

Рагимов Р. М.

СПОСОБ ПРОФИЛАКТИКИ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ГНОЙНОМ ПЕРИТОНИТЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Дагестанская государственная медицинская академия, г. Махачкала, Россия

Включение озонированного физиологического раствора в комплекс лечебных мероприятий при гнойном перитоните способствует устранению инфекционного фактора и причин, приводящих к синдрому энтеральной недостаточности [1], что обусловлено бактерицидным, противовоспалительным, иммуномодулирующим и детоксикационным свойствами озона [1–3]. Но нестабильность озона в физиологическом растворе ограничивает возможность его применения при распространенных формах воспаления брюшины.

Известно, что озон хорошо растворим и стабилен в перфторорганических соединениях, в частности, перфторане [4, 5], который также используется при перитоните для предупреждения спаечных осложнений [6]. Однако сравнительная эффективность бактерицидных и других свойств озонированного перфторана мало изучена [2, 3].

Целью нашего исследования является обоснование эффективности использования озонированного перфторана для профилактики пареза кишечника и спайкообразования, а также санации брюшной полости при гнойном перитоните.

Материал и методы. Эксперименты проводились на половозрелых белых крысах (самцах) массой 140–160 г. Нами воспроизводилась модель калового перитонита по С. С. Ременику (1965) в 4 сериях опытов. После чего животным в брюшную полость инъецировали: в 1-й серии — озонированный перфторан, во 2-й серии — озонированный физиологический раствор, в 3-й серии — перфторан, в 4-й серии — физиологический раствор. Указанные препараты вводились однократно из расчета 2 мл на 100 г массы животного. Никаких других методов лечения в ходе эксперимента не применяли.

Использованные в работе растворы озонировали по нашей методике [4] с заданной концентрацией 5000 мкг/л. Концентрацию озона в них определяли на спектрофотометре НФ 254/1.

При проведении экспериментов были соблюдены международные требования работы с лабораторными животными («Principles of laboratory animal care», 1985) и получено согласие Этического комитета. Распределение животных по сериям и их выживаемость представлены в таблице.

Показатели летальности крыс в эксперименте

По 75 крыс	Пало с начала эксперимента					Пало всего, %, критерий χ^2
	1 сут	2 сут	3 сут	4–7 сут	8–14 сут	
1 серия	-	1	2	1	-	4 (5,3 %); [#] p = 0,00; ⁺ p = 0,000
2 серия	2	4	5	5	3	19 (25,3 %); ⁺ p = 0,000
3 серия	2	5	4	3	3	17 (22,7 %); ⁺ p = 0,000
4 серия	3	7	8	15	9	42 (56,0 %)
Итого:	7	17	19	24	15	82 (27,3 %)
Сравнение: [*] p — со 2-й серией; [#] p — с 3-й серией; ⁺ p — с 4-й серией						

Животных выводили из эксперимента на 1, 2, 3, 7 и 14-е сутки под хлороформным наркозом. После чего вскрывали брюшную полость, брали пробы перитонеального экссудата для микробиологического исследования и мазки-отпечатки. Использован материал от выживших крыс, а павших по ходу эксперимента животных вскрывали лишь для выяснения причин гибели и учёта летальности. В процессе эксперимента нами прослежена динамика развития перитонита, оценён микробный пейзаж и характер перитонеальной жидкости, а также внешний вид и состояние внутренних органов животных. Идентификация микробного состава перитонеального экссудата проведена по культуральным, морфологическим и биохимическим свойствам высеянной флоры; степень контаминации определена по титру микробных тел.

Статистическая обработка результатов исследования проведена с использованием компьютерной программы «Биостат», (версия 4.03). Вычислены показатели: средняя арифметическая (\bar{X}), стандартное отклонение (σ), стандартная ошибка средней арифметической (σ_x), медиана, min и max. После проведения дисперсионного анализа для множественных сравнений в группах использован критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони. Для отдельных показателей определены медиана (Me), 25-й и 75-й перцентили (p25, p75), а различия между группами определены по критерию Крускала–Уоллиса (парные множественные сравнения — по критерию Данна); для анализа таблиц сопряженности использован критерий χ^2 -квадрат.

Результаты и обсуждение. Один из показателей оценки эффективности методики — выживаемость животных — в динамике исследования в 1-й серии достоверно отличался в позитивную сторону (табл.). Макроскопическая картина брюшины и внутренних органов после введения озонированного перфторана на всех этапах исследования также была существенно лучше, чем во всех остальных сериях. У 70 (93,3 %) крыс 1-й серии распространённый гнойный перитонит не развивался, а ограничивался охватом одной или двух областей брюшной полости. Только в 5 (6,7 %) случаях наблюдалось распространение инфекционного процесса и развитие разлитого гнойного перитонита.

На 1-е сутки у крыс 1-й серии в брюшной полости обнаруживали 0,4–0,7 мл мутноватой жидкости с молочным оттенком, а визуальные изменения сводились к увеличению размеров селезёнки и набуханию брыжеечных лимфатических узлов. На 3–7-е сутки обнаруживали мелкие абсцессы диаметром 2–3 мм, а на 7–14-е сутки — отдельные, легко отделяемые спайки между соседними петлями кишок.

Но во 2-й серии у 19 (25,3 %) животных развился распространённый гнойный процесс, который охватывал всю брюшную полость (χ^2 ; $p = 0,002$, по сравнению с 1-й серией). При этом в ранние сроки обнаруживали 1–2 мл гнойной или гнойно-геморрагической жидкости, определялись абсцессы диаметром до 12–15 мм, а после 7-х суток были видны отчетливые спайки. Желудок был значительно вздут, в просвете тонкой кишки определялось желтоватое пенистое содержимое.

У животных 3-й серии (перфторан без озона) на 1-е сутки определялась мутноватая жидкость со следами перфторана. Визуальные изменения селезенки и лимфатических узлов также были более выражены, по сравнению с 1-й серией.

А в 4-й серии у всех крыс развивалась ярко выраженная картина распространённого гнойного перитонита. Животные были вялые, шерсть взъерошена; с 1-х суток переставали принимать пищу, а с 5-х — уже и воду. Отмечалась выраженная одышка. В течение первых 7 суток отмечался массовый падеж животных. В последующие сроки у выживших крыс обнаруживались абсцедированные спаечные конгломераты из петель тонкой кишки и тотальная кишечная непроходимость.

Цитологическая картина экссудата у крыс 4-й серии характеризовалась на 1-е сутки повышением, но со 2-х суток неуклонным снижением плотности нейтрофильных гранулоцитов, что свидетельствовало об истощении местных защитных реакций, распространении воспалительного процесса и нарастании интоксикации. Через 48 часов число нейтрофильных лейкоцитов уменьшалось в 2 раза и составляло $9,78 \pm 1,38$ клеток на 8000 мкм^2 . При этом увеличивалось количество моноцитов ($Me = 3$, $p_{25} = 2$, $p_{75} = 3$, $min = 2$, $max = 4$), тучных клеток ($Me = 2$, $p_{25} = 1$, $p_{75} = 2$, $min = 1$, $max = 2$), фибробластов (до $3,22 \pm 0,66$) и деструктивных клеток (до $7,67 \pm 1,23$). На этом фоне снижалась фагоцитарная активность лейкоцитов. В перитонеальных мазках определялись дистрофические лейкоциты с множеством микроорганизмов как внутриклеточно, так и вокруг них. На 1-е сутки количество деструктивных клеток и эозинофильных лейкоцитов увеличивалось более чем в 10 раз. На 2-е сутки доля деструктивных клеток составляла более 20 %, фибробластов — около 8,5 % (в 1-й серии фибробластов всего лишь 1,2 %, во 2 серии — 7,3 %).

На 7-е сутки у крыс 4-й серии наблюдались изменения, характерные для тяжёлого, тяжёлого гнойного воспаления. Количество моноцитов ($Me = 1$, $p_{25} = 1$, $p_{75} = 2$, $min = 1$, $max = 2$), эозинофильных лейкоцитов ($Me = 1$, $p_{25} = 1$, $p_{75} = 1$, $min = 0$, $max = 2$) и фибробластов ($2,37 \pm 0,54$) повышено. В полях зрения встречалось много фрагментов ядер и обломков клеток. Фагоцитарная активность микро- и макрофагальной системы перитонеальной жидкости резко падала: большинство макрофагов меньших, чем обычно, размеров, в их цитоплазме фагосомы не обнаруживались, а нейтрофильные лейкоциты — в стадии незавершённого фагоцитоза. В мазках видны скопления клеток и фибриновые переплетения.

Как показывают наши наблюдения, изменения клеточного состава экссудата отчетливо коррелировали с тяжестью воспалительного процесса и свидетельствовали о наименьшей выраженности его в 1-й серии, где более чем в 2 раза увеличивалось число фагоцитирующих клеток с широкой вакуолизированной цитоплазмой ($9,33 \pm 0,99$; у интактных животных — $3,88 \pm 1,17$, $p = 0,000$). В их цитоплазме нередко обнаруживались и микробные включения, представленные в основном ассоциациями кокков, реже палочек, а также фрагменты клеток. Лишь в отдельных препаратах скопления микроорганизмов определялись внеклеточно, вокруг нейтрофильных лейкоцитов.

Выраженность спаечного процесса в сериях опытов росла пропорционально увеличению количества фибробластов в перитонеальной жидкости, что в наибольшей степени выражено было также в 4-й серии (на 2-е сутки фибробластов насчитывали до 8,5 %, а деструктивных клеток — до $7,67 \pm 1,23$). Напротив, в 1-й и 3-й сериях количество фибробластов было значительно меньше (соответственно 1,2 % и 2,7 %).

Микробиологическая картина перитонеальной жидкости в условиях развивающегося перитонита (4 серия — каловая взвесь + физиологический раствор) прослежена нами лишь до 7-х суток, т. к. до 14-х суток большинство крыс не доживало. На всех использованных средах в 1-е сутки отмечался сплошной ползучий рост. На 2-е сутки на кровяном (КА) и щелочном (ЩА) агарах, из-за обильного роста культуры, трудно было определить форму колоний. Вся поверхность ЩА в эти сроки и до 7-х суток была сплошь проросшая *Pr. vulgaris*. В мазках определялись в значительном количестве *E. coli* и *Staphylococcus aureus*. Титр микробных тел составлял около 25×10^6 м.к. в 1 мл.

Принципиально отличалась микробиологическая картина экссудата у животных серии с озонированным перфтораном. В первые сутки на всех средах отмечались от 5 до 8 колоний диаметром 2–3 мм, к 3-м суткам оставались лишь единичные колонии, а к 7-м суткам и последующие сроки посева роста не давали. А во 2-й и 3-й сериях рост культур был более существенным по сравнению с 1-й серией.

Выводы:

1. Развитие экспериментального калового перитонита у животных на фоне введения физиологического раствора характеризуется быстрым распространением воспалительного процесса и сопровождается высокой летальностью (56,0 %; $p = 0,000$).

2. Внутривентральное применение озонированного перфторана при гнойном перитоните позволяет снизить микробное число перитонеального экссудата в 10^2 – 10^5 раз, развитие спаечного процесса в 2,5–4,5 раза. При этом показатели летальности также снижаются: по сравнению со 2-й серией на 20,0 % ($p = 0,003$), с 3-й — на 16,6 % ($p = 0,005$) и с 4-й — на 50,7 % ($p = 0,000$).

3. Внутривентральное применение озонированного перфторана не сопровождается какими-либо неблагоприятными побочными эффектами, поэтому может быть рекомендовано для широкого применения в клинической практике.

ЛИТЕРАТУРА

1. Крылов, В. Г. Некоторые патофизиологические аспекты эффективности озонотерапии при перитоните : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.03.03 / В. Г. Крылов. М., 2006. 18 с.

2. Мохов, Е. М. Применение озонированного Перфторана при лечении гнойных ран / Е. М. Мохов, С. И. Воробьев, А. Р. Армасов // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. 2012. Т. 5, № 2. С. 325–330.

3. Рагимов, Р. М. Сравнительная эффективность применения озонированного перфторана и озонированного физиологического раствора при экспериментальном перитоните / Р.М. Рагимов // Актуальные проблемы и достижения в медицине : материалы II Междунар. науч.-практ. конф. Самара, 2015. С. 203–205.

4. Рагимов, Р. М. Способ озонирования перфторана : патент РФ на изобретение № 2445076 от 20.03. 2012 г. / Р. М. Рагимов, А. О. Османов, А. М. Голубев.

5. Разумовский, С. Д. Растворы озона в субстратзамещающих перфторорганических жидкостях и их свойства / С. Д. Разумовский, В. В. Подмастерьев // Озон и методы эфферентной терапии в медицине : тез. докл. IV Всерос. науч.-практ. конф. Н. Новгород, 2000. 168 с.

6. Ярема, И. В. Перфторан в профилактике образования послеоперационных спаек при перитоните (экспериментальное исследование) / И. В. Ярема, М. А. Магомедов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2003. Т. 136, № 12. С. 661–663.

Ragimov R. M.

Way of prevention of complications at purulent peritonitis in experiment

Daghestan State Medical Academy Makhachkala, Russia

In 4 sets of experiments the influence of ozonized perfluorane, ozonized saline solution, perfluorane without ozone and effects of physiological solution on the current of purulent processes in an abdominal cavity was investigated. It was established that application of ozonized perfluorane is more effective than ozonized saline solution and perfluorane without ozone for prevention of paresis of intestines and adhesive process, and for sanitation of an abdominal cavity at peritonitis.

Key words: peritonitis, perfluorane, ozone, paresis, adhesions.