

УДК 616.381-002-031.81

*В.В. Бойко, В.К. Логачев, Н.А. Ремнёва, М.Е. Тимченко,
В.П. Невзоров, О.А. Головина*

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА ПРЕПАРАТА ДЛЯ САНАЦИИ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ ПРИ ОСТРОМ РАЗЛИТОМ ПЕРИТОНИТЕ

ГУ «Институт общей и неотложной хирургии НАМН Украины», Харьков

Изучены морфологические и ультраструктурные изменения мезотелия брюшины крыс и бактериальная обсемененность после санации брюшной полости 0,3% раствором H_2O_2 и Декасаном при экспериментально моделированном разлитом перитоните. Установлено, что применение 0,3% раствора H_2O_2 проявляет выраженное местно-раздражающее действие на ткани и мезотелий брюшины, интенсифицирует острый перитонит и незначительно снижает уровень бактериальной обсемененности брюшины. Декасан проявляет высокую эффективность в отношении бактериальной флоры и не оказывает местно-раздражающего действия на ткани и мезотелий брюшины, а также достоверно снижает уровень бактериального загрязнения брюшной полости.

Ключевые слова: острый перитонит, брюшина, мезотелий, перекись водорода, декасан.

Последние десятилетия не отмечается существенного улучшения непосредственных результатов лечения послеоперационного перитонита [3, 4]. Применение антибиотиков в условиях системной антибактериальной терапии в настоящее время утрачивает былой эффект из-за роста числа полирезистентной микрофлоры [1, 5]. В связи с этим все большую роль приобретает качественная санация брюшной полости, от адекватности которой во многом зависит ход заболевания, характер и частота осложнений [2, 6]. Имеются многочисленные исследования бактериологической оценки эффективности применения различных препаратов для санации брюшной полости, в то же время достоверных данных повреждающего действия антисептиков на ткани вообще и мезотелий брюшины в частности нет ни в зарубежной, ни в отечественной литературе.

Целью данного исследования является сравнительная оценка антибактериальной активности и морфологических изменений мезотелия брюшины крыс после санации брюшной полости рядом антисептиков при экспериментально моделированном разлитом перитоните в различные сроки от начала заболевания.

Материалы и методы

Исследование основывается на результатах эксперимента на 16 крысах линии Вистар массой тела 160-180 г. Операции выполнялись

под внутримышечным наркозом Кеталексом из расчета 12,5 мг на 100 г. массы тела крысы. Содержание и уход за животными производились в виварии института в соответствии с положениями Страсбургской конференции. Животным моделировался перитонит путем перевязки отсечения червеобразного отростка и оставлением его в брюшной полости. Через 16-18 часов выполнялась релапаротомия и удаление отростка. Дальнейший объем определялся задачами каждой группы. Животные были разделены на три группы. В 1 – контрольной – брюшная полость только осушивалась и другие действия не выполнялись. Во 2 – после устранения источника перитонита брюшная полость дважды промывалась растворами хлорида натрия 0,9% и перекиси водорода 3% в соотношении 9:1 (0,3% раствор перекиси водорода). В 3 группе, после устранения источника перитонита брюшная полость дважды промывалась Декасаном (0,02% раствор декаметоксина). Через 8 часов выполнялась релапаротомия и забор ткани брюшины для гистологического и электронномикроскопического исследования. Забор материала для бактериологического исследования проводился до и после санации брюшной полости. Для гистологического исследования кусочки брюшины фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина. Затем материал подвергался стандартной проводке через спирты увеличивающейся концентрации, жидкость Никифорова (96% спирт и диэтиловый эфир в

соотношении 1:1), хлороформ, после чего заливался парафином. Из приготовленных таким образом блоков делались серийные срезы толщиной 4-5 мкм. Препараты окрашивались гематоксилином и эозином. Каждый исследуемый случай подвергался обзорной микроскопии. Кусочки ткани для электронно-микроскопического исследования сразу после иссечения помещались в каплю фиксатора и измельчались. Затем ткань для предварительной фиксации переносили в 2,5% забуференный раствор глутаральдегида на 2-3 часа при температуре 4°C. По окончании предварительной фиксации ткань промывали в забуферном растворе и помещали для окончательной фиксации в 1% забуференный раствор четырехоксида осмия на 2-3 часа при температуре 4°C. Дегидратацию осуществляли в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне.

Пропитывали ткань в смеси эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков проводили в термостате при температуре 60°C в течение двух суток. Из полученных блоков на ультрамикротоме УМТП-6 получали ультратонкие срезы, монтировали их на электролитические сеточки и, после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ-100БР при ускоряющем напряжении 75 кВ. Микробиологическое исследование заключалось в количественном определении содержания микроорганизмов в содержимом брюшной полости, которое выражалось в КОЕ/мл.

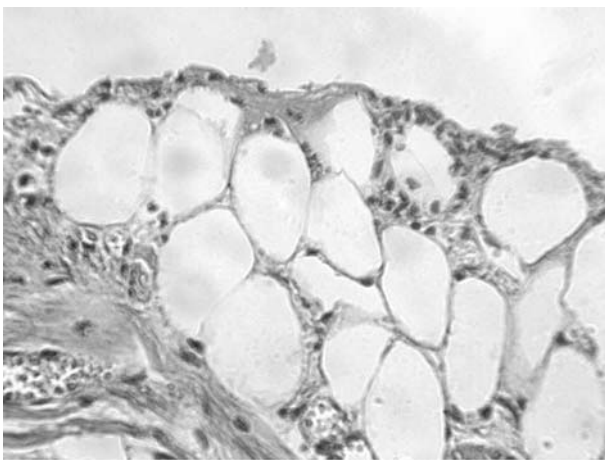


Рис. 1. Брюшина крысы группы P1. Острый гнойно-фибринозный перитонит, полнокровные сосуды, умеренное набухание мезотелия. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$.

Результаты и обсуждение

Первая группа (контрольная). Макроскопически висцеральная брюшина гиперемирована, с участками кровоизлияний. На поверхности брюшины и петель кишок визуализируются фибринозные наложения и пленки в большом количестве. Между петлями кишок умеренные скопления гнойного экссудата, стенка кишки дряблая, при натяжении не рвется. Мезотелий умеренно набухший, цитоплазма клеток пеннистая, ядра умеренно гипохромные (рис. 1.).

При электронно-микроскопическом исследовании ядра мезотелиальных клеток имели неправильную форму, ядерная мембрана образовывала глубокие и мелкие инвагинации. Перинуклеарные пространства неравномерно расширены и имели вид электронно-прозрачных везикул. Зачастую наблюдались множественные очаги лизиса ядерной оболочки. Гранулы деконденсированного хроматина диффузно рассеяны в центральной области матрикса ядра (рис. 2.).

При количественном анализе микрофлоры в перитонеальном экссудате было установлено, что исходное количество во всех группах составляло 50×10^6 КОЕ в 1 мл (lg 7,7).

Вторая группа (санация 0,3% раствором перекиси водорода). Макроскопически висцеральная брюшина умеренно гиперемирована, с мелкоочаговыми кровоизлияниями. На поверхности брюшины и петель кишок визуализируются незначительные фибриноз-

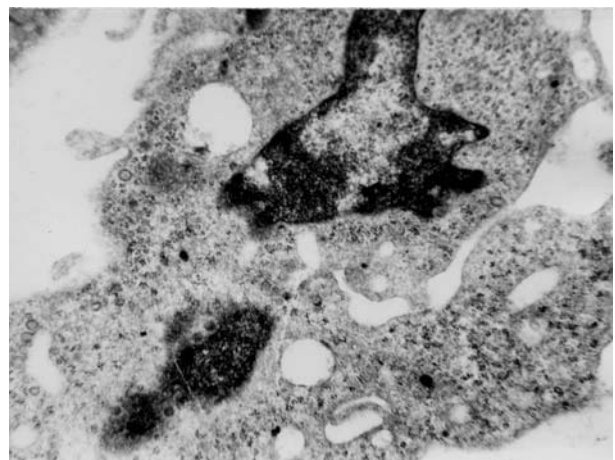


Рис. 2. Ультраструктура мезотелиальных клеток брюшины крыс 1-й группы. Глубокие инвагинации ядерной мембраны, конденсация хроматина. $\times 38\,000$. Контрастировано цитратом свинца.

ные наложения и единичные рыхлые пленки. Между петлями кишок умеренные скопления серозного экссудата, стенка кишки плотная, при натяжении не рвется. Мезотелий резко набухший, большей частью десквамирован целыми пластами, цитоплазма клеток слабо эозинофильная, пеннистая, ядра гипохромные (рис. 3.).

В ультраструктурной организации органелл мезотелиальных клеток брюшины после проведения санации брюшной полости раствором перекиси водорода сохраняются деструктивные нарушения, характерные для перитонита. Более того ультраструктурные нарушения органелл мезотелиальных клеток брюшины, зачастую по глубине и степени выраженности превосходили таковые в клетках до обработки перекисью водорода. Ядерная мембрана образовывала довольно глубокие инвагинации с очагово расширенным перинуклеарным пространством. Конденсированный хроматин ядра собран в осмиофильные глыбки, которые локализовались по периферии ядерной мембраны. В матриксе ядра образовывались электронно-прозрачные области, заполненные свободно лежащими гранулами деконденсированного хроматина. Цитоплазма вокруг ядра практически не содержала органелл, обладала низкой электронной плотностью и имела грубо комковатую структуру (рис. 4.).

После санации брюшной полости раство-

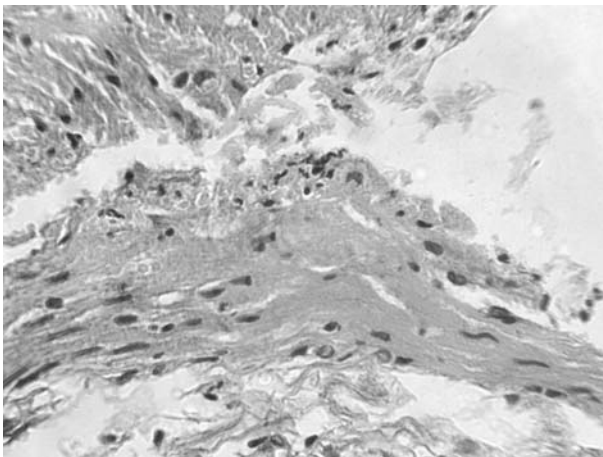


Рис. 3. Брюшина крысы 2-й группы. Острый гнойно-фибринозный перитонит, разрыхление волокнистых элементов брюшины, незначительная лейкоцитарно-макрофагальная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$.

рами перекиси водорода (0,3%) число микрофлоры снижалось на порядок – 5×10^6 (lg 6,7) КОЕ/мл.

Третья группа (санация брюшной полости раствором декасана). Макроскопически висцеральная брюшина гиперемирована, с участками кровоизлияний. На поверхности брюшины и петель кишок визуализируются фибриновые наложения и рыхлые пленки в небольшом количестве. Между петлями кишок небольшие фокусы скопления гнойного экссудата, стенка кишки дряблая, при натяжении не рвется. Мезотелий местами умеренно набухший, цитоплазма клеток пеннистая, ядра умеренно гипохромные (рис. 5.).

После моделирования перитонита и последующей санации раствором декасана в ультраструктурной архитектонике мезотелиальных клеток брюшины наблюдается тенденция к повышению уровня репаративных внутриклеточных процессов.

Ядра мезотелиоцитов приобретают округлую слегка втянутую форму, уменьшается количество и глубина инвагинаций ядерной мембраны. Ширина перинуклеарных пространств несколько уменьшается. Возрастает количество ганул деконденсированного хроматина, которые более равномерно распределяются по площади среза ядра. Хроматин в конденсированной форме располагался вблизи ядерной мембраны (рис. 6.).

В 3 серии животных, которым санация

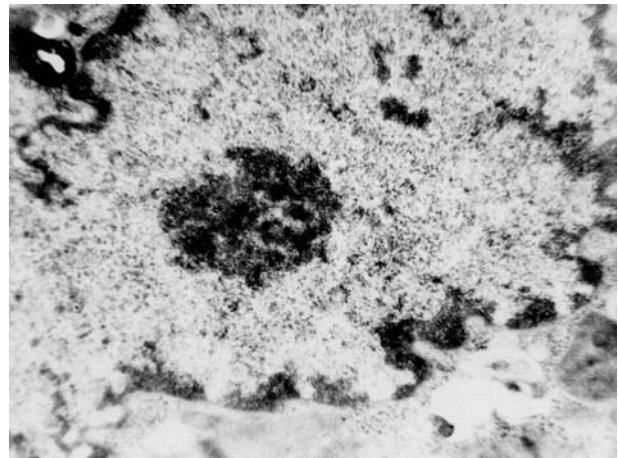


Рис. 4. Ультраструктура мезотелиальных клеток брюшины крыс 2-й группы. Инвагинации и очаговый лизис ядерной мембраны, электронно-прозрачная область в центре матрикса ядра. $\times 52\,000$. Контрастировано цитратом свинца.

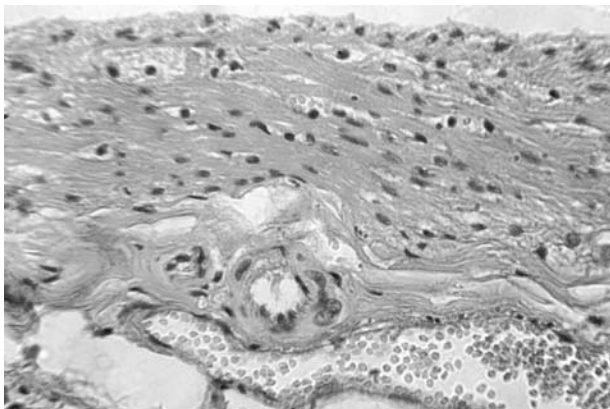


Рис. 5. Брюшина крысы 3-й группы. Острый гнойно-фибринозный перитонит, умеренная диффузная воспалительная инфильтрация, полнокровие вен. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 200$.

брюшной полости проводилась декасаном, микробная обсемененность содержимого брюшной полости составила $10-100 \times 10^3$ ($\lg=4-5$, в среднем – 4,5) КОЕ/мл.

Анализируя морфологическое состояние мезотелия брюшины после санации экспериментально моделированного перитонита, следует отметить тот факт, что выбранные нами антисептики демонстрируют различную эффективность как в динамике развития воспалительного процесса (перитонита), так и в отношении мезотелиальных элементов. При санации воспалительного очага 0,3% раствором H_2O_2 при микроскопическом исследовании документируется тяжелая дистрофия, отек и десквамация мезотелия. При этом, уже во временные сроки 20-24 часа указанные патологические изменения тканей брюшины и мезотелия соответствуют по выраженности и тяжести таковым, как при несанированном перитоните (контрольная группа). Это объясняется тем, что основной механизм действия перекиси водорода состоит в том, что при контакте с тканями она распадается на воду и молекулярный кислород (эта реакция происходит под влиянием фермента каталазы, содержащегося в любых органических соединениях). Выделяющийся кислород производит окисляющее действие не только на микроорганизмы, но и агрессивно воздействует на окружающие органические компоненты здоровых тканей, тем самым разрушая их. В поврежденных тканях резко ухудшается способность фиксации шовного материала (за счет их разрыхления и отека), а массивная десквамация мезотелия

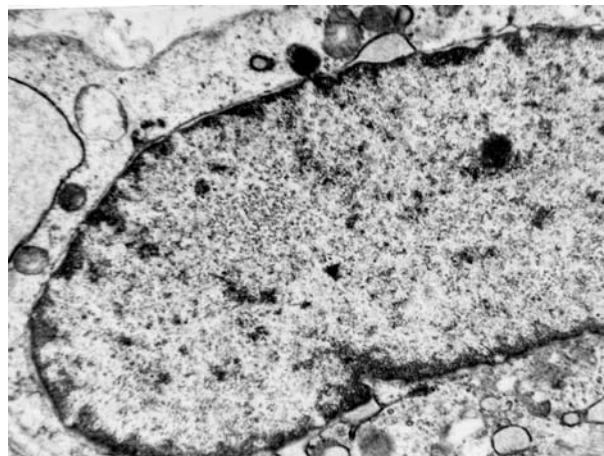


Рис. 6. Ультраструктура мезотелиальных клеток брюшины крыс 3-й группы. Увеличение количества деконденсированного хроматина, умеренное расширение перинуклеарного пространства. $\times 49\ 000$. Контрастировано цитратом свинца.

будет усугублять с одной стороны, экссудативные проявления, а с другой – способствовать развитию спаечного процесса. В субмикроскопической архитектонике мезотелиальных клеток брюшины сохраняются деструктивные изменения в виде очагового лизиса ядерной мембраны, участков наружных мембран и крист митохондрий, а также цитоплазматической мембраны, что свидетельствует о протекании катаболических внутриклеточных процессов. Структурно развитие катаболических процессов подтверждается наличием в цитоплазме мезотелиальных клеток вторичных лизосом. Сохраняется выраженная митохондриальная дисфункция. Исходя из наблюдаемых ультраструктурных изменений мезотелиальных клеток, можно сделать вывод, что санация брюшной полости раствором перекиси водорода не способствует активации репаративных процессов на субмикроскопическом уровне.

При санации брюшной полости при разлитом перитоните, согласно нашим исследованиям, наилучшие результаты и наибольшую эффективность санации демонстрируют применение Декасана. Местно-раздражающие, резорбтивные и сенсibiliзирующие свойства у Декасана не выражены, его применение не мешает заживлению тканей, не оставляет следов на тканях. Декасан не приводит к отеку тканей брюшины и сальника, что обеспечивает хорошую фиксацию шовного материала и, щадяще воздействуя на мезотелий

брюшины, минимизируют развитие спаечного процесса в послеоперационном периоде. Выявленные ультраструктурные перестройки мезотелиоцитов брюшины в условиях перитонита после проведения санации раствором декасана свидетельствуют о тенденции к активации метаболических внутриклеточных процессов. Это косвенно подтверждается уменьшением количества очагов лизиса мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума и митохондрий и развитием умеренной гипертрофии пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи, а также отсутствием вторичных лизосом в цитоплазме.

Выводы

1. Санация брюшной полости при остром разлитом перитоните 0,3% раствором H_2O_2 – неэффективный метод профилактики и лечения вторичных осложнений разлитого перитонита. Применение 0,3% раствора H_2O_2 проявляет выраженное местнораздражающее действие на ткани и мезотелий брюшины, тем самым интенсифицируя явления перитонита, снижая эффективность фиксации шовного материала и способствуя развитию спаечного процесса в послеоперационном периоде.

2. Санация брюшной полости при остром разлитом перитоните 0,02% раствором декаметоксина (Декасаном) – наиболее эффективный метод профилактики и лечения вторичных осложнений разлитого перитонита. Декасан проявляет высокую эффективность в отношении бактериальной флоры и не оказывает местно-раздражающего действия на ткани и мезотелий брюшины, снижает отек тканей брюшины и сальника, что обеспечивает хорошую фиксацию шовного материала и, шадяще воздействуя на мезотелий брюшины, минимизируют развитие спаечного процесса в послеоперационном периоде.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ ВИБОРУ ПРЕПАРАТУ ДЛЯ САНАЦІЇ ЧЕРЕВНОЇ ПОРОЖНИНИ ПРИ ГОСТРОМУ РОЗЛИТОМУ ПЕРИТОНИТІ

В.В. Бойко, В.Л. Логачов, Н.О. Ремньова, М.Є. Тимченко, В.П. Невзоров, О.О. Головіна

Вивчені морфологічні і ультраструктурні зміни мезотелію очеревини щурів і бактеріаль забрудненість на після санациі черевної порожнини 0,3% розчином H_2O_2 і Декасаном при експериментально моделюваному розлитому перитоніті. Встановлено, що застосування 0,3% розчину H_2O_2 проявляє виражену місцево-подразнювальну дію на тканини і мезотелій очеревини, інтенсифікує гострий перитоніт і незначно знижує рівень бактерійної забрудненості очеревини. Декасан проявляє високу ефективність відносно бактерійної флори і не чинить місцево- подразнювальної дії на тканини і мезотелій очеревини, а також достовірно знижує рівень бактерійного забруднення черевної порожнини.

Ключові слова: гострий перитоніт, очеревина, мезотелій, перекис водню, декасан.

EXPERIMENTAL GROUND OF CHOICE OF PREPARATION FOR SANATION OF ABDOMINAL CAVITY AT THE ACUTE Poured OUT PERITONITIS

V.V. Boyko, V.K. Logachov, N.A. Remneva, M.E. Timchenko, V.P. Nevzorov, O.A. Golovina

The morphological and ultrastructural changes of mesothelium of peritoneum of rats and bacterial contamination after sanitation of an abdominal cavity by 0,3 % solution H_2O_2 and Decasan are studied at experimentally simulated poured peritonitis. It is established that application of 0,3 % of solution H_2O_2 shows expressed local irritation action on a tissue and mesothelium peritoneum's and intensifies a sharp peritonitis. Decasan shows high efficiency concerning sanitation of bacterial flora and doesn't render local irritation action on a tissue and mesothelium a peritoneum.

Key words: acute peritonitis, peritoneum, mesothelium, peroxigen, Decasan.

ЛИТЕРАТУРА

1. Выбор санирующих растворов и методов ушивания брюшной стенки при разлитом гнойном перитоните [Текст] / С.О. Косильников, С.И. Карпенко, С.А. Тарнапольский, К.В. Кравченко // Украинський Журнал Хірургії. – 2009. – № 3. – С. 95-98.
2. Ендогенна інтоксикація при гострому перитоніті та його лікування / В.О. Кавин, Ю.Л. Попович, Н.Є. Ковальчук, В.М. Федорак // Шпитальна хірургія. – 2009. – № 1. – С. 49-51.
3. Ошибки выбора тактики хирургического лечения распространенного перитонита [Текст] / В.С. Савельев, М.И. Филимонов, П.В. Подачин, С.В. Чубченко // Анналы хирургии. – 2008. – № 1. – С. 26-32.
4. Перитонит / [Савельев В.С., Гельфанд Б.Р., Филимонов М.И. и др.]; под ред. В.С. Савельева. – М. : Литтерра, 2006. – 208 с.
5. Ren J.A. [et al.] Management of tertiary peritonitis in the patients complicated with intestinal fistula. – Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi. – 2006. – Vol. 9 (4). – P. 284-286.
6. Sepsis and multiple organ dysfunction / E.A. Deitch, J.L. Vinsent, W.B. Sounders // London, 2002. – 370 p.