

САНАЦИЯ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ БИОСЕРЕБРОМ В ЛЕЧЕНИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПЕРИТОНИТА

© Авторы, 2014

© ЗАО "Издательство "Радиотехника", 2014

М.М. Магомедов

д.м.н., профессор, кафедра хирургии ФПК и ПСС, Дагестанская государственная медицинская академия (г. Махачкала)
E-mail: mxkita@mail.ru

Ш.Х. Рабаданов

зам. гл. врача по хирургии, Республиканская клиническая больница (г. Махачкала)

П.М. Нурнагомедова

д.м.н., и.о. гл. акушера-гинеколога Республики Дагестан (г. Махачкала)

З.А. Магомедова

к.м.н., зав. гинекологическим отделением, Республиканская межрайонная многопрофильная больница (г. Махачкала)

Г.М. Ганзатов

клинический ординатор, Республиканская межрайонная многопрофильная больница (г. Махачкала)

Проведено экспериментальное исследование на 27 кроликах породы шиншилла массой тела 3...4,5 кг, на которых воспроизведена модель остро распространенного гнойного перитонита. Изучено влияние 0,25 %-го аргоента на уровне антимикробной и неспецифической резистентности клеточного типа.

Ключевые слова: арговит, биосеребро, распространенный гнойный перитонит.

An experimental study on 27 chinchilla rabbits weighing 3-4.5 kg, which reproduced the model of acute common pyoperitonitis. The effect of 0, 25% Argovit level is of antimicrobial resistance and non-specific cell type.

Keywords: Argovit, bio silver, common pyoperitonitis.

Частным осложнением деструктивного процесса брюшной полости является развитие перитонита. Несмотря на совершенствование хирургических методов лечения, летальность при распространенном гнойном перитоните (РГП) остается высокой [1]. В связи с этим перитонит является основной проблемой неотложной хирургии. Сложившаяся тактика лечения заключается в хирургическом устранении источника внутрибрюшной инфекции и адекватной санации брюшной полости с проведением целенаправленной антибактериальной терапии [7, 12, 13].

Основной причиной смерти больных в послеоперационном периоде является прогрессирующая недостаточность, резистентная к самым современным схемам антибактериальной терапии [1]. Источником интоксикации служат экссудат брюшной полости, брюшина и содержимое кишечника. Ликвидация источника перитонита и тщательная интраоперационная санация брюшной полости не позволяют полностью устранить очаг инфекции. Необходимо воздействовать на патогенную флору в брюшной полости. Несмотря на широкий арсенал антибактериальных средств и способов лечения перитонита, актуальность разработки новых

методик борьбы с абдоминальной инфекцией не вызывает сомнения [6, 8].

Исследование свойств наночастиц биосеребра показало его антимикробное действие в отношении грамположительных и грамотрицательных, аэробных и анаэробных бактерий [2-4].

Арговит представляет собой высокодисперсное (кластерное) серебро, стабилизированное полимером медицинского назначения – низкомолекулярным поливинилпирролидоном [3, 4]. Актуальным является использование методики моделирования экспериментального перитонита для апробации эффективности влияния суспензий наночастиц серебра на антибактериальную иммунологическую активность при распространенном гнойном перитоните.

Цель исследования: изучить антимикробные, иммунологические и противовоспалительные свойства аргоента при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 27 кроликах породы шиншилла массой тела 3...4,5 кг, на которых вос-

проводилась модель острого респираторного гравитоза паритонита по методике В.А. Давыдова и соавт. [5].

Темпалли 10%-ную взвесь фекалий в физиологическом растворе хлорид натрия. Полученную смесь фильтровали через двойной слой марли и вводили интраперитонеально под давлением вакуумированного шприца из одного ввода (в центре белой линии живота) в правую и левую подреберья в правую и левую поддиафрагмальные области из расчета 0,5 мл на 100 г массы тела.

Через сутки у всех животных развивался распространяющийся гнойный паритонит, что подтверждалось макроскопической картиной бактериологическими, цитологическими и гистологическими исследованиями.

При вскрытии брюшной полости отмечали покраснение брюшины с наличием мелкоочаговых кровянистых пятен на паритониях и висцеральных листках и наличие серозно-фибринового экссудата распространяющегося характера. Гистологические исследования выполнялись на анализаторе «Modios 620» (Швеция). Дифференциальный подсчет клеток крови проводили путем микроскопии мазков, окрашенных по Романовскому.

Функциональное состояние лейкоцитов гранулоцитов (ПГ) изучали по содержанию катионного белка (КБ) и миелопероксидазы (МПО) с помощью специального цитологического анализатора (СЦП) КБ и МПО формулы [9-11]

$$СЦП = (4a + 3d + 2e + b) / 100,$$

где а, б, с, d — количество клеток с четкой высокой, высокой, средней и низкой активностью соответственно.

Имуногистохимический анализ клеток крови и гистологическая картина проводили традиционным методом (предваривали систему визуализации Novocastin™ RTU, RE7100-K). Клетки фиксировали в 4%-ном растворе, демонстрируя исследуемые кластеры дифференцированно проводили тропингом X-100 (0,3%-ный раствор в фосфолин буфере).

Ежедневно проводили бактериологическое исследование рвотного отделяемого, при выявлении возбудителя осуществляли идентификацию с использованием автоматического бактериологического анализатора ВНИ. Суэц (США).

Все животные были разделены на четыре группы:

1-я группа (n = 5) — кролики с моделью перитонита без оперативных вмешательств; 2-я группа (n = 8) — кролики через сутки после развития пе-

ритонита вывелись кастратомно и осуществляли прием обезболивающего из брюшной полости, после удаления экссудата фиброзную полость промывали водным раствором хлороксида 0,25%-ного, 3-я группа, основанная (n = 8) — кролики проводили операцию брюшной полости 0,25%-ным раствором аргента на дистиллированной воде; 4-я группа (n = 6) интактная, за которую были приняты показатели иммунологической реактивности клеточного типа протестированы здоровых кроликов. Животные 1, 2 и 3-й групп с первого дня получали гемостазин 30 мг один раз в сутки.

Для введения 0,25%-ный раствор аргента готовили добавлением 2,5 мл 20%-ного раствора аргента к 200 мл стерильной дистиллированной воды. Причем последние партия из брюшной полости активно аспирировались с целью выведения особенностей ультраструктурных перестроек мезоэпителиальных клеток брюшины в процессе заживления, зонных эпителиальных изменений отделяемого из бактериологическое исследование отделяемого из брюшной полости проводили на 1, 3, 5 и 7-е сутки. Морфологические исследования срезов брюшной полости и брюшины — в 1, 3, 5, 7-е сут. Центрифугировали исследуемое количество водорастворимой ткани брюшины, взятые до зажива и во его окончания. Определяли функциональную активность лейкоцитов гранулоцитов методом тифлофлюоресценции и микрорепродукции методом тифлофлюоресценции микрорепродукции (ИФА) [10, 11]. Кроме на исследование собирали до лечения в 1, 3, 5, 7-е сут. Кровь для исследования и образования сгустка помещали на 15 мин в холодильную при температуре 4°C. Форменные элементы крови осаждали двойным центрифугированием в рефрижераторной центрифуге РС-6 при 2500-3000 об/мин. Полученную супернатанту исследовывали в пробы закрывающиеся пластинчатый фибрин и при этом до обработки при температуре -60°C. Эксперименты проводили в соответствии со статьей И. Хельсинской декларации Всемирной организации здравоохранения (1964), «Международная декларация по применению мезоэпителиальных исследований и Принципы лабораторных исследований» (1985) и Принципы лабораторной практики в РФ (приказ МЗ РФ №767 от 19.06.2007г.).

Материал обрабатывали с помощью пакета прикладных программ «Microsoft Excel» и «StatSoft 6.0» для Windows. Выполняли математическую обработку данных, включившую параметрические и непараметрические критерии Стьюдента и Вальдмана-Манна-Уитни. Результаты считались достоверными при дисперсионном уровне значимости $p < 0,05$.

достоверными при дисперсионном уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Животные 1-й группы погибли на 2-3 сут. при этом у всех обнаруживались признаки продолжающегося паритонита — раздутые петли кишечника, оок и гипертрофия брюшины, сплюснение жкт. Во 2-й группе четыре животных погибли в ближайшие 3-5 сут. Из восьми кроликов 3-й группы на 3-4 сутки выведены из опыта четыре, при этом все животные перитонита у трех кроликов отсутствовали.

При изучении динамики содержания микрофлоры в перитонеальном экссудате было установлено, что до начала введения раствора гемостаза в перитонеальном экссудате у животных 2-й и 3-й групп было примерно равное количество ($5,96 \times 10^7$ и $5,86 \times 10^7$ мк/мл соответственно). После механического промывания 0,25%-ным раствором хлороксида количество микрофлоры во 2-й группе было $0,58 \times 10^7$ мк/мл, а у животных основной группы перитонеального экссудат оставался инфицированным ($0,48 \times 10^7$ мк/мл), положительным только у одного кролика. На 7-е сутки у животных 3-й группы роста кишечной флоры не отмечено, все животные остались стерильными. Во же время у двух животных 2-й группы отмечен скудный рост кишечной флоры в количествах $0,41 \times 10^7$ мк/мл. В препаратах, т.е. на высоте развития паритонита, в мезоэпителиальных клетках присутствовали признаки как деструктивных, так и деструктивных нарушений субцеллюлярной архитектоники этих клеток. Обнару-

жились мезоэпителии с практически полным отсутствием в цитоплазматическом К концу промывания фиброзной полости в ультраструктурной организации мезоэпителиальных клеток животных основной группы наблюдалась тенденция к повышению уровня ретикулярных митохондриальных процессов.

Существенным нарушением подвергались мезоэпителии, что свидетельствовало о нарушении митохондриальной биогенезитики. Как следствие этого, снижался уровень активности ретикулярных процессов, что структурно проявлялось в расширении цистерн ретикулярной эндоплазматической сети, в лизисе цистерных мембран. В некоторых мезоэпителиальных клетках наблюдалась и фрагментация эндоплазматической ретикулы.

К концу промывания полости раствора гемостазом в ультраструктуре мезоэпителиальных клеток незначительно появлялись признаки повышения активности адаптационных процессов. Структурными подтверждениями этого являлось увеличение количества рибосом в цитоплазме и цитоплазматических клетках, уменьшение числа оценов деструкции наружных мембран, а также мембран ретикулярной эндоплазматической ретикулы. Вместе с тем сохранялись сильно выраженные деструктивные изменения органов мезоэпителиальных клеток брюшины.

Полученные данные о состоянии факторов неспецифической защиты иммуности приведены в таблице. У экспериментальных животных с перитонитом в обеих группах на 3-е сут. процент фагоцитоза (фагоцитарная активность, нейтрофильная) были ниже достоверных величин. Первоначально сывороточный индекс зрелости фактоцитов

Показатели неспецифической реактивности клеточного звена у кроликов с перитонитом на 3-5-е сутки

Показатель	Группы животных		P
	2-я группа (испытываемые) (n = 8)	3-4 группа (основные) (n = 8)	
Фагоцитарная активность, %	48,8 ± 2,70	31,8 ± 2,36	<0,01
	36,1 ± 5,8	41,8 ± 1,58 *	<0,01
Фагоцитарное число, усл. ед.	3,1 ± 0,07	3,8 ± 0,19	<0,05
	2,4 ± 0,19	3,9 ± 0,18	<0,001
ИСТ - тест, %	9,4 ± 1,01	31,3 ± 3,6	<0,01
	18,8 ± 4,7*	34,1 ± 1,9*	<0,001
ЛК - тест, СДК, усл. ед.	1,20 ± 0,04	1,97 ± 0,06	<0,05
	1,19 ± 0,01	1,88 ± 0,14	<0,05
Лизоферрин, мкг/мл	390,9 ± 92,8	791,1 ± 81,8	<0,05
	380,3 ± 15,8	487,8 ± 13,17	<0,01
Микропероксидаза, мкг/мл	589,8 ± 91,6	478,8 ± 180,7	<0,05
	1140,6 ± 14,0	288,6 ± 18,6	<0,01

Примечания: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$ по отношению к исследуемому показателю, n — число животных.

свидетельствует о нарушении переработки фагоцитов. У животных 3-й (основной) группы на 5-е сут от дачи предельной нормы. У животных контрольной группы статистически достоверных изменений не отмечено. Исходя из высокой количества активных фагоцитов и абсолютного количества фагоцитируемых объектов извещено наличие фагоцитов у животных обеих групп свидетельствует о значительном нарушении функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов периферической крови при спорадической перитонитической патологии. Изучение уровня кислородозависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов (показатели НСТ-теста) в целом выявляет высокие показатели как в контрольной, так и основной группах (таблица).

В основной группе на 5-е сут отмечено достоверное снижение окислительного НСТ-теста ($p < 0,05$), а в контрольной – в 2,7 раза превышающие допустимые границы. Нормализация показателя окислительного НСТ-теста основной групп свидетельствует о восстановлении функциональной активности нейтрофильных гранулоцитов. В основной группе на 5-е сут послеоперационного периода отмечено более выраженное, по сравнению с контрольной группой, снижение уровня лактоферрина (487,84±3,17 нг/мл) и миелопероксидазы (208,6±16,6 нг/мл), которые, тем не менее, статистически достоверно были выше нормы. В контрольной группе показатель лейкоцитозитоксического теста (ЛТТ) и содержание уровня иммуноглобулинов (СІК, μg) оставался неизменным на 5-е сут, а в основной группе ЛТТ-тест и СІК снижались достоверно (таблица).

Таким образом биосеребро оказывает позитивное действие на иммунологическую мезентериальную реакцию, в бактериологическое исследование, oxidation бранковой полости от патогенной флоры происходит в более короткой срок.

Выводы

1. Снижение брановой полости биосеребра при распространении гнойном перитоните снижает степень интоксикации у животных и способствует предупредительно прогрессивной язвообразованию.

2. Полученные данные в сравнении с 0,25 %-ного аргента показывают позитивное воз-

действие на показатели антибактериального, иммунологического звена иммунитета и дезинтоксикационной эффективности по сравнению с контрольной группой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Глишневский В.А., Кисин В.А., Матусов Е.А., Алаштин Г.П. Иммунологическая оценка функционального резервирования гнойного перитонита // Экспериментальная хирургия. 2011. № 3. С. 3-6.
2. Сербро в медицине, биологии и технике / Сб. трудов под ред. П.П. Рыбачева. Новосибирск: Издательство Кемеровской ассоциации СО РАМН, 1996. С. 224.
3. Применение серебра в хирургии // Сб. трудов по хирургии: спец.-курс: конф. «Новые технологии системы в хирургии и медицине» / под ред. Е.М. Боченкова. Новосибирск, 2004. С. 115.
4. Боченков Е.М., Кривошеина В.А., Колосов А.П., Малахов Ю.К., Рыбачев П.Д. Серебро в медицине. Новосибирск: Наука-Центр, 2004. С. 245.
5. Дегуров В.А., Зыков Ю.В., Белов В.В. Метод оценки резервирования плазмы перитонита в эксперименте // Ученые труды Государственного университета им. академика С.В. Кирова 74-й науч. конф. КГУМУ. Киров, 2009. Т. 1. С. 223-233.
6. Кисин В.А. Морфотип перитонитической флоры при лечении распространяемого гнойного перитонита с помощью серебра. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М, 1993. С. 15.
7. Харрисер выделенной микрофлоры из перитонитического экссудата у быка как индикатора перитонитической флоры. Дис. канд. Государственного университета им. академика В.Ф. Баранова // Отв. ред. Г.В. Лысенко. М.: Медицина, 2005. С. 76.
8. Митрофанов Д.А., Колосов А.П., Боченков В.В. Оценка окислительной проницаемости и перитонитической среды методом окислительного НСТ-теста // Иммунология. 2000. № 2. С. 97-99.
9. Дегуров В.В. Иммунологическая активность фагоцитов // Журнал иммунологии, микробиологии, вирусологии. 2006. № 4. С. 89-96.
10. Рыбачев П.Д., Колосов А.П., Дегуров В.В. Микроорганизмы: биологические функции и клиническое значение // Современная хирургическая технология. 2007. № 8. С. 11-14.
11. Яков М.В., Яковин Е.Л. Выявление недостаточности лейкоцитозитоксического теста иммуноцитотоксическим методом // Иммунология. 2005. № 1. С. 50-53.
12. Wen G., Meyer F., Lippert M. Infectiological diagnostic problems in tertiary peritonitis // Langenbecks Arch. Surg. 2006. V. 381. P. 73-82.
13. Tansini P., Garcia-Lazo G. Rapid dysfunction is the most important independent predictor of mortality in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis // Clin. Gastroenterol Hepatol. 2011. V. 9. № 3. P. 260-265.

Поступила после доработки 27 января 2014 г.

ABDOMINAL REMEDIATION BY BIOSILVER IN THE TREATMENT OF EXPERIMENTAL PERITONITIS

© Adrien, 2014

© Radotshchik, 2014

N.M. Radotshchik

Dr.Sc. (Med.), Professor, Dagestan State Medical Academy, Makhachkala

Sh.Sh. Radotshchik

Senior Chief Physician, Republican Clinical Hospital, Makhachkala

F.M. Radotshchik

Ph.D. (Med.), Acting Chief Obstetrician-Gynecologist Republic of Dagestan, Makhachkala

Z.A. Radotshchik

Ph.D. (Med.), Head of Gynecology Department, Republican Obstetric Hospital, Makhachkala

G.M. Gerasimov

Clinical Intern, Republican Obstetric Hospital, Makhachkala

An experimental study on 27 (twentyseven) rabbits weighing 3-4.5 kg, which reproduced the model of acute common peritonitis. The effect of 0, 25% Argovit and 1% of antimicrobial resistance and non-specific cell type.

In experimental animals with widespread purulent peritonitis in the postoperative period is observed marked changes in the resistance nonspecific cell type, which are characterized by a decrease in phagocytic activity, phagocytic numbers and high levels of lactoferrin and myeloperoxidase. The data obtained in the comparative analysis indicates a positive impact of the proposed scheme abdomen eradication by 0, 25% sodium Argovit, an indicator of nonspecific resistance of the cell type and the antibiostatic action at spreading purulent peritonitis, which can be considered as an effective result.

References

1. Glishnevskiy V.A., Kisin V.A., Matusev E.A., Alashin G.P. Immunological evaluation of functional reserve of peritoneum in experimental purulent peritonitis // Experimental Surgery. 2011. № 3. P. 3-6.
2. Serbro in medicine, biology and technique // Collection of works under the editorship of P.P. Rybachyev. Novosibirsk: Publishing House of the Association of Scientific Organizations of the SO RAS, 1996. P. 224.
3. Application of silver in surgery // Collection of works on surgery: special course: conference "New technologies in surgery and medicine" / edited by E.M. Boshchenkov. Novosibirsk, 2004. P. 115.
4. Boshchenkov E.M., Krivosheina V.A., Kolosov A.P., Malakhov Yu.K., Rybachyev P.D. Silver in medicine. Novosibirsk: Nauka-Center, 2004. P. 245.
5. Degurov V.A., Zykov Yu.V., Belov V.V. Method of assessment of plasma reserve of peritonitis in experiment // Proceedings of the State University named after S.V. Kirov. 2009. Vol. 1. P. 223-233.
6. Kisin V.A. Morphotype of peritonitis flora in the treatment of spreading purulent peritonitis with silver. Author's abstract of a dissertation ... candidate of medical sciences. M., 1993. P. 15.
7. Harrisser isolated microflora from peritonitis exudate of a bull as an indicator of peritonitis flora. Dissertation of a candidate of State University named after V.F. Baranov // Edited by G.V. Lysenko. M.: Medicine, 2005. P. 76.
8. Mitrofanov D.A., Kolosov A.P., Boshchenkov V.V. Evaluation of oxidative permeability and peritonitis environment by the method of oxidative NBT-test // Immunology. 2000. № 2. P. 97-99.
9. Degurov V.V. Immunological activity of phagocytes // Journal of Immunology, Microbiology, Virology. 2006. № 4. P. 89-96.
10. Rybachyev P.D., Kolosov A.P., Degurov V.V. Microorganisms: biological functions and clinical significance // Modern surgical technology. 2007. № 8. P. 11-14.
11. Yakov M.V., Yakovina E.L. Identification of insufficiency of leukocytotoxic test immunocytotoxic method // Immunology. 2005. № 1. P. 50-53.
12. Wen G., Meyer F., Lippert M. Infectiological diagnostic problems in tertiary peritonitis // Langenbecks Arch. Surg. 2006. V. 381. P. 73-82.
13. Tansini P., Garcia-Lazo G. Rapid dysfunction is the most important independent predictor of mortality in cirrhotic patients with spontaneous bacterial peritonitis // Clin. Gastroenterol Hepatol. 2011. V. 9. № 3. P. 260-265.