

**ОПИСАНИЕ
ИЗОБРЕТЕНИЯ
К ПАТЕНТУ**

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) **ВУ** (11) **11768**

(13) **С1**

(46) **2009.04.30**

(51) МПК (2006)

A 61N 5/00

(54)

**СРЕДСТВО ДЛЯ ФОТОДИНАМИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ И
ПРОФИЛАКТИКИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПАНКРЕАТИТА
И ГНОЙНОГО ОСЛОЖНЕНИЯ ПРИ РЕЗЕКЦИИ
ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ**

(21) Номер заявки: а 20070296

(22) 2007.03.22

(43) 2008.10.30

(71) Заявитель: Учреждение образования "Гродненский государственный медицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Стенько Александр Александрович; Жук Игорь Георгиевич (ВУ)

(73) Патентообладатель: Учреждение образования "Гродненский государственный медицинский университет" (ВУ)

(56) TONG Z et al. Photochem. photobiol. 2001. - V. 74. - No 5. - P. 707-711.

RU 2005512 C1, 1994.

RU 2144394 C1, 2000.

(57)

Применение нильского синего А для фотодинамического лечения и профилактики послеоперационного панкреатита и гнойного осложнения при резекции поджелудочной железы в эксперименте.

Изобретение относится к области медицины, в частности к хирургии, и может быть использовано для лечения и профилактики послеоперационного панкреатита и гнойных осложнений при резекции поджелудочной железы.

В результате резекции поджелудочной железы встречается ряд осложнений, возникающих самостоятельно или вследствие развившегося панкреатита. Среди них частота септических осложнений после ранних операций на билиопанкреатической зоне достигает 47 %. Гнойно-некротические осложнения включают в себя абсцессы, флегмону парапанкреатической клетчатки, образование кист и свищей. Чаще при этом осложняются тяжелые формы деструктивного послеоперационного панкреатита.

Задача изобретения - расширение арсенала средств для фотодинамического лечения и профилактики послеоперационного панкреатита и пострезекционных гнойно-некротических осложнений в поджелудочной железе, обладающих выраженной терапевтической активностью.

Поставленная задача достигается путем использования препарата "нильский синий А" (химическое название 3-амино-7-диэтиламино-1,2-бензофеноксазоний сульфат).

Препарат "нильский синий" является красителем, применяемым в гистологии для дифференцировки жировых веществ и окрашивания жиросодержащих тканей. Также известно, что нильский синий является фотосенсибилизатором и применяется для фотодинамической терапии злокачественных опухолей и их диагностики [1, 2, 3, 4].

Однако из известных сведений не вытекает, что данный препарат можно использовать для фотодинамического лечения и профилактики послеоперационного панкреатита и пострезекционных гнойно-некротических осложнений в поджелудочной железе.

Исследования проводились на белых крысах-самцах массой 200-250 г. Выполняли дистальную резекцию поджелудочной железы под внутримышечным калипсоловым нар-

козом. Интраоперационно в брюшную полость вводили 1 мл водного раствора нильского синего (концентрация 10^{-6} моль/л) с последующей его активацией (через 3 мин) гелий-неоновым лазером аппарата (мощность 20 мВт; длина волны 632,7 нм; экспозиция 5 мин). В послеоперационном периоде выполнялось чрескожное в зоне проекции поджелудочной железы облучение гелий-неоновым лазером с указанными выше параметрами курсом 7 дней.

Для оценки эффективности лечения осуществляли динамическое наблюдение за общим состоянием животных, местными реакциями в культе железы и ходом репаративных процессов.

В опытную и контрольную группу вошли по 30 крыс. В контрольной группе послеоперационного лечения не проводили.

Все животные контрольной группы в течение 12 ч после операции были вялыми, адинамичными, медленно передвигались по клетке. Наблюдалось учащение дыхания, выраженная тахикардия, послабление стула. Однако уже на первые сутки послеоперационного периода состояние животных стабилизировалось: крысы стали активными, принимали пищу, пили воду, произошла нормализация функций дыхательной и сердечно-сосудистой систем, а также физиологических отправления.

Погибло 4 животных в ранние сроки (3-7 суток) послеоперационного периода вследствие несостоятельности культи и развития деструктивных изменений в поджелудочной железе. При аутопсии в брюшной полости обнаруживалась серозно-геморрагическая жидкость (1-2 мл). Брюшина была бледная, покрыта хлопьями фибрина. Поджелудочная железа была увеличена в объеме, плотная, темно-красного цвета с несколько синюшным оттенком. Большой сальник - набухший, отечный, с множественными очаговыми (местами сливающимися между собой) кровоизлияниями. Микроскопически наблюдались дисконкомплексация ацинозных структур, некробиоз и некроз ацинарных клеток, на периферии густая лейкоцитарная инфильтрация и выраженное полнокровие.

На 3 сутки у забитых животных в брюшной полости отмечали незначительное количество серозного экссудата, к месту резекции был припаян большой сальник, наблюдалась умеренно выраженная отечность ткани культи поджелудочной железы. Интраорганные сосуды при наливке тушью-желатином очень слабо контрастировались или вовсе не определялись. Микроскопически в зоне резекции наблюдались множественные очаговые некрозы, резко выраженная лейкоцитарная инфильтрация, обширные поля кровоизлияний, характерные для острого панкреатита. В прилежащих участках железы отмечался отек междольковой ткани, дисконкомплексация ацинусов, зернистая и вакуольная дистрофия ацинарных клеток; мелкие протоки расширены и заполнены белковым секретом. К 7 суткам на аутопсии брюшина была без видимых макроскопических изменений, выпота не наблюдали. В области резекции - спаечный процесс, незначительная отечность культи железы. В 2 случаях были обнаружены в зоне спаек культи с сальником плотноэластические образования, представляющие собой на разрезе инкапсулированные гнойно-некротические массы. Микроскопически интраорганное сосудистое русло получило более четкое изображение: сужение капилляров и расширение венул. Гистологически к 7 суткам в зоне резекции появлялись очаги грануляционной ткани, а в прилежащих отделах железы наблюдались дистрофические и атрофические изменения паренхимы, сохранялась воспалительная инфильтрация, очаговые некрозы. К 30-60 суткам культи железы была обычной формы и цвета, спаяна с сальником. Интраорганные сосуды не приобретали очертаний, свойственных сосудам поджелудочной железы в норме: в одних участках органа сосудистая сеть довольно густая, в других - разрежена, а сами сосуды оставались деформированными. На гистологических препаратах в культе поджелудочной железы отмечалась картина хронического панкреатита: мелкоочаговый некроз ацинарной ткани, резко выраженные склеротические и атрофические процессы, воспалительная инфильтрация, расширение и деформация выводных протоков.

Послеоперационный период у всех наблюдаемых нами опытных животных, получавших фотодинамическую терапию, протекал относительно легко, без выраженных осложнений. Нормализация объективных тестов общего состояния животных (частота дыхания, частота сердечных сокращений, физиологические отправления) наступила через 8-12 час

после резекции. В последующем поведение этих животных (активность, прием пищи) фактически ничем не отличались от поведения неоперированных крыс. Все животные в этой группе выжили.

На 3 сутки при аутопсии изменений со стороны брюшины и патологического процесса в брюшной полости не обнаруживали. Культия слегка отечная, эластической консистенции, сохраняла свойственную железе бледно-розовую окраску, спаечный процесс не наблюдался. Реакция кровеносной системы на хирургическую травму сводилась к тому, что интраорганный сосудистая сеть была деформирована; наблюдались локальные спазмы и паретическая дилатация просвета сосудов, мелкодисперсные элементы инъекционной массы вне сосудистого русла встречались лишь в отдельных участках паренхимы органа. На гистологических препаратах отмечалось разрастание неспецифической грануляционной ткани, богатой сосудами, с наличием значительного количества фибробластов и гистиоцитов. Протоки неравномерно расширены. На 7 сутки культия железы по внешнему виду не отличалась от проксимальной части органа: имела розовый цвет и эластическую консистенцию. При изучении микроциркуляторного русла на препаратах, инъецированных тушью, определяли ограниченную зону умеренного сужения артериол и капилляров, некоторого расширения венул при сохранении пространственной ориентации микрососудов. Определяли умеренную лимфогистиоцитарную инфильтрацию с разрастанием молодой соединительной ткани, местами с образованием неспецифической грануляционной ткани.

В более поздние сроки, по сравнению с ранними, существенных макроскопических различий в брюшной полости не наблюдалось. К 14-30 суткам культия железы имела вид, цвет и плотность, характерные для интактного органа. На инъецированных тушью препаратах в зоне рубца находили микрососуды в стадии формирования крупноячейстой капиллярной сети. При микроскопическом исследовании в те же сроки грануляционная ткань подверглась склерозу; в прилежащих участках железы отмечались компенсаторное расширение ацинусов и скудная лимфогистиоцитарная инфильтрация. На 60 сутки при инъекции тушью микроциркуляторного русла существенных отличий в архитектонике сосудов по сравнению с интактными животными мы не наблюдали, т.е. сосуды имели свойственный им рисунок. На всех гистологических препаратах ацинусы обычной формы, воспалительных явлений не наблюдалось.

Таким образом, применение фотодинамической терапии с фотосенсибилизатором нильский синий для профилактики послеоперационного панкреатита и гнойных осложнений при резекции поджелудочной железы позволяет сократить сроки очищения и гранулирования раны культи железы, ускорить репаративные процессы.

Источники информации:

1. Lin C.W., Shulok J.R., Wong Y.K., Schanbacher C.F. Photosensitization, Uptake, and Retention of Phenoxazine Nile Blue Derivatives in Human Bladder Carcinoma Cells // *Cancer Research*. - 1991. - № 51. - P. 1109-1116.

2. Singh G., Espiritu M., Shen X.Y. et al. In vitro induction of PDT resistance in HT29, HT1376 and SK-N-MC cells by various photosensitizers // *Photochem Photobiol*. - 2001. - 73(6). - P. 651-6.

3. Tong Z., Singh G., Rainbow A.J. Extreme dark cytotoxicity of Nile Blue A in normal human fibroblasts. *Photochem Photobiol*. 2001. - 74(5). - P. 707-11.

4. Van Staveren H.J., Speelman O.C., Witjes M.J. et al. Fluorescence imaging and spectroscopy of ethyl nile blue A in animal models of (pre)malignancies // *Photochem Photobiol*. - 2001. - 73(1). - 32-8.