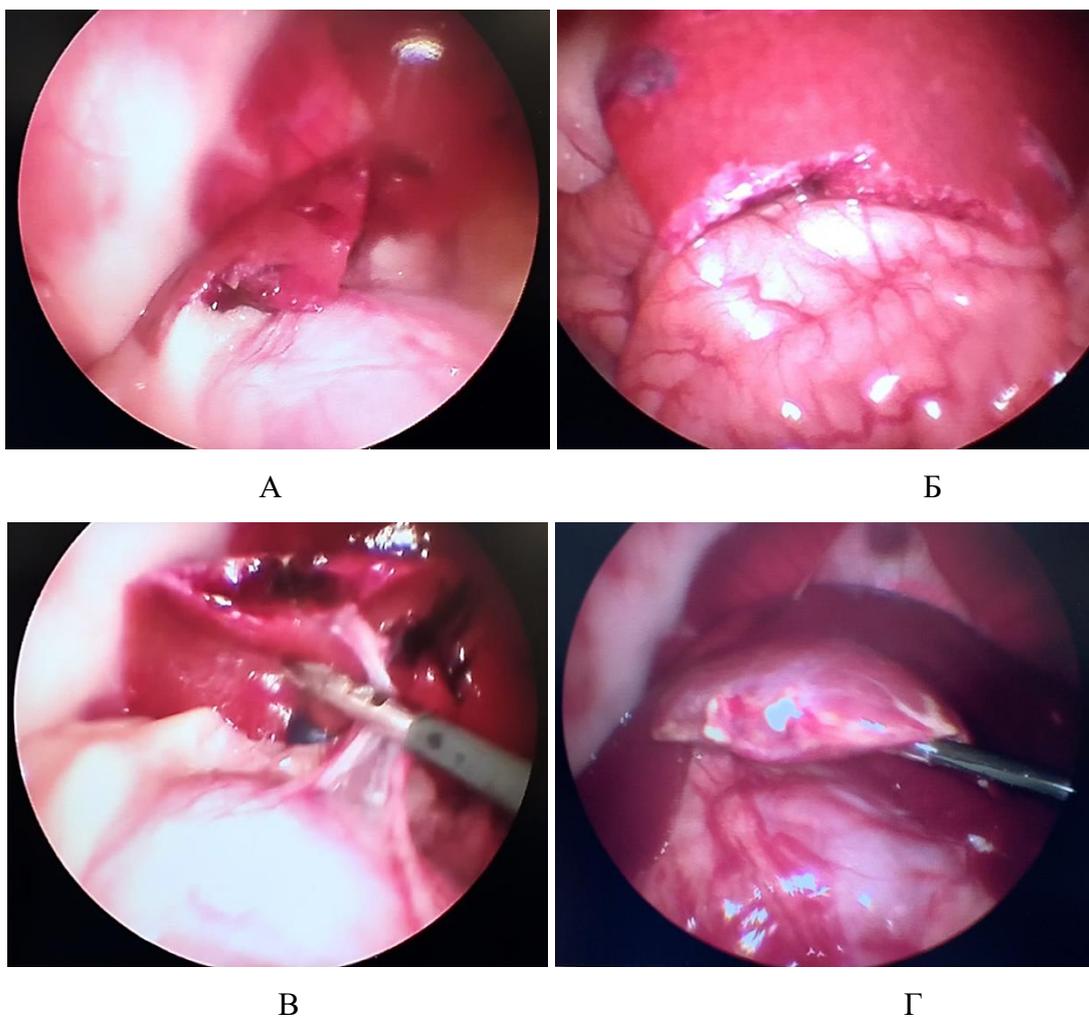


А

Б

*Рис. 4. Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 2: А – 3-и послеоперационные сутки после резекции печени, шнуровидные спайки; Б – 7-е послеоперационные сутки после травмы печени, шнуровидные спайки*

При анализе фото- и видеоматериалов в группе лабораторных животных № 3 установлено, что на 1-е сутки после операции (рис. 5А), как и в группе № 2, в брюшной полости не определялось свободной крови, частиц ГП и спаечного процесса. Изменений паренхимы печени не визуализировалось. Очаги гемолиза и зоны резорбции ГП отсутствуют. На 3-и сутки (рис. 5Б) после операции выявлены минимальные макроморфологические изменения паренхимы в области травмы в месте резекции, субъективно одинаковой с предыдущей группой № 2. В двух случаях в месте резекции определяется спаечный процесс с вовлечением большого сальника (рис. 5В). Разделение диссектором происходило без технических сложностей и нежелательного кровотечения. На 7-е сутки после резекции в месте операции в одном случае определялся спаечный процесс, который также разделен диссектором без технических сложностей и кровотечения. Спаечных сращений с органами брюшной полости не определялось.



*Рис. 5. Лапароскопия, интраоперационное фото, группа № 2: А – 1-е послеоперационные сутки после резекции печени, типичная картина в данной группе наблюдения; Б – 3-и послеоперационные сутки после травмы печени; В – 3-и сутки после травмы печени, шнуровидные спайки; Г – 7-е послеоперационные сутки после резекции печени*

Отдельное внимание привлекает тот факт, что при контрольно-динамической лапароскопии не выявлена деформация органов, вовлеченных в спаечный процесс.

**Выводы.** Таким образом, в ходе проведенного макроскопического исследования были выявлены единичные и беспорядочно встречающиеся незначимые отличия, которые позволяют точно судить о рациональности проведения сравнительного анализа течения спаечного процесса на нескольких сроках при помощи КДЛ. При проведении контрольно-диагностической лапароскопии было установлено, что практически во всех случаях сращения локализовались на передней брюшной стенке в местах установки лапароскопических портов. Шнуровидные спайки, образованные большим сальником, встречались во всех исследуемых группах. Вопреки наличию спаечного процесса брюшины у кроликов, нами не было выявлено выраженных признаков механической кишечной непроходимости.

## Список литературы

1. Липатов В.А., Кудрявцева Т.Н., Северинов Д.А. Применение карбоксиметилцеллюлозы в экспериментальной хирургии паренхиматозных органов // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2020. Т. 8. № 2. С. 269-283.
2. Чарышкин А.Л., Гафиуллов М.Р., Демин В.П. Оценка результатов ушивания ран печени и селезенки при закрытых травмах органов брюшной полости // Вестник эксперим. и клинич. хирургии. 2022. Т. 5, № 3. С. 593-595.
3. Bicer M., Bayram A.S., Gurbuz O., Senkaya I., Yerci O., Tok M., Anđ E., Mođol E.B., Saba D. Assessment of the efficacy of bioabsorbable oxidized regenerated cellulose for prevention of post-operative pericardial adhesion in the rabbit model // J. Int. Med. Res. 2018. № 36. P. 1311-1318.
4. Семичев Е.В., Байков А.Н., Бушланов П.С., Дамбаев Г.Ц. Сравнительный анализ методов гемостаза при операциях на селезенке // Бюллетень сибирской медицины. 2015. Т. 14. № 2. С. 91-99.
5. Tao C. Biomaterials for Hemorrhage Control // Trends in Biomaterials and Artificial Organs. 2020. Vol. 24, Is. 1. P. 1301-1345.
6. Stassen N.A., Bhullar I., Cheng J.D., Crandall M., Friese R., Guillamondegui O., Jawa R., Maung A., Rohs Jr T.J., Sangosanya A., Schuster K., Seamon M., Tchorz K.M., Zarzuar B.L., Kerwin A. Non operative management of blunt hepatic injury: an Eastern association for the surgery of trauma practice management guideline // Journal of Trauma and Acute Care Surgery. 2014. Vol. 73, Is. 5 (4). P. 288-293.
7. Резвова М.А., Кудрявцева Ю.А. Современные подходы к химической модификации белков в биологических тканях, последствия и применение // Биоорганическая химия. 2018. Т. 44. № 1. С. 22-37.
8. Мухаммад Д.З.Н., Липатов В.А., Денисов А.А. От операционного блока кафедры до современной хирургической лаборатории: актуальность интеграции медицинского образования и науки // Innova. 2020. № 3 (20). С. 48-51.
9. Липатов В.А., Лазаренко С.В., Северинов Д.А. Исследование реакции тканей селезенки при использовании новых образцов полимерных кровоостанавливающих материалов // Политравма. 2019. № 4. С. 76-84.
10. Северинов Д.А. Экспериментальное обоснование применения местных кровоостанавливающих средств на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы с добавлением транексамовой кислоты при повреждениях печени: дис. ... канд. мед. наук. Курск, 2021. 135 с.

11. Липатов В.А. Концепция профилактики послеоперационного спаечного процесса брюшной полости с применением барьерных средств (экспериментально-клиническое исследование): дис. ... докт. мед. наук. Курск, 2013. 249 с.
12. Блинников О.И. Лапароскопия в диагностике и лечении спаечной кишечной непроходимости у детей: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Москва, 1988. 20 с.
13. Луцевич О.Э. Особенности применения гемостатических материалов местного действия в хирургии // Московский хирургический журнал. 2016. № 3. С. 12-20.
14. Гаврилюк В.П., Липатов В.А., Лазаренко С.В., Северинов Д.А. Оценка спаечного процесса после травмы печени в хроническом опыте // Наука молодых (Eruditio Juvenium). 2021. Т. 9, № 2. С. 212-225.
15. Кабак В.А., Белозерская Г.Г., Момот А.П., Пыхтеева М.В., Неведрова О.Е., Бычичко Д.Ю., Лемперт А.Р., Малыхина Л.С., Момот Д.А., Голубев Е.М., Широкова Т.И., Миронов М.С., Кулешова С.Б. Новые возможности комплексной оценки гемостатических свойств локальных покрытий *in vivo* и *in vitro* // Клиническая физиология кровообращения. 2020. Т. 17, № 2. С. 121-129.