

V. N. Bordakov, M. V. Doronin, P. V. Bordakov

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА «ФИБРИНОСТАТ М»

Государственное учреждение «432 ордена Красной Звезды Главный военный  
клинический медицинский центр Вооруженных Сил Республики Беларусь»

В данной работе представлены результаты, показывающие необходимость применения фибринового клея «Фибриностат М» для профилактики несостоятельности кишечных анастомозов.

**Ключевые слова:** «Фибриностат», бактериальная проницаемость, несостоятельность тонкокишечного анастомоза.

V. N. Bordakov, M. V. Doronin, P. V. Bordakov

## EFFICIENCY OF FIBRIN ADHESIVE «FIBRINOSTAT M»

Results of study allow recommended fibrin adhesive «Fibrinostat M» for intestinal suture sealing and for enteroanastomosis inconsistency prevention.

**Key words:** «Fibrinostat M», bacterial permeability, enteroanastomosis inconsistency.

Одной из важных проблем хирургии живота является достижение состоятельности хирургического шва. Несостоятельность швов при плановых и неотложных операциях на различных отделах желудочно-кишечного тракта – одно из наиболее частых и чрезвычайно опасных для жизни осложнений в раннем послеоперационном периоде [2-4, 6]. Основными причинами этого являются не только технические аспекты формирования анастомозов, но и состояние больного, характер болезни, определяющие те биологические условия, в которых оказывается сформированный анастомоз [1, 4, 6].

Использование различных видов швов (одно- или многорядные, механические), применение лазерной и электрохирургической техники, герметизация зоны анастомоза салъником, брюшиной, фасцией существенно не снижают частоту этих осложнений. [6-7].

Перспективными представляются попытки повышения герметичности анастомозов с помощью клеевых композиций – фибрин-желатинового или цианакрилатных клеев [1, 3]. Однако их применение имеет существенные недостатки. Так, цианакрилатные клеи отличаются гидрофобностью, общей и местной гистотоксичностью, слабым сцеплением с тканями и связанным с этим отторжением клеевой пленки в ранний срок после операции и нарушением герметичности швов. Слабое внедрение в хирургическую практику фибрин-желатиновых клеев связано с неуверенностью в прочности и достаточной адгезивности полимеризованной пленки, чрезвычайно высокой стоимостью зарубежных композиций, обогащенных свертывающими факторами крови [1, 3, 5].

Одним из вариантов решения вышеизложенных проблем является использование биологических клеев, которые обладали бы не только выраженным гемостатическим эффектом, но и хорошими пластическими свойствами позволяющие применять его для дополнительной герметизации линии швов анастомозов. Наиболее перспективными являются клеевые субстанции на основе фибрина. Уникальные природные качества фибрина позволяют ему играть роль матрицы и стимулятора регенерации при нанесении на раневую поверхность или укреплении хирургического шва [8].

В лаборатории экспериментальной патологии и трансфузиологии ГУ «РНПЦГТ МЗ РБ» (г. Минск) разработано композиционное лекарственное средство на основе естественных факторов свертывания «Фибриностат М». Он является препаратом медленного гемостатического действия, предназначен для укрепления хирургического шва при операциях на органах брюшной полости. В своем составе он содержит низкоактивный тромбин (10 Ед/мл), при применении которого полимеризация фибриногена происходит в течение 3,16+1,50 мин, и позволяет распределить клей по всей поверхности анастомоза.

Нами проведено сравнительное изучение механической прочности, микробной проницаемости и регенераторной способности хирургического шва, укрепленного «Фибриностатом М» в эксперименте, что было целью исследования.

### Материалы и методы

Эксперименты выполняли на 40 крысах линии Вистар обоего пола массой 230 +25 г. Животные были разделены на 2 группы: основную и контрольную, по 20 особей в каждой группе. Операции проводились под общим комбинированным внутривенным наркозом (реланиум 0,5 мг/кг и калипсол 3мг/кг). В обеих группах кишечные анастомозы «конец в конец» формировали по единой методике однорядными узловыми серозно-мышечно-подслизистыми швами после поперечного пересечения подвздошной кишки на расстоянии 30 мм от илеоцекального угла. В опытной группе на область швов циркулярно наносился «Фибриностат М». После образования белесоватой фибриновой пленки, покрывающей область шва, петли тонкой кишки аккуратно погружали в брюшную полость, операционную рану зашивали наглухо и животных выводили из наркоза.

Механическую прочность кишечного шва исследовали методом гидропрессии на 1, 3, 7, 14-е сутки после операции, для чего под наркозом проводили релапаротомию, дистальнее анастомоза пересекали подвздошную кишку и герметично фиксировали систему для нагнетания физиологического раствора, окрашенного метиленовым синим. Давление разрыва анастомоза или стенки кишки измеряли в мм. водного столба.

Микробную проницаемость анастомозов исследовали на 1 и 3 сутки после операции. Животным в стерильных условиях брали по два секторальных посева у каждой особи. Первый – с зоны анастомоза, второй – из просвета кишки. В ходе исследования изучался микробный пейзаж и обсемененность (КОЕ/г) анастомоза, укрытого «Фибриноста-том М» (основная группа), и контрольного анастомоза.

Для изучения регенераторной способности хирургического шва, на 1, 3, 7, 14 сутки производился забор материала для гистологического исследования. Ткани подвздошной кишки фиксировали в 10% растворе нейтрального формалина в течение не менее 36 часов. В дальнейшем материалы обезживали в спиртах возрастающей концентрации и заключали в парафин. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. В микропрепаратах оценивали активность репаративных процессов в области раны, выраженность деструктивных и воспалительных реакций.

### Результаты и обсуждение

При изучении механической прочности анастомозов обеих групп швы были физически герметичны на протяжении всего исследования. Однако механическая прочность анастомозов изменялась в течение всего периода наблюдения. Так на 1-е сутки после оперативного вмешательства она была невысока. При раздувании сегмента кишки во всех случаях произошел разрыв анастомоза. В то же время, обращала на себя внимание достоверно большая устойчивость к повышению давления в кишке анастомозов опытной группы по сравнению с контрольной. Так в контрольной группе давление разрыва кишки составило 230,2 + 41,2 мм. вод. ст., что в 1,57 раза меньше чем при укрытии «Фибриноста-том М» (362,2 + 41,7 мм. вод. ст.,  $P < 0,05$ ).

Таблица 1. Сравнительные результаты исследования механической прочности кишечного шва методом гидропрессии (мм.вод.ст.)

Срок исследования (сутки)	Опытная группа, (мм вод. ст.)	Контрольная группа (мм вод. ст.)
1	362,2 + 41,7*	230,2 + 41,2
3	861,6 + 51,3*	428,6 + 48,6
7	1932,1 + 15,9	1974,4 + 13,7
14	1992,0 + 25,0	1937,7 + 21,6

Примечание – \* – достоверность отличий по отношению к контролю при уровне значимости  $P < 0,05$ .

На 3-и сутки разрыв кишки происходил так же в области анастомоза, однако прочность анастомозов существенно возрастала. Следует отметить, что механическая прочность в опытной группе в 2 раза ( $P < 0,05$ ) превышала контрольную группу. В опытной группе давление разрыва кишки составило 861,6 + 51,3 мм. вод. ст., в контрольной – 428,6 + 48,6 мм. вод. ст.

На 7 и 14 сутки прочность шва значительно увеличилась и не имела достоверных различий. Разрыв стенки кишки происходил проксимальнее места анастомоза, в то время как линия шва оставалась состоятельной. Давление разрыва в опытной группе составила на 7 сутки 1932,1 + 15,9 мм. вод. ст. и на 14 сутки 1992,0 + 25,0

Таблица 2. Сравнительные результаты исследования микробной обсемененности кишечного анастомоза (КОЕ/г)

Срок исследования	Контрольная группа		Опытная группа	
	Просвет кишки	Анастомоз	Просвет кишки	Анастомоз
1 сутки	161,5+48,78	62,8+19,67**	138,00+12,76	15,8+5,56*,**
3 сутки	149,25+5,9	29,2+6,87**	147,6+52,7	2,8+1,64*,**

Примечание – \* – и – \*\* – достоверность отличий по отношению к контролю и просвету кишки (в каждой группе) при уровне значимости  $P < 0,05$ .

мм. вод. ст., в контрольной – 1974,4 + 13,7 и 1937,7 + 21,6 мм. вод. ст. соответственно.

В ходе экспериментального исследования также была изучена микробная проницаемость анастомозов. Доказано, что качественный состав микрофлоры, высеянной на 1 и 3 сутки с области анастомозов обеих групп, был идентичен микроорганизмам из просвета кишки. В основном были получены кишечная палочка в монокультуре или комбинация ее с протеем, энтерококком, цитобактером и стафилококком. Следует отметить что, с области анастомозов высевались только монокультуры: *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *Citobacter freundii*.

Все анастомозы опытной группы были «биологически состоятельны» на 1 и на 3 сутки, так как степень микробной обсемененности просвета кишки значительно превышала таковую в области кишечного шва. Аналогичные результаты, только с меньшей степенью достоверности, были получены и в контрольной группе.

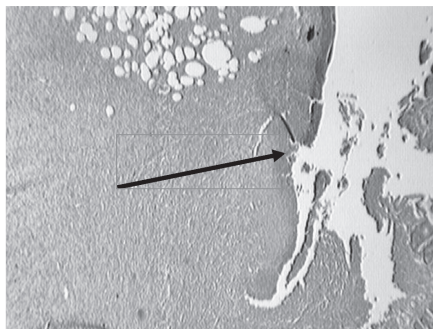
При сравнении микробной проницаемости анастомозов контрольной и опытной групп получено достоверное различие результатов на протяжении всех сроков наблюдения. Так на 1 сутки данный показатель в опытной группе (15,8+5,56 КОЕ/г) был в 3,98 ( $P < 0,05$ ) раза ниже контрольной (62,8+19,67 КОЕ/г). В дальнейшем, на 3 сутки, изолирующая способность анастомозов обеих групп значительно возрастала. Однако в группе с применением «Фибриноста М» микробная обсемененность анастомозов была в 10,4 ( $P < 0,05$ ) раза ниже контрольной. Она составляла 2,8+1,64 КОЕ/г и 29,2+6,87 КОЕ/г соответственно.

При релапаротомии в опытной группе на 1 сутки все инфильтративно-деструктивных изменений в зоне анастомоза и окружающих его тканей, признаков перитонита в брюшной полости не было обнаружено. Отмечалась умеренная гиперемия брюшины в окружности анастомоза. Линия швов была покрыта пленкой фибрина, которая в одном случае пропитанной геморрагическим эксудатом. Все контрольные анастомозы также были состоятельны. Имелась гиперемия висцеральной брюшины в области швов. Вздутия кишки не наблюдалось.

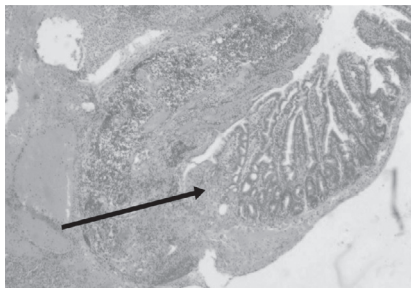
При микроскопическом исследовании биоптатов кишки опытной группы на 1-е сутки наблюдалась картина воспаления с лимфоцитарной и гранулоцитарной инфильтрацией, дефект ткани был заполнен тромбатическими массами. Гистологические изменения в контрольной группе существенных отличий не имели.

На 3-и сутки после операции в опытной группе зона анастомоза была без патологических изменений. У 1(5%) крысы отмечалось подпаивание большого сальника к области швов. Четко визуализировалась фибриновая пленка плотно прикрывающая линию швов, с контурирующимися через нее концами лигатур, которая при тракциях неподвижна.

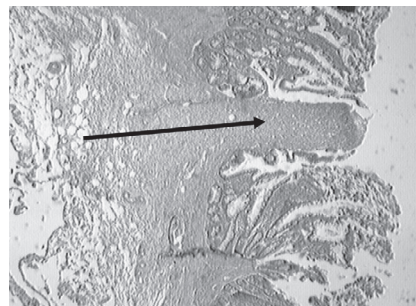




**Рисунок 1** – Микрофото. Зона анастомоза – признаки соединительно-тканной организации. 3 сутки, «Фибриностаг М». Окраска гематоксилин эозин. Ув. 30



**Рисунок 2** – Микрофото. Зона анастомоза – инфильтрацией всех слоев стенки кишки и фибробластической реакцией в зоне соединения тканей. 3 сутки, без применения «Фибриностага М». Окраска гематоксилин эозин. Ув. 50



**Рисунок 3** – Микрофото. Зона анастомоза – признаки соединительно-тканной организации с формированием однослойного эпителия слизистой оболочки. 7 сутки, «Фибриностаг М». Окраска гематоксилин эозин. Ув. 30

При микроскопии на 3 сутки в зоне швов укрытых «Фибриностагом М» появлялись признаки соединительно-тканной организации со значительным снижением количества лимфоцитов и гранулоцитов (рисунок 1).

На 3-и сутки спайки в области анастомоза и инфильтрация со стороны серозы обнаружены у 3 (15%) животных в контрольной группе. В 1 (5%) случае определялся выраженный отек тканей с наличием микроабсцесса (до 0,2 мл гноя). Так же у одной (5%) крысы в зоне анастомоза были обнаружены сгустки крови, выраженный отек тканей, признаки местного перитонита.

Гистологическая картина контрольных образцов характеризовалась выраженной воспалительной реакцией, инфильтрацией всех слоев стенки кишки и фибробластической реакцией в зоне соединения тканей. В краях дефекта отмечалось проникновение сосудистых почек в тромбатические массы со стороны серозной оболочки. В тромбатических массах преобладали обломки ядер лейкоцитов (рисунок 2).

К 7-м суткам после операции у особей опытной группы спаечный процесс в брюшной полости отсутствовал. Зона швов была покрыта плотной, белесоватой пленкой в виде возвышавшегося над серозной оболочкой валика. Края фибриновой пленки были плотно адаптированы к серозной оболочке, снять ее пинцетом было невозможно.

В контрольной группе в области анастомоза в 3 (15%) случаях отмечался спаечный процесс с вовлечением большого сальника. У 1 (5%) крысы обнаружен плотный инфильтрат состоящий из большого сальника, петель тонкой и толстой кишок, при разделении получено 0,5 мл гноя.

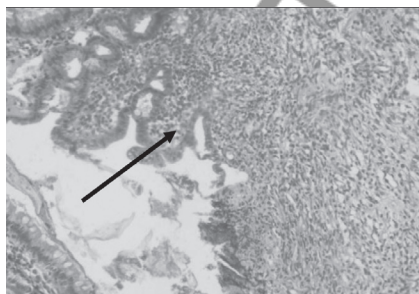
В гистологических срезах опытной группы отмечались выраженные признаки соединительно-тканной организации (рисунок 3).

Дефект ткани был полностью выполнен молодой грануляционной тканью обильно инфильтрованной лимфогистиоцитарными элементами с примесью эозинофилов и макрофагов. Со стороны слизистой отмечалось «наполнение» на грануляционную ткань полоски уплощенного кишечного эпителия. Со стороны серозного слоя и мышечной оболочки наблюдались явления фиброза.

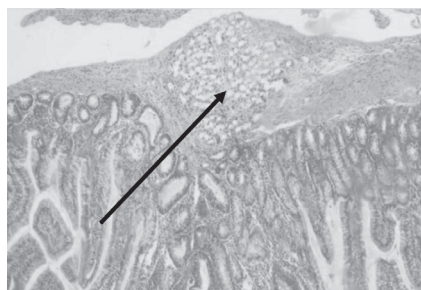
В контрольной группе в препаратах наблюдалась дефект стенки, который был заполнен грануляциями обильно инфильтрованными лимфогистиоцитарными элементами с примесью эозинофилов и макрофагов. Визуализировалась диффузная инфильтрация брыжейки круглоклеточными элементами. Эпителлизации слизистой оболочки не отмечалось. Остатки шовного материала были окружены зрелыми макрофагальными гранулемами (рисунок 4).

Через 14-ть суток после наложения швов у крыс опытной группы в брюшной полости выпота не было, линии швов были закрыты пленкой фибрина. По сравнению с седьмыми сутками пленка была не так заметна и менее контурировалась над поверхностью серозной оболочки. Микроскопически отмечалось полное зарастание зоны разреза соединительной тканью с полноценной регенерацией кишечных ворсинок. Признаки воспалительной инфильтрации отсутствовали (рисунок 5).

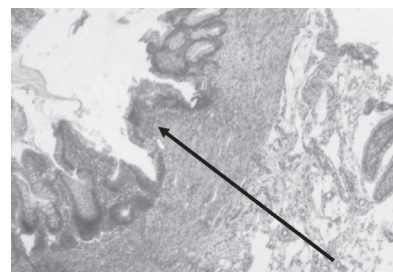
У контрольной группы на 14 сутки в 2 (10%) случаях был выраженный спаечный процесс в нижнем этаже брюшной полости. Идентифицированы и выделены пет-



**Рисунок 4** – Микрофото. Зона анастомоза – дефект стенки кишки, отсутствие эпителизации слизистой оболочки. 7 сутки, без применения «Фибриностага М». Окраска гематоксилин эозин. Ув. 50



**Рисунок 5** – Микрофото. Зона анастомоза – полное зарастание зоны разреза соединительной тканью с полноценной регенерацией кишечных ворсинок. 14 сутки, «Фибриностаг М». Окраска гематоксилин эозин. Ув. 50



**Рисунок 6** – Микрофото. Зона анастомоза – отсутствие эпителизации слизистой оболочки, очаговая воспалительная инфильтрация вокруг шовного материала. 14 сутки без применения «Фибриностага М». Окраска гематоксилин эозин. Ув. 50

Таблица 3. Характеристика макроскопической оценки анастомозов опытной и контрольной групп

Срок исследования	Наличие спаек в области анастомоза		Инфильтрация анастомоза		Несостоятельность швов	
	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа	Контрольная группа	Опытная группа
1 сутки	-	-	-	-	-	-
3 сутки	3 (15%)	1 (5%)	1 (5%)	-	2 (10%)	-
7 сутки	3 (15%)	-	1 (5%)	-	1 (5%)	-
14 сутки	2 (10%)	-	-	-	-	-
Всего	8 (40%)	1 (5%)	2 (10%)	0	3 (15%)	0

ли тонкой кишки, в зоне анастомоза. Последние деформированы, отечны, четко виден шовный материал.

Микроскопически в области дефекта определялась зрелая грануляционная ткань инфильтрированная лимфогистиоцитарными элементами с примесью эозинофилов и единичные нити шовного материала в краевом отделе, окруженные макрофагальными гранулемами с многоядерными клетками «инородных тел».

Отмечалось «наполнение» цилиндрического эпителия со стороны слизистой на область дефекта. В брыжейке – очаговый склероз и лимфоидная инфильтрация (рисунок 6).

Обобщенные данные макроскопической оценки представлены в таблице 3. Как видно из таблицы 3 контрольной группе животных в 40% случаев развивался выраженный спаечный процесс в области анастомоза, и в 15% случаев отмечалась несостоятельность швов. В то время как при применении «Фибриностата М» единичные спайки выявлялись только в одном случае (5%), а несостоятельность не наблюдалась на протяжении всего исследования.

Данная картина связана с тем, что фибриновая пленка изолирует поврежденный и воспаленный участок кишки от брюшной полости, чем предупреждает выпадение собственного фибрина, оседание на него мезотелиоцитов и образование фиброзных сращений.

#### Выводы

1. При нанесении «Фибриностата М» на зону кишечных анастомозов образуется фиксированная фибриновая пленка, которая сохраняет хороший адгезивный эффект, существенно увеличивает прочностные характеристики кишечных швов.

2. Микробиологические, морфологические исследования, проведение проб на гидропроницаемость, основной и контрольной групп показали более надежную герметизацию анастомоза, в укреплении которого использовался «Фибриностат М».

3. Применяемый для повышения герметизации межкишечных анастомозов «Фибриностат М» обладает способностью к быстрому образованию фибриновой пленки, гомологичностью и безопасностью, хорошо проникает в зону шва и заполняет отверстия от вколов иглы, позволяет равномерно

закрыть анастомоз по окружности, создает условия для ускорения процессов регенерации и формирования полноценного соединительно-тканного рубца.

#### Литература

1. Антонов, О.Н. Фибриновый клей в профилактике несостоятельности анастомозов «высокого риска» в плановой торакоабдоминальной хирургии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2006. – 24 с.
2. Галимов, О.В. Профилактика несостоятельности анастомозов полых органов желудочно-кишечного тракта (экспериментальное исследование) / О.В. Галимов [и др] // Хирургия. – 2006. – № 10. – С. 27-31.
3. Горский, В.А. Применение Тахокомба в абдоминальной хирургии / В.А. Горский, Б.К. Шукалин, И.В. Леоненко // М., 2003. – 160 с.
4. Дибиров, М.Д. Профилактика несостоятельности анастомозов на органах желудочно-кишечного тракта с помощью биологического клея «Биоклей – ЛАБ» / М.Д. Дибиров [и др] // Хирург. – 2007. – №10. – С. 47-50.
5. Пышков, Е.А. Патогенетическое обоснование применения латексного клея для герметизации кишечных швов: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – СПб, 2004. – 22 с.
6. Шот, А.В. Теория и практика кишечного шва / А.В. Шот, А.А. Запорожец // Минск. – 2006. – 177 с.
7. Царьков, П.В. Результаты использования циркулярных сшивающих аппаратов «Циркуляр-М» / П.В.Царьков [и др] // Анналы хирургии. – 2008. – № 1. – С. 59-64.
8. Rousou, J.A. Fibrin glue: An effective haemostatic agent for nonsuturable intraoperative bleeding. / JA Rousou, R.M. Engelman, RH. Breyer // Ann Thorac Surg. – 1984. – Vol. 38. – P. 409-410.

Поступила 11. 06.2013 г.