

На правах рукописи

Шилов Александр Борисович

**Морфофункциональные особенности интерстиция
в условиях метода лимфотропного введения цитостатиков
(анатомо-экспериментальное исследование)**

14.03.01 – анатомия человека

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2011

Работа выполнена в лаборатории экспериментальной лимфологии Общества с ограниченной ответственностью «Международный центр клинической лимфологии» (г. Пермь)

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
Гаряева Надежда Александровна

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
Горчаков Владимир Николаевич
кандидат медицинских наук, доцент
Аристова Елена Серафимовна

Ведущая организация: Федеральное государственное военное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» Министерства обороны Российской Федерации (г. Санкт-Петербург)

Защита диссертации состоится «___» _____ 2011 г. на заседании диссертационного совета Д 208.062.05 при Новосибирском государственном медицинском университете (630091, Новосибирск, Красный проспект, 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52)

Автореферат разослан «___» _____ 2011 г.

Ученый секретарь диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор

А. В. Волков

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Интерстиций является важнейшим звеном микроциркуляции, в котором находятся истоки лимфатической системы. Через интерстиций в обменный процесс вовлекаются лимфатические регионы обширных анатомических областей и органов (Буянов В. М. и др., 1991; Гаряева Н. А., 2000). Важно определение морфологических критериев, характеризующих его структуру, транспортные возможности в физиологических условиях и при создании «лекарственного депо». Проведение лимфотропной терапии (ЛТТ) требует знания морфофункциональных особенностей интерстиция анатомических областей, которые используются для лимфатического доступа.

Несмотря на внимание к морфологии интерстиция (Куприянов В. В., Бородин Ю. И. и др., 1983; Банин В. В.; 2000; Casley-Smith J., 1980; Castenholz A., 1998; Zoltzer H., 2003 и др.), этому аспекту практически не уделено внимания. При ЛТТ интерстиций служит активной средой, модулирующей тканевое давление (Guyton C., 1971), приводящее к состоянию «активного функционирования тканей» (Бородин Ю. И., 1998, 2001; Гаряева Н. А., 2001). Известно, что pH является одним из универсальных регуляторов транспортных процессов в тканях (Афанасьев В. Г. и др., 1991). Изучение воздействия цитостатиков и их pH на массоперенос в интерстиции не предпринималось.

Таким образом, изучение морфологии и физиологии интерстиция, создание критериев сохранности его морфофункционального состояния при лимфотропном введении (ЛТВ) цитостатиков является актуальной и пока не решенной проблемой.

Цель исследования. Изучить в эксперименте морфофункциональные особенности интерстиция подкожной клетчатки (ПК) паховой области крыс, используемой в качестве зоны лимфатического доступа, на фоне традиционного и лимфотропного введения цитостатиков.

Задачи исследования

1. Изучить макро-микроанатомию, морфометрические показатели ПК паховой области крыс в физиологических условиях.

2. Исследовать строение и морфометрические показатели интерстиция после традиционного и лимфотропного введения цитостатиков в сроки эксперимента: 6 часов, 1 сутки, 6 суток, 60 суток.

3. Исследовать строение печени через 6 часов, 1 сутки, 6 суток и 60 суток, головного мозга через 60 суток после традиционного и лимфотропного введения цитостатиков.

4. Исследовать удельную гидравлическую проводимость ($L_{уд.}$) интерстиция брыжейки тонкой кишки крыс для растворов кратных концентраций цитостатиков.

Научная новизна исследования. Изучено строение интерстиция ПК паховой области крыс как зоны лимфатического доступа после традиционного введения циклофосфана, метотрексата, фторурацила. Установлено повреждающее действие цитостатиков при подкожном депонировании.

Изучены различия интерстиция ПК паховой области, печени и головного мозга после традиционного и лимфотропного введения цитостатиков, свидетельствующие в пользу ЛТВ.

Создана комбинация цитостатиков для введения в интерстиций с нейтральным уровнем pH; выработаны критерии морфофункциональной достаточности интерстиция и сохранности лимфатического региона.

Теоретическая и практическая значимость работы. Новые сведения о структуре и функции интерстиция ПК паховой области, данные о регулирующей роли pH и химической структуре препаратов на гидравлическую проводимость интерстиция вносят вклад в развитие теории интерстициального массопереноса и интерстициологии. Результаты могут быть использованы при изучении других зон лимфатического доступа.

Принципы создания комбинации цитостатиков для ЛТВ служат основой для разработки других pH нейтральных экспериментальных моделей

«агрессивных» фармакологических препаратов с целью эффективного ЛТВ.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Интерстиций подкожной клетчатки паховой области крысы имеет необходимые параметры области лимфатического доступа, что позволяет динамически насыщать его лекарственными растворами.

2. Структурные изменения интерстиция при длительном традиционном введении цитостатиков проявляются атрофией клетчатки и фиброзом. Длительное лимфотропное введение цитостатиков не вызывает повреждения интерстиция.

3. Лимфотропное введение цитостатиков минимально повреждает печень и головной мозг, сохраняет микроанатомическую структуру органов.

4. Гидравлическая проводимость интерстиция брыжейки для цитостатиков регулируется уровнем pH растворов, зависит от дозы и температуры. Созданная комбинация с уровнем pH 6,7 – 7,5 создает устойчивый поток через интерстиций и адекватный транспорт.

Апробация результатов исследования. Материалы диссертации доложены и обсуждены на I Сибирском съезде лимфологов с международным участием (Новосибирск, 2006), на III съезде лимфологов России (Москва, 2008), на Международной конференции «Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии» (Новосибирск, 2008).

Внедрение результатов исследования. Материалы диссертации внедрены в практическую деятельность и образовательный процесс лаборатории экспериментальной лимфологии ООО «Международный центр клинической лимфологии», в практическую деятельность лаборатории синтеза активных реагентов Института технической химии Уральского отделения РАН, клиники семейной медицины ООО «Лимфатек», внедрены в учебный процесс кафедры анатомии человека Новосибирского государственного медицинского университета. Получен патент на полезную модель «Устройство для определения массопереноса лекарственных веществ через интерстиций» (№ 70104 от 20.01.08) авторов Н. А. Гаряевой, Д. Н. Гусина,

А. Б. Шилова, И. Г. Завгороднего.

Публикации. По теме выполненной диссертации опубликовано 7 печатных работ, в том числе 3 статьи – в рецензируемых научных журналах, рекомендуемых для публикаций основных результатов исследования.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 160 страницах, состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, включает 11 таблиц и 54 рисунка, 9 приложений. Список литературы содержит 184 источника (151 отечественных и 33 зарубежных авторов).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование одобрено локальным этическим комитетом общества с ограниченной ответственностью «Международный центр клинической лимфологии» (г. Пермь).

Материалом для комплексного морфофункционального исследования служили органы 362 взрослых беспородных крыс-самцов. Морфологическое и морфометрическое исследование интерстиция ПК и печени проведено на 280 крысах через 6 часов, 1 сутки, 6 суток и 60 суток, головного мозга на 25 крысах через 60 суток после традиционного и лимфотропного введения. Исследование *in vivo* удельной гидравлической проводимости ($L_{уд}$) интерстиция для цитостатиков произведено на 285 образцах брыжейки тонкой кишки 57 крыс. Визуализацию лимфоузлов осуществляли у 25 крыс. Крысы содержались в условиях вивария со свободным доступом к пище и воде. Материал забирали после плановой эвтаназии (Инструкция МЗ РФ, 1992).

Было сформировано 15 групп животных. Первые четыре группы получали цитостатики однократно по классической схеме (Переводчикова Н. И., 1996): 1-я группа – циклофосфан в дозе 2 мг/кг, в/м; 2-я группа – метотрексат в дозе 0,5 мг/кг, в/м; 3-я группа – фторурацил в дозе 10 мг/кг, в/в; 4-я группа – комбинацию данных цитостатиков в указанных дозах и способах введения. Последующим (5-ой, 6-ой и 7-ой) группам цитостатики вводили подкожно в тех же дозах однократно в правую паховую область. Восьмой группе вводили комбинацию цитостатиков для лимфотропного

введения в аналогичных дозах однократно в правую паховую область. Первая контрольная (9-я) группа получала 1,0 мл 0,5 % новокаина в ПК паховой области. Следующим группам (10-я и 11-я) препараты инъецировали десять раз с интервалом 6 суток. Десятая группа получала комбинацию цитостатиков традиционно; 11-я группа – лимфотропно. Второй контрольной (12-ой) группе вводили 1,0 мл 0,5 % новокаина в паховую область в аналогичные сроки. Три последние группы (13-я и 14-я – рабочие; 15-я – контрольная) использовались для изучения топографии регионарных лимфатических узлов на фоне 10-кратного введения комбинации цитостатиков традиционно и лимфотропно.

Анатомическое исследование участка кожи паховой области 100 мм² толщиной 5,0 мм проводилось как области лимфатического доступа. Для анатомо-топографического обоснования метода ЛТВ использовали классический метод интерстициальных инъекций красящих масс (Fohmann V., 1828). В качестве красителя брали канцелярскую тушь (Высоцкий Н. Ф., 1878; Жданов Д. А. 1955), разводили физиологическим раствором в соотношении 1:1. Прижизненную визуализацию регионарных лимфатических узлов осуществляли через 15 минут по степени заполнения красителем.

Гистологическое исследование интерстиция ПК, печени и головного мозга осуществляли на срезах с окраской гематоксилином и эозином, по ван Гизону, суданом III (Меркулов Г. А., 1961). Для морфометрических исследований производили фотосъемку на микроскопе «Leica DMLB» с видеокамерой JVC TK-C 1380 color video. Фиксировали видеоизображение не менее 10 полей с каждого среза при увеличении x400. Обработку цифрового изображения производили с помощью программного продукта UTHSCSA “Image tool” version 2.0 alpha 3. по трем критериям на срезе площадью 4,5 мм²: ширина пучков соединительнотканых волокон, расположенных в плоскости среза; площадь интерстициальных пространств между волокнами без эндотелиальной выстилки; площадь жировых клеток, рассчитанная в сетке Автандилова (Автандилов Г. Г., 1990).

Разработка комбинации цитостатиков для ЛТВ.

Первый этап. Разработана методика изучения зависимости уровня pH цитостатиков от дозы и температуры на 270 образцах цитостатиков (Гаряева Н. А. и др., 2008): изучение *in vitro* pH стандартных и кратно сниженных доз в 10, 100 и 1000 раз при температуре 36 °С, 38 °С, 40 °С; создание комбинации цитостатиков и исследование стандартной дозы и снижения в 10, 100, 1000 раз.

Второй этап. Исследование $L_{уд}$ цитостатиков для интерстиция *in vivo* на брыжейках тонкой кишки, (Гаряева Н. А., 2001-2002). Площадь составляла 0,000079 м², толщина – 45 мкм. С помощью устройства для определения массопереноса лекарственных веществ через интерстиций измеряли поток в течение 10 минут при разности гидравлического давления 100 мм вод. ст., что соответствовало тканевому давлению после ЛТВ лекарственного препарата объемом 10 мл, поддерживали температуру 38 °С и заданный уровень pH. Изучали гидравлическую проводимость для цитостатиков с уровнями pH 7,4; 6,9; 6,4. Контрольными инкубационными растворами выступали 0,9 % NaCl; смесь 1,0 % новокаина и 0,9 % NaCl; смесь 0,5 % новокаина и 0,9 % NaCl в соотношении 1 : 1, модифицированные трисаминометилметаном и 0,1 Н раствор соляной кислотой для достижения требуемого уровня pH. Исследования проводили летом, в первую половину суток, согласно хронобиологии (Бородин Ю. И, Труфакин В. А., 2002).

Результаты обрабатывали методами вариационной статистики. Вычислялись нормальность распределения выборки, средние величины, квадратичное отклонение, средняя квадратичная ошибка среднего значения, критерий достоверности Стьюдента и критерий Манна-Уитни (Углов Б. А. и др., 1994). Программы «StatSoft STATISTICA 6», «Microsoft Excel 2003».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Кожа паховой области состоит из трех слоев: эпидермиса, собственно кожи и ПК, построенной из рыхлой соединительной ткани. Интерстиций ПК характеризуется необходимыми параметрами области лимфатического доступа. В нем имеется выраженная сеть соединительно-тканых волокон (ширина

пучков $0,21 \pm 0,05$ мм; площадь интерстициальных пространств $0,075 \pm 0,004$ мм²). Многочисленные жировые дольки (площадь жировых клеток $0,13 \pm 0,05$ мм²) разделены тонкими септами, в которых располагаются группы зрелых лимфоцитов, макрофаги с признаками фагоцитарной активности, мелкие сосуды. Таким образом, ПК паховой области крысы может выполнять функцию «интерстициального лекарственного депо» и служить моделью для исследования структуры интерстиция при введении цитостатиков.

Морфометрические параметры ПК паховой области коррелируют с данными Пеленевой И. М. (2005), проводившей сравнительные исследования ПК подмышечной, окологрудинной, позаднебрюшной областей и спины.

Структура интерстиция ПК паховой области была изучена при введении цитостатиков и их комбинаций. После однократного внутримышечного и внутривенного введения цитостатиков и их комбинации через 6 часов развился умеренный лимфостаз, периваскулярный и периневральный отек, а также умеренная гистиоцитарно-лимфоцитарная реакция уменьшающиеся через 1 сутки и разрешающиеся к 6 суткам. Десятикратное введение через 60 суток привело к нарастанию фиброза ПК и атрофии жировой клетчатки ($p < 0,05$).

На однократное подкожное введение цитостатиков интерстиций через 6 часов реагировал выраженным лимфостазом, периваскулярным и периневральным отеком, развитием гистиоцитарно-лимфоцитарной реакции, которая наблюдалась через 1 сутки на фоне сохраняющегося отека и лимфостаза. Разрешение отека к 6 суткам сохраняло гистиоцитарно-лимфоцитарную реакцию на высоком уровне.

Особенностью однократного введения лимфотропной комбинации цитостатиков было разрешение отека и лимфостаза через 1 сутки. После десяти лимфотропных введений атрофии жировой клетчатки и фиброза не наблюдалось. Интенсивность гистиоцитарно-лимфоцитарной реакции сохранялась на высоком уровне на 60-е сутки, т.е. было возможно повторное введение. Лимфотропная комбинация цитостатиков с сохранением цитоархитектоники и функциональной активности позволяет создать

«интерстициальное лекарственное депо».

Прижизненная интерстициальная инъекция туши показала различие между традиционным и лимфотропным введением цитостатиков. На фоне традиционного введения наблюдалось сегментарное заполнение аортально-подвздошного лимфатического узла крыс. На фоне лимфотропного введения произошло полное заполнение правых аортально-подвздошного и каудального лимфатических узлов, сопоставимое с контролем, что подтверждает сохранение функций лимфатического региона. Такое моделирование отвечает запросам клинической лимфологии (Асташов В. В., 2000; Бородин Ю. И. и др., 2001).

Морфометрические показатели позволили объективно оценить изменения в интерстиции после введения цитостатиков. Изменение ширины пучков соединительно-тканых волокон после однократного внутримышечного и внутривенного введения цитостатиков и их комбинации к 6 суткам не отличалось от контрольных значений ($p > 0,05$). Многократное введение комбинации цитостатиков привело к прогрессивному уменьшению данного показателя ($0,16 \pm 0,04$ мм; $p < 0,05$), что указывало на отдаленные повреждения в интерстиции. Известно, что при понижении кислотности среды происходит альтерация коллагена (Musil J., 1981). Кроме того, это может быть результатом «давления набухания» (Guyton A., 1971). При однократном подкожном введении цитостатиков ширина пучков соединительнотканых волокон уменьшалась значительно ($p < 0,05$) и полностью не восстанавливалась к 6 суткам эксперимента. Это свидетельствовало о выраженной дегидратации волокон на фоне перераспределения тканевой жидкости после введения гипертонического раствора и о прямом повреждающем действии цитостатиков на фибриллярный каркас. Поскольку исходный измененный уровень pH цитостатиков способствует сужению тканевых каналов, запускается порочный круг, усиливающий процессы альтерации. При введении лимфотропной комбинации цитостатиков достоверных изменений ширины пучков соединительно-тканых волокон выявлено не было как после однократного, так и после многократных введений на 60-е сутки ($p > 0,05$).

Площадь интерстициальных пространств после однократного внутримышечного и внутривенного введения цитостатиков и их комбинации к 6 суткам вернулась к норме ($p > 0,05$), в то время как после многократных введений показатель прогрессивно уменьшался к 60 суткам ($p < 0,05$), что указывало на повреждение интерстициального матрикса. Однократное подкожное введение цитостатиков вызывало значительное увеличение площади интерстициальных пространств за счет выраженного отека тканей, который не разрешался к 6 суткам ($p < 0,05$). Лимфотропная комбинация цитостатиков после однократного введения к 6 суткам и многократных введений к 60 суткам не вызывала достоверных изменений ($p > 0,05$). Таким образом, лимфотропная комбинация цитостатиков не повреждает интерстициальный матрикс.

Площадь жировых клеток на фоне однократного внутримышечного и внутривенного введения цитостатиков и их комбинации достоверно не изменялась к 6 суткам эксперимента ($p > 0,05$). Повторные введения вызывали уменьшение показателя к 60 суткам эксперимента, что указывало на прямое цитотоксическое действие $0,08 \pm 0,04 \text{ мм}^2$, $p < 0,05$. Однократное подкожное введение цитостатиков приводило к значительному уменьшению площади жировых клеток вследствие прямого повреждающего эффекта при непосредственном контакте ($p < 0,05$). При введении лимфотропной комбинации цитостатиков показатели на 6 и 60 сутки эксперимента не отличались от контрольных значений ($p > 0,05$).

Таким образом, все морфометрические показатели подтвердили сохранность вводимой лимфотропной комбинации цитостатиков для интерстиция ПК: сохранялась структура, происходил активный транспорт из «лекарственного депо» в лимфатическое русло.

Исследования ткани печени показали, что введение лимфотропной комбинации цитостатиков во все сроки наблюдения оказывало менее выраженный гепатотоксический эффект по сравнению с традиционным введением. При традиционном введении комбинации цитостатиков через 60 суток дольковая структура печени была нарушена, проявлялась

гидропическая и жировая дистрофия гепатоцитов, паренхима частично замещалась на соединительную ткань, гистиоцитарно-лимфоцитарной реакция была слабо выражена. Введение лимфотропной комбинации цитостатиков через 60 суток имело менее выраженный токсический эффект: сохранялась дольковая структура печени, проявлялась умеренная гидропическая дистрофия в гепатоцитах, фиброз паренхимы отсутствовал, в портальных трактах определялась выраженная гистиоцитарно-лимфоцитарная реакция.

Аналогичная разница воздействия наблюдалась при изучении ткани головного мозга. Традиционное введение комбинации цитостатиков на 60-е сутки привело к множественным мелким периваскулярным кровоизлияниям в мягкую мозговую оболочку, перичеллюлярному отеку, выраженной дистрофии нейроцитов, увеличению числа элементов астроглии. При введении лимфотропной комбинации цитостатиков наблюдались единичные кровоизлияния, дистрофия нейроцитов была выражена слабо, наблюдалось незначительное увеличение элементов астроглии.

Различия в поведенческих реакциях и соматическом статусе экспериментальных животных на введение цитостатиков подтвердили снижение токсических проявлений центральной нервной системы при ЛТВ.

Исследование гидравлической проводимости показало, что на поток цитостатиков через брыжейку оказывают влияние рН и химическая структура препаратов. По данным исследователей (Банин В. В., 2000; Бородин Ю. И., 2001; Кононова М. Л., Гаряева Н. А., 2001, 2002), уровень рН 7,4 является верхним физиологическим порогом для открытия тканевых каналов и запуска активного интерстициального транспорта. Цитостатики относятся к группе низкомолекулярных химических соединений, и их продвижение осуществляется за счет разности концентраций по обе стороны биологической мембраны. Однако, за счет проявления токсических действия на волокна и клетки вплоть до альтерации возможно изменение конфигурации каналов и затруднение прохождения препаратов через ткани.

Раствор циклофосфана, с низким исходным уровнем рН, при

прохождении через интерстиций брыжейки с уровнем рН от 7,4 до 6,4 на верхнем физиологическом пороге создавал микропоток, проявляя физиологическую активность. При снижении уровня рН буферного раствора происходило уменьшение микропотока с блокадой его на нижней границе.

Исходный уровень рН исследуемого раствора метотрексата выходил за верхнюю физиологическую границу и при прохождении через интерстиций брыжейки при уровне рН 7,4 создавал минимальный микропоток. Понижение уровня рН буфера до нейтрального значения приводило к достоверному увеличению микропотока, который был максимальным при низком уровне рН 6,4. Таким образом, понижение уровня рН приводило к увеличению потока раствора метотрексата по интерстициальным пространствам.

Уровень рН фторурацила значительно превышал верхний физиологический порог и при прохождении через интерстиций брыжейки вызывал полную блокаду интерстициального транспорта. Понижение уровня рН буферного раствора запускало физиологическую активность и при уровне рН 6,4 создавался устойчивый минимальный микропоток с тенденцией к увеличению.

Комплексное исследование $L_{уд}$ интерстиция брыжейки для цитостатиков завершилось созданием комбинации препаратов и проводникового буфера, отвечающих основным требованиям эффективного интерстициального транспорта. Таким требованиям отвечали десятичные и сотенные разведения стандартных фармакологических доз комбинации циклофосфан-метотрексат-фторурацил и смеси 1 % и 0,5 % новокаина с 0,9 % NaCl в соотношении 1:1. Полученные варианты комбинаций цитостатиков в различных сочетаниях обладали уровнем кислотно-основного состояния, находящимся в пределах физиологического интервала для интерстиция. В ходе эксперимента по определению $L_{уд}$ для подобранных вариантов было установлено соответствие полученных результатов с контрольными измерениями $L_{уд}$ физиологического раствора. При уровне рН 7,4 для всех подобранных вариантов определялся стабильный минимальный микропоток ($p > 0,05$). Снижение уровня рН до 6,9

приводило к достоверному увеличению микропотока, сопоставимого с контрольными показателями. Дальнейшее понижение уровня pH до 6,4 вызывало значительное ослабление тока с тенденцией к блокаде. Корреляция результатов исследования $L_{уд}$ интерстиция для комбинации цитостатиков свидетельствовала об активном продвижении цитостатиков через интерстиций брыжейки. Таким образом, разработанный метод создания лимфотропной комбинации цитостатиков представляет собой совокупность подходов по созданию раствора для ЛТВ. Максимальные значения микропотока соответствуют интервалу уровня pH 7,0 – 6,5 и фазе «активного функционирования» интерстиция (Бородин Ю. И., 2001; Кононова М. Л., Горяева Н. А., 2001).

На основании комплексного исследования морфологических особенностей интерстиция и интерстициального транспорта были разработаны критерии оценки раствора для экспериментального ЛТВ: 1) pH раствора приближен к физиологическим значениям pH интерстиция; 2) раствор проходит через интерстиций брыжейки и показатели потока жидкости и удельной гидравлической проводимости находятся в референтном для него интервале, 3) отсутствуют структурные признаки повреждения интерстиция ПК, используемой в качестве анатомической области лимфатического доступа.

Как результат исследования критериев морфофункционального состояния интерстиция при введении цитостатиков нами предложена «Концепция интерстициального депо цитостатиков в подкожной клетчатке» (табл. 1).

Из вышеизложенного вытекает разница в определениях подкожного и лимфотропного введения фармакологических препаратов.

Подкожное введение – интерстициальная инъекция стандартной дозы фармакологического препарата без учета свойств интерстиция и интерстициально-лимфатического взаимодействия. В результате происходит локальное повреждение интерстиция, замедление интерстициального транспорта, облитерация истоков лимфатического русла и, как следствие, снижение эффективности действия препарата.

Таблица 1

**Сравнительная характеристика состояния интерстиция
при введении цитостатиков**

Традиционное введение		Лимфотропное введение
Внутримышечное, внутривенное	Подкожное	
Первичное введение концентрированного раствора в кровеносное русло	Первичное введение концентрированного раствора в ПК	Первичное введение лимфотропного раствора в ПК
$4,5 < \text{pH} < 9,0$	$4,5 < \text{pH} < 9,0$	$6,8 < \text{pH} < 7,2$
Вторичное насыщение интерстиция разведенным препаратом	Первичное насыщение интерстиция концентрированным препаратом	Первичное насыщение интерстиция лимфотропно модифицированным препаратом
Активный интерстициальный транспорт	Блокада интерстициального транспорта	Активный интерстициальный транспорт
▪ Морфофункциональные структуры интерстиция сохранены ▪ Последующее введение цитостатиков возможно ▪ Активное «интерстициальное лекарственное депо» не создано	▪ Морфофункциональные структуры интерстиция нарушены ▪ Последующее введение цитостатиков невозможно ▪ Активное «интерстициальное лекарственное депо» не создано	▪ Морфофункциональные структуры интерстиция сохранены ▪ Последующее введение цитостатиков возможно ▪ Активное «интерстициальное лекарственное депо» создано

Лимфотропное введение – интерстициальная инъекция модифицированного раствора фармакологического препарата (две, три и более стандартных доз) с учетом свойств интерстиция и интерстициально-лимфатического взаимодействия. В результате создается интерстициальное депо без повреждения интерстиция, адекватный интерстициальный транспорт, динамическое насыщение истоков лимфатической системы и максимальное

проявление свойств препарата. Это выводит обоснование эффективности лимфотропной терапии на более высокий уровень в теоретическом и практическом плане.

ВЫВОДЫ

1. Кожа паховой области крысы имеет развитую ПК, интерстициальный компонент которой характеризуется необходимыми параметрами области лимфатического доступа и может выполнять функцию «интерстициального лекарственного депо».

2. Структурные и морфометрические изменения интерстиция ПК при традиционном введении цитостатиков приводят к атрофии клетчатки и фиброзу. При лимфотропном введении цитостатиков отсутствуют явления фиброза сохраняется лимфатический регион от интерстиция до лимфоузлов.

3. Лимфотропное введение цитостатиков имеет менее выраженный токсический эффект на структуру печени в сравнение с традиционным введением.

4. Лимфотропное введение цитостатиков приводит к менее выраженному токсическому эффекту на структуру головного мозга по сравнению с традиционным введением.

5. Гидравлическая проводимость интерстиция брыжейки для цитостатиков регулируется уровнем pH, зависит от дозы и температуры. Созданная комбинация цитостатиков для ЛТВ имеет устойчивый поток через интерстиций и соответствует адекватному интерстициальному транспорту.

6. Разработанные критерии морфофункциональной сохранности интерстиция и лимфатического региона позволяют вводить комбинацию цитостатиков для ЛТВ в интерстиций многократно и длительно.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Шилов А. Б.** Морфологические особенности интерстиция в условиях лимфотропного введения цитостатиков // **Естественные и технические науки.** – 2010. – № 2 (46). – С. 220-225, автора – 0,75 п.л.

2. **Шилов А. Б.** Функциональные особенности интерстиция в условиях лимфотропного введения цитостатиков // **Естественные и технические науки.** – 2010. – № 2 (46). – С.226-230, автора – 0,62 п.л.

3. **Шилов А. Б.** Особенности интерстициального транспорта адрибластина, винкристина и карбоплатана после лимфотропного введения (экспериментальное исследование)// **Естественные и технические науки.** – 2010. – 3 (47). – С.144-151, автора – 1,00 п.л.

4. Горяева Н. А., **Шилов А. Б.**, Гусин Д. Н., Завгородний И. Г. Методология создания модифицированных лекарственных растворов для лимфотропной терапии // Современные проблемы экологической физиологии : тезисы Международной научно-практической конференции. – Алматы, 2008. – С. 47, автора – 0,03 п.л.

5. Горяева Н. А., **Шилов А. Б.**, Гусин Д. Н., Завгородний И. Г., Горяев К. П. Технология создания модифицированных лекарственных растворов для лимфотропной терапии // Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии : материалы Международной конференции. Т. 1. – Новосибирск, 2008. – С. 79-80, автора – 0,05 п.л.

6. **Шилов А. Б.**, Горяева Н. А., Гусин Д. Н., Завгородний И. Г. Опыт лимфотропной терапии отечной формы рака молочной железы // Фундаментальные проблемы лимфологии и клеточной биологии : материалы Международной конференции. Т. 2. – Новосибирск, 2008. – С. 209-211, автора – 0,09 п.л.

7. Пат. на полезную модель № 70104 РФ, МПК А61В5/00. Устройство для определения массопереноса лекарственных веществ через интерстиций / Горяева Н. А., Гусин Д. Н, **Шилов А. Б.**, Завгородний И. Г. – № 2007133318/22; заявл. 05.09.2007; опубл. 20.01.08. – С. 3, автора – 0,09 п.л.

Автор искренне благодарен научному руководителю доктору медицинских наук, профессору Н. А. Гаряевой за научно-методическую помощь, к.м.н. Е. С. Патлусовой, сотрудникам Международного центра клинической лимфологии Д. Н. Гусину, К. П. Гаряеву и И. Г. Завгороднему, а также М. Ю. Ревякину за информационно-методическую и техническую поддержку.