

## Модель перитонита и экспериментальное обоснование противоспаечной терапии

М.М. ВИННИЧЕНКО, Н.А. ЦАП

Уральская государственная медицинская академия, ул. Репина, д. 3, Екатеринбург, 620028, Российская Федерация

**Актуальность** В клинической практике используются различные способы терапии спаечной болезни, в ряде случаев с низкой степенью доказательности воздействия именно на формирующийся коллаген. В клинике детской хирургии разработан и внедрен способ послеоперационной противоспаечной терапии (патент РФ на изобретение № 2348415 от 10.03.2009). Профилактику спайкообразования необходимо начинать на интраоперационном этапе, пролонгируя её на доказанный морфологами период формирования спаек.

**Цель исследования** Создать экспериментальную модель перитонита, на основе которой апробировать методы интра- и послеоперационной противоспаечной терапии.

**Материалы и методы** Эксперимент выполнен на 34 белых лабораторных крысах-самцах. С целью контаминации брюшины использовалась взвесь *E. Coli* 1,0-1,5 мл в концентрации  $10^{15}$ . Перитонит, развивавшийся у крыс с использованием культуры кишечной палочки, клинически был близок к разлитому перитониту больных людей и характеризовался быстро нарастающей интоксикацией, нарушением кишечной моторики, выраженными микроциркуляторными расстройствами. Все экспериментальные животные разделены на 6 групп, в которых контролировались основная модель перитонита, препарат для санации брюшной полости, послеоперационное ведение. Интраоперационная противоспаечная терапия включала санацию раствором тизоля с диоксидином, послеоперационная – аппликации на переднюю брюшную стенку лекарственной композиции тизоль с лидазой 128 ЕД.

**Результаты и их обсуждение** Клиника перитонита развивалась через 30 мин. после введения инфекционного агента в брюшную полость экспериментального животного. У крыс из I и II групп при ревизии брюшной полости патологических процессов не отмечалось. У крыс III – VI групп спустя сутки после введения инфекционного агента при ревизии брюшной полости обнаружены яркие признаки разлитого гнойного перитонита. Контролировалась степень выраженности спаек и их распространенность во всех группах. Животные V группы, получившие поэтапную противоспаечную терапию на основе лекарственных композиций тизоля продемонстрировали отсутствие спаечного процесса.

**Выводы** Созданная модель разлитого перитонита позволила выполнить эксперимент по использованию в лечении аква-комплекса глицеросольвата титана (тизоль), который в композиции с диоксидином эффективно saniрует брюшную полость, а в сочетании с транскутантным проникновением лидазы тормозит процесс спайкообразования.

**Ключевые слова** Перитонит, противоспаечная терапия

## Peritonitis Model and Experimental Basis of Anti-Adhesion Therapy

M.M. VINNICHENKO, N.A. TSAP

Ural State Medical Academy, 3 Repina Str., Ekaterinburg, 620028, Russian Federation

**Relevance** Various methods of abdominal adhesive disease treatment are applied in clinical practice. In certain cases, they show low level of evidence on the impact on the forming collagen namely. The method of postoperative anti-adhesion therapy is developed and introduced into the Hospital of Pediatric Surgery (Patent for Invention No2348415 dated March 10th, 2009, Russia). Adhesion prevention should be started at the intraoperative period and prolonged to the period of adhesion formation, proved by morphologists.

**The purpose of the study** Was to develop experimental peritonitis model and approve methods of intra- and postoperative anti-adhesion therapy on its basis.

**Materials and methods** 30 white laboratory male rats were involved into the study. 1-1.5mL of  $10^{15}$  *E.coli* suspension was used for artificial peritoneal contamination. Contaminated rats developed peritonitis which was clinically close to human diffuse peritonitis and manifested in rapidly progressed intoxication, intestinal dysmotility, severe microcirculatory disorder. All the experimental animals were divided into 6 groups controlled for basic peritonitis model, drug used for sanitation of the abdominal cavity, and postoperative treatment. Intraoperative anti-adhesion therapy included sanitation with the Thiazole/Dioxidine solution, postoperative therapy included application of Thiazole/Lidase 128U composition on the anterior abdominal wall.

**Results and their discussion** Experimental animals developed clinical symptoms of peritonitis in 30 minutes after the injection of infectious agent into the abdominal cavity. Rats from the groups I and II showed no pathological processes at revision of abdominal cavity. Rats from the groups III-VI manifested in severe signs of diffuse purulent peritonitis in one day after contamination. All the studying groups were monitored for severity and incidence rate of adhesions. Animals from the group V received staged Thiazole based anti-adhesion therapy and showed no adhesions.

**Conclusion** Development of diffuse peritonitis model has made possible to carry out the experimental study on application of titanium glycerosolvate (Thiazole) aqua-complex in the treatment. Aqua-complex appeared to show high efficiency in sanitation of the abdominal cavity in combination with Dioxidine and inhibition of adhesion formation in combination with transcutaneous

*administration of Lidase.*

**Key words** *Peritonitis, anti-adhesion therapy*

Как известно, большинство воспалительных процессов брюшной полости, в частности перитонит, способствуют развитию спаечной болезни, которую стали часто упоминать в литературе с конца XIX и начала XX века, как патологическое состояние, связанное со спайкообразованием в брюшной полости и приводящее к спаечной кишечной непроходимости [3,4,6]. Много внимания возникновению спаек брюшной полости после операций уделил Пайр, в 1914 году он опубликовал 157 случаев спаек брюшной полости после различных оперативных вмешательств. И он впервые поставил вопрос о необходимости профилактики развития спаек. В дальнейшем эту проблему изучали Нобль, Оппель, Дедерер, Блинов. И до настоящего времени вопрос о патогенетических механизмах течения перитонита и формирования спаечной болезни не потерял своей актуальности [1, 5, 8].

В клинической практике используются различные способы терапии спаечной болезни (Баиров Г.А., Коновалов А.К. и др.), в ряде случаев с низкой степенью доказательности воздействия именно на формирующийся коллаген. В клинике детской хирургии разработан и внедрен способ противоспаечной терапии (патент РФ на изобретение № 2348415 от 10.03.2009). Однако способ не регламентирует необходимую концентрацию лидазы в патологическом очаге, при её дефиците вязкость гиалуриновой кислоты восстанавливается, вновь создаются условия для образования соединительной ткани. Инновационные идеи борьбы с перитонитом и его последствиями [2, 6, 7], внедрение в хирургическую практику новых лекарственных комбинаций, минимизирующих спайкообразование в брюшной полости, требуют дальнейшего изучения.

Цель работы – создать экспериментальную модель перитонита, на основе которой апробировать методы интра- и послеоперационной противоспаечной терапии.

### Материалы и методы

Эксперимент выполнен на 34 белых лабораторных крысах-самцах, возраста 8-10 месяцев, массой 250-300грамм, линии Wistar, содержащихся в условиях стандартного вивария (согласно Санитарным правилам от 06.04.73 г. № 1045-73); все процедуры, в том числе и болезненные, выполнялись под эфирным наркозом, согласно пункту 5.3 приложения к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. №755. С целью контаминации брюшины использовалась взвесь *E. Coli* 1,0-1,5 мл в концентрации  $10^{15}$ . В данной модели, перитонит, развивавшийся у крыс с использованием культуры кишечной палочки, клинически был близок к перитониту больных людей и характеризовался быстро нарастающей интоксикацией, нарушением кишечной моторики, выраженными микроциркуляторными расстройствами.

В работе использовался количественный критерий, называемый «трехдневный критерий летальности» (ТКЛ) [Бондарев Г. А., 1981], который показывает число животных, проживших с острым разлитым перитонитом свыше 3 суток. В дальнейшем их можно считать условно выжившими, поэтому все наблюдения проводились до 3 суток после начала эксперимента.

Все экспериментальные животные разделены на 6 групп. I группа (контроль чистой линии) – в брюшную полость инъекционным путём введён стерильный физиологический раствор в количестве 2,0 мл. II группа – в брюшную полость введено 2,0 мл раствора лекарственной композиции с антисептическими свойствами Тизоль/диоксидин. III и IV группы (контроль модели) – в брюшную полость в первый день эксперимента введено 2,0 мл бактериальной взвеси. Спустя 24 часа под эфирным наркозом выполнена срединная лапаротомия и ревизия органов брюшной полости. Санация органов брюшной полости проведена стерильным физиологическим раствором. Рана послойно ушита однорядным обвивным кетгуттовым швом. На третий день эксперимента животным IV группы на переднюю брюшную стенку произведена аппликация препарата Тизоль/лидаза 128 ед. с ежедневной заменой в течение 7 суток. V группа (экспериментальная) – спустя сутки после контаминации брюшины животных бактериальной взвесью произведена санация брюшной полости раствором Тизоль/диоксидин. Через сутки после санации на переднюю брюшную стенку произведена аппликация препарата Тизоль/лидаза 128 ед. с последующей заменой в течение 7 суток. VI группа (контроль инфекционного агента модели перитонита) – после контаминации брюшины бактериальной взвесью, ревизии и санации не проводилось. Из этой группы на вторые, третьи, пятые и девятые сутки, посредством эфирного наркоза, забивалось одно животное для контроля воспалительного процесса.

В конце эксперимента, соответственно приложению №4 приказа Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 г. №755 «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных: «Порядок проведения эвтаназии (умерщвления животного)», все лабораторные животные посредством эфирного наркоза умерщвлялись, производилась визуальная и клиническая оценка изменений.

У каждого животного были отобраны биологические материалы для изготовления гистологических препаратов (париетальная и висцеральная брюшина, печень и селезёнка), а так же мазок экссудата брюшной полости.

Высокая трансканевая способность Тизоля позволяет глубоко проникать и доставлять в ткани патологического очага необходимый для адгезиолиза лекарственный препарат - лидазу. Лидаза (гиалууро-

нидаза) вызывает распад гиалуроновой кислоты, обладающей большой вязкостью и являющейся «цементирующим веществом соединительной ткани», увеличивает проницаемость тканей, облегчает движение жидкостей в межтканевых пространствах. В гелевой композиции Тизоль с лидазой указанные препараты потенцируют действие друг друга, позволяют достичь торможения или прекращения спайкообразования, патологического развития рубцовой ткани. Композиция Тизоль с лидазой позволяет сохранить первоначальные активные свойства фермента лидазы (гиалуронидазы) и защищает указанный фермент от любых разрушающих воздействий физиопроцедур, в т.ч. ультрафонофореза.

**Результаты и их обсуждение**

Уже через 30 мин. после введения инфекционного агента в брюшную полость крысы становились малоподвижными и переставали принимать пищу. Вскоре у животных появлялись выделения из анального отверстия жидких зловонных зеленоватых масс. Через 4 часа начинался падеж животных, а основная масса крыс погибала через 24 часа, летальность их к этому времени составила 46%.

Для обозначения тяжести адгезивного и гнойно-воспалительного процесса в брюшной полости, по макроскопическим критериям выделены 3 формы течения: лёгкой, средней и тяжёлой степени. В зависимости от степени тяжести присвоена балльная оценка: легкая степень – от 1 до 5 баллов, средняя степень тяжести – от 6 до 10 баллов, тяжелая степень – от 11 до 15 баллов. Вариабельный интервал баллов связан с различным течением процессов в одной группе у животных, находящихся в эксперимента и одинаковых условиях содержания.

Формы течения гнойно-воспалительного процесса:

1. Для формы течения легкой степени макроскопическая картина гнойно-воспалительного процесса характеризуется следующими признаками: гиперемией висцеральной и париетальной брюшины от незначительной до умеренно выраженной, наличием небольшого количества (0,5–1 мл) прозрачного выпота, допускается наличие до 0,5–1 мл мутного выпота.

2. Форма течения гнойно-воспалительного процесса средней степени тяжести предусматривает наличие стойкой гиперемии обоих листков брюшины, полнокровие сосудов, единичные межпетлевые гной-

Таблица 1

*Сравнительная характеристика экспериментальных групп животных по тяжести гнойно-воспалительного и адгезивного процесса в брюшной полости в зависимости от первичного агента и лечебных мероприятий*

Группы животных	Динамика мероприятий эксперимента (в сутках)				Тяжесть перитонита (в баллах)	Тяжесть спаечного процесса (в баллах)
	1-е	2-е	3 – 6-е	7-е		
I (n=6)	NaCl	-	-	x	1	*
II (n=6)	Ti / Diox	-	-	x	1	*
III (n=6)	E.Coli	NaCl	-	x	6-10	8-10
IV (n=6)	E.Coli	NaCl	Ti / лидаза	x	6-10	5
V (n=6)	E.Coli	Ti / Diox	Ti / лидаза	x	3-5	1
VI (n=4)	E.Coli	-	-	x	13-15	11-15

Ti – тизоль; Diox - диоксидин; x – вывод из эксперимента

\* - тяжесть спаечного процесса в контрольных группах 1 и 2 не оценивалась

Table 1

*Comparative characteristics of the experimental groups animals gravity pyo-inflammatory processes and adhesive in an abdominal cavity depending on the primary actions of therapeutic agent*

Animals group	Dynamics of events experiment (days)				Severity of peritonitis (in points)	Severity of commissural process (in points)
	1-e	2-e	3 – 6-e	7-e		
I (n=6)	NaCl	-	-	x	1	*
II (n=6)	Ti / Diox	-	-	x	1	*
III (n=6)	E.Coli	NaCl	-	x	6-10	8-10
IV (n=6)	E.Coli	NaCl	Ti / lydase	x	6-10	5
V (n=6)	E.Coli	Ti / Diox	Ti / lydase	x	3-5	1
VI (n=4)	E.Coli	-	-	x	13-15	11-15

Ti - TIZOL; Diox - dioxidine; x - excluded from experiment

\* - Severity of adhesions in the control groups 1 and 2 has not been evaluated

ники, налёт фибрина, умеренное (1,0 – 2,0 мл) количество серозного выпота.

3. При форме течения гнойно-воспалительного процесса тяжелой степени выявлено: выраженная гиперемия и полнокровие сосудов брюшины и органов, хлопья фибрина, множественные межпетлевые гнойники, гнойный выпот в большом количестве (больше 2,0 мл).

Варианты течения адгезивного процесса:

1-й вариант адгезии в брюшной полости легкой степени – от 1 до 5 баллов: единичные нежные, легко рвущиеся при ревизии брюшной полости, органы свободно (в пределах нормы) перемещаются по всей брюшной полости.

2-ой вариант адгезии средней степени тяжести – от 6 до 10 баллов: множественные спайки, идущие от места послеоперационного рубца к органокомплексу или перекидывающиеся через кишечник, при ревизии прочные, органы брюшной полости фиксированы.

3-й вариант адгезивного процесса тяжелой степени – от 11 до 15 баллов: крупные, хорошо кровоснабжающиеся спайки перекидывающиеся через органы, формируя участки непроходимости, множественные налёты фибрина, органокомплекс в конгломерате адгезивного процесса.

На основании избранных критериев проведена сравнительная оценка экспериментальных групп животных по тяжести гнойно-воспалительного и адгезивного процесса в брюшной полости в зависимости от первичного агента воздействия на брюшину и выполненных лечебных мероприятий (табл. 1).

У крыс из I и II групп при ревизии брюшной полости патологических процессов не отмечалось. Крысы III, IV, V и VI групп: спустя сутки после введения инфекционного агента при ревизии брюшной полости обнаружена гиперемия париетальной и висцеральной брюшины, полнокровие сосудов брыжейки, обильное количество мутного выпота с хлопьями фибрина, отмечаются очаговые скопления гноя между кишечными петлями, парез кишечника, перистальтика отсутствует.

Из VI группы на 3 сутки было выбрано одно животное, под воздействием летальной дозы эфирного наркоза оно умертвлялось и при ревизии брюшной полости были выявлены ярко выраженная гиперемия и полнокровие сосудов, мутный выпот в брюшной полости и налёт фибрина на петлях кишечника.

Тем же способом на 5 сутки из VI группы выбрано ещё одно животное. Ревизия брюшной полости установила наличие незначительной гиперемии брюшинного покрова, так же как и в предыдущих случаях, отмечается полнокровие сосудов и мутный выпот. Между петлями кишок, от стенок брюшной полости к петлям кишечника, отмечается начало формирования спаечного процесса, в виде тонких, нежных спаек, легко делимых при перемещении петель кишечника.

На 9 сутки из VI группы выбрано последнее животное (по критериям летальности считающееся условно-выжившим), при ревизии брюшной полости обнаружены множественные грубые спайки, перекидывающиеся через петли кишок, идущие от стенок брюшной полости к корню брыжейки тонкого кишечника (перитонит 13-15 баллов, спаечный процесс 11-15 баллов).

Экспериментальные животные III группы (после санации брюшной полости физиологическим раствором): при ревизии отмечается наличие грубых, хорошо кровоснабжающихся спаек, подпаянные петли кишечника к линии шва, множественные участки фибринового налёта (перитонит 6-10 баллов, спаечный процесс 8-10 баллов).

У животных IV группы при ревизии брюшной полости выявлено полнокровие сосудов брыжеек, тонкие спайки, перекидывающиеся через петли кишечника и незначительно подпаянные петли тонкой и толстой кишок к передней брюшной стенке, преимущественно по линии шва (перитонит 6-10 баллов, спаечный процесс 5 баллов).

Животные V группы (являющиеся экспериментальными), при ревизии брюшной полости продемонстрировали отсутствие, каких-либо признаков спаечного процесса, отмечена гиперемия париетальной брюшины и незначительное количество фибринозного налёта на линии шва (перитонит 3-5 баллов, спаечный процесс 1 балл). На фоне таких лечебных мероприятий как санация брюшной полости раствором лекарственной композиции тизоль с диоксидином и послеоперационные аппликации передней брюшной стенки тизолем с лидазой 128 ед отмечается легкая степень течения гнойно-воспалительного процесса и минимальное спайкообразование в брюшной полости.

## Выводы

1. Создана экспериментальная модель разлитого перитонита, на которой в дальнейшем проводилось испытание композиции лекарственных препаратов, основным компонентом которой является аквакомплекс глицеросольвата титана (Тизоль), отличающийся противовоспалительным, антисептическим, местным анальгезирующим действием и транскутанной диффузией.

2. Лекарственная композиция Тизоля с диоксидином обладает хорошими противовоспалительными свойствами, эффективно санирует брюшную полость и тормозит процесс спайкообразования.

3. Интра – и послеоперационные мероприятия в виде санации брюшной полости при разлитом перитоните раствором тизоля с диоксидином, аппликации передней брюшной стенки гелем тизоля с лидазой, являются специфичным и эффективным методом противоспаечной терапии, что открывает перспективы использования его в абдоминальной хирургии взрослых и детей.

**Список литературы**

1. Булянов В.М., Родоман Г.В., Белоус Г.Г. Экспериментальная модель острого гнойного перитонита. Хирургия, 1997; 1: 72-73.
2. Глухов А.А. Влияние температурного режима санации брюшной полости на течение синдрома постсанационной интоксикации при остром распространённом перитоните. Вестник хирургии, 2006; 165, 3: 98-102.
3. Лазаренко В.А., Липатов В.А., Блинков Ю.Ю. и др. Экспериментальная модель перитонита. Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье, 2008; 4: 128-132.
4. Фавстов В.В. К вопросу о создании экспериментальной модели перитонита. Актуальные проблемы внутренней медицины и стоматологии, 1997; 140.
5. Чагина Е.А., Комогортцева С.А., Олесик Е.Н. и др. Состояние системы нейтрофильных фагоцитов в модели экспериментального перитонита. Современные наукоемкие технологии, 2005; 10: 65-69.
6. Jacobi C.A., Ordemann J., Zieren H.U. et al. Increased systemic inflammation after laparotomy versus laparoscopy in an animal model of peritonitis. Arch. Surg., 1998; 133: 258-264.
7. Malecas A., Daubaras V., Vaitkus V. et al. Increased postoperative peritoneal adhesion formation after the treatment of experimental peritonitis with chlorhexidine. Langenbeck's Arch. Surg., 2004; 389: 256-260.
8. Pross M., Mantke R., Kunz D. et al. Reduced neutrophil sequestration in lung tissue after laparoscopic lavage in a rat peritonitis model. World J. Surg., 2002; 26, 1: 49-53.

Поступила 15.07.2012

**Информация об авторах**

1. Винниченко М.М. – клинический интерн кафедры детской хирургии ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Минздрава России. E-mail: glaDOS89@mail.ru
2. Цап Н.А. – д.м.н., профессор, заведующая кафедрой детской хирургии ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия» Минздрава России. E-mail: tsapna-ekat@rambler.ru.

**References**

1. Bulianov V.M., Rodoman G.V., Belous G.G. The experimental model of acute peritonitis. *Khirurgiia*, 1997; 1: 72-73. - (In Russ.).
2. Glukhov A.A. Effect of temperature on the rehabilitation of the abdominal cavity during the intoxication syndrome post sanation in acute peritonitis prevalence. *Vestnik khirurgii*, 2006; 165, 3: 98-102. - (In Russ.).
3. Lazarenko V.A., Lipatov V.A., Blinkov Iu.Iu. et al. Experimental model of peritonitis. *Chelovek i ego zdorov'e*, 2008; 4: 128-132. - (In Russ.).
4. Favstov V.V. On the issue of creating an experimental model of peritonitis. *Aktual'nye problemy vnutrennei meditsiny i stomatologi*, 1997; 140. - (In Russ.).
5. Chagina E.A., Komogortseva S.A., Olesik E.N. et al. System Status neutrophil phagocytes in the experimental model of peritonitis. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*, 2005; 10: 65-69. - (In Russ.).
6. Jacobi C.A., Ordemann J., Zieren H.U. et al. Increased systemic inflammation after laparotomy versus laparoscopy in an animal model of peritonitis. *Arch. Surg.*, 1998; 133: 258-264.
7. Malecas A., Daubaras V., Vaitkus V. et al. Increased postoperative peritoneal adhesion formation after the treatment of experimental peritonitis with chlorhexidine. *Langenbeck's Arch. Surg.*, 2004; 389: 256-260.
8. Pross M., Mantke R., Kunz D. et al. Reduced neutrophil sequestration in lung tissue after laparoscopic lavage in a rat peritonitis model. *World J. Surg.*, 2002; 26, 1: 49-53.

Received 15.07.2012

**Information about the Authors**

1. Vinnichenko M. – Clinical intern, Department of Pediatric Surgery of State Budget Educational Facility of Higher Professional Education “Ural State Medical Academy” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. E-mail: glaDOS89@mail.ru
2. Tsap N. – MD, Prof., Head of the Department of Pediatric Surgery of State Budget Educational Facility of Higher Professional Education “Ural State Medical Academy” of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. E-mail: tsapna-ekat@rambler.ru