

УДК 546.17:611.381:591.2

ОСОБЕННОСТИ ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ БРЮШИНЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВРЕМЕНИ ВОЗДЕЙСТВИЯ ЭКЗОГЕННЫМ МОНООКСИДОМ АЗОТА

Боташева В.С., Суздальцев И.В., Демьянова В.Н., Пыхтин Ю.Ю., Пустий С.А., Панченко А.С.

ГБОУ ВПО Ставропольский государственный медицинский университет, Ставрополь, Россия (355017, г. Ставрополь, ул. Мира, д. 310), e-mail:suzdalsev@yandex.ru

В эксперименте на 27 крысах линии Wistar изучено влияние продолжительности воздействия экзогенного монооксида азота на морфологические изменения в интактной брюшине. Животные разделены на 3 группы в зависимости от времени обработки брюшины (0,6 сек/см², 1,8 сек/см² и 3,0 сек/см²). Время воздействия рассчитано исходя из средней поверхности брюшной полости крысы 200 см². Установлено, что оптимальной является обработка интактной брюшины монооксид азот-содержащим газовым потоком в течение 0,6 сек/см², которая не вызывает патоморфологических изменений в органах брюшной полости и брюшине у экспериментальных животных. Более длительная экспозиция (1,8 сек/см² и 3,0 сек/см²) приводит к выраженным сосудистым нарушениям, повреждению и десквамации мезотелия брюшины с формированием спаек.

Ключевые слова: экзогенный монооксид азота, брюшина, патоморфологические изменения.

FEATURES OF EXPERIMENTAL ANIMALSPERITONEUM PATHOLOGICALCHANGES DEPENDING ON EXOGENOUS NITROGEN MONOXIDE INFLUENCE TIME

Botasheva V.S., Suzdalcev I.V., Demjanova V.N., Pykhtin Y.Y., Pustij S.A., Panchenko A.S.

Stavropol State Medical University, Stavropol, Russia (355017, Stavropol, street Mira, 310), e-mail:suzdalsev@yandex.ru

In experiment on 27 Wistar rats effect of exogenous nitrogen monoxide influence time on morphological changes in an intact peritoneum is studied. Animals are divided into 3 groups depending on time of peritoneum processing (0,6 sec/cm², 1,8 sec/cm² and 3,0 sec/cm²). Influence is timed proceeding from an average surface of a rat abdominal cavity of 200 cm². It is established that processing of an intact peritoneum by nitrogen monoxide containing gas stream during 0,6 sec/cm² which doesn't cause the pathologicalchanges in abdominal organs and a peritoneum in experimental animals is optimum. Longer exposition (1,8 sec/cm² and 3,0 sec/cm²) leads to the expressed vascular disorders, peritoneum mesothelium damage and desquamation with formation of adhesions.

Keywords: exogenous nitrogen monoxide, peritoneum, pathological changes.

Многочисленные исследования указывают на то, что монооксид азотсодержащий газовый поток (NO-СГП), генерируемый из атмосферного воздуха аппаратом «Плазон» нормализует микроциркуляцию, обладает выраженными антибактериальными свойствами, активизирует иммунную функцию, стимулирует заживление ран и купирует гнойно-воспалительные процессы [1,4]. Важнейшим преимуществом использования NO-терапии, в отличие от большинства физических и медикаментозных методов лечения гнойно-некротических заболеваний, является воздействие полифункционального монооксида азота на все фазы воспалительного процесса, что и обуславливает высокую эффективность данного вида терапии [2,3].

Несмотря на множество предлагаемых способов санаций брюшной полости при перитоните, в 5–8 % случаев эффект от лечения остается неудовлетворительным [6,7]. В связи с этим поиск новых эффективных видов санации брюшной полости при распространенном перитоните является обоснованным. По данным литературы, мы встретили единичные исследования, в которых для лечения перитонита использовали экзогенный монооксид азота. Время экспозиции NO-СГП при санации брюшной полости было определено эмпирически без исследования безвредности его воздействия на здоровые органы и ткани [2].

Целью нашей работы было изучение морфологических изменений брюшины у интактных животных на фоне воздействия NO-СГП в зависимости от продолжительности и кратности обработки.

Материал и методы. Исследование проводилось на крысах-самцах линии Wistar массой 250–300 г. Крысам выполнялась лапаротомия с дренированием брюшной полости двумя встречными дренажами в правом подреберье и левой подвздошной области для последующей обработки экзогенным монооксидом азота. Экзогенный монооксид азота получали при помощи аппарата «Плазон», который позволяет генерировать газовый поток с постоянной концентрацией NO при температуре +38–40 °С. Животные в зависимости от времени обработки NO-СГП были разделены на 3 группы:

А) обработка NO-СГП в терапевтическом режиме со скоростью подачи 2 л/мин. в течение 0,6 секунд на 1 квадратный сантиметр – 9 крыс;

Б) обработка NO-СГП в терапевтическом режиме со скоростью подачи 2 л/мин. в течение 1,8 секунд на 1 квадратный сантиметр – 9 крыс;

В) обработка NO-СГП в терапевтическом режиме со скоростью подачи 2 л/мин. в течение 3 секунд на 1 квадратный сантиметр – 9 крыс.

Время обработки брюшной полости вычисляли по следующей формуле. Площадь эффективно обрабатываемой поверхности брюшной полости крысы, по данным литературы, составляет около 200 см². Время обработки брюшной полости рассчитывалось по формуле $T=t \times S$, где t – время обработки 1 см² брюшной полости (t_1 – 0,6 сек, t_2 – 1,8 сек, t_3 – 3 сек) T – общее время обработки брюшной полости, S – площадь брюшной полости животного (200 см²) [5]. Животные выводились из эксперимента по 3 крысы в каждой группе на 4, 8, 28-е сутки. Дренажи из брюшной полости удалялись на 8 сутки.

Во время работы со всеми субъектами эксперимента полностью соблюдались требования Хельсинской конвенции о гуманном отношении к животным: на минимальном статистически значимом количестве субъекта эксперимента проводилось изучение максимального количества необходимых параметров, по мере необходимости животные

выводились из эксперимента путем введения летальной дозы общего анестетика. Все экспериментальные исследования были проведены под наркозом. Осложнений от наркоза не было. После вывода животного из эксперимента производили аутопсию, оценивали макроскопические изменения в брюшной полости, забирали брюшину для дальнейшего гистологического исследования.

Результаты. Гибели животных в группах не было. В первые сутки после операции животные оставались малоподвижными, вялыми, отказывались от пищи и воды. На вторые сутки состояние их улучшалось: возвращалась двигательная активность, животные начинали пить воду. Начиная с третьих суток, у животных появлялся аппетит, и в дальнейшем состояние крыс не отличалось от здоровых особей. Все животные перенесли оперативное вмешательство удовлетворительно.

В А группе (воздействие осуществлялось в течение 0,6 сек/см² брюшины) у 100 % (9 крыс) экспериментальных животных на аутопсии макроскопически патологических изменений со стороны органов брюшной полости и брюшины выявлено не было ни на 4-е, ни на 8-е, ни на 28 сутки.

В Б группе (воздействие осуществлялось в течение 1,8 сек/см² брюшины) на 4 сутки у одной крысы из трех на аутопсии выявлен умеренно выраженный спаечный процесс между петлями тонкого кишечника и брюшиной, на 10-е сутки умеренно выраженный спаечный процесс был выявлен у двух крыс из трех и на 28 сутки у одной крысы из трех выявлен спаечный процесс между петлями кишки и брюшиной. Таким образом, у 40 % животных (4 крыс) отмечался умеренно выраженный спаечный процесс в брюшной полости при аутопсии, в основном в области послеоперационной раны и в области контрапертур, другой патологии макроскопически выявлено не было.

В группе (воздействие осуществлялось в течение 3 сек/см² брюшины) у 80 % животных (8 крыс) отмечался выраженный спаечный процесс в брюшной полости между петлями кишки, брюшиной, висцеральной поверхностью печени: на 4 сутки у 2-х из трех животных, на 10 сутки у всех трех крыс и на 28 сутки также у всех трех крыс. Наиболее выраженное спайкообразование было в области послеоперационной раны и в местах стояния дренажей.

При гистологическом исследовании препаратов животных А группы получены следующие результаты. При воздействии монооксидом азота в течение 0,6 сек/см² через 4 суток в брюшине наблюдается умеренное полнокровие сосудов. Гистологическая структура брюшины не нарушена. Мезотелиальный покров целый, мезотелиоциты обычной формы и размеров. Структурные изменения в мезотелии и фиброзном слое брюшины не обнаружены. На 8-е сутки после воздействия монооксидом азота отмечается купирование сосудистых

нарушений, полнокровие сосудов не выявляется. Патогистологические изменения в мезотелиальном и фиброзном слоях брюшины не обнаружены. На 28-е сутки после воздействия монооксидом азота сосудистые изменения в брюшине не обнаружены. Мезотелий сохранен на всем протяжении. Фиброзный слой брюшины без изменений.

Таким образом, при воздействии на брюшину крысы монооксид азота на 4-е сутки возникает умеренное полнокровие сосудов, которое проходит на 8-е сутки. В последующие сроки (28-е сутки) сосудистые изменения в брюшине не выявляются, мезотелиальный покров целый, фиброзная оболочка без изменений.

При обработке брюшины крысы монооксидом азота в течение $1,8 \text{ сек/см}^2$ (Б группа) на 4-е сутки в ней наблюдается умеренный отек периваскулярных пространств и выраженное полнокровие сосудов, стазы, сладжирование эритроцитов. Мезотелиоциты местами округляются, уменьшаются в размерах, как бы сокращаются, отходят друг от друга и отделяются от базальной мембраны. В этих участках наблюдается десквамация мезотелия. Через 8 суток после обработки монооксидом азота в течение $1,8 \text{ сек/см}^2$ в брюшине отмечается уменьшение интенсивности отека и частичное купирование сосудистых нарушений. В эти сроки в мезотелии появляются многочисленные митозы, образуются гигантские многоядерные клетки. Увеличение числа митозов свидетельствует об усилении регенераторных процессов мезотелия, направленных на восстановление десквамированных участков брюшины. В этих участках помимо репаративных процессов в мезотелии наблюдается пролиферация фибробластов. Через 28 суток после применения монооксида азота в течение $1,8 \text{ сек/см}^2$ в брюшине крыс отек и сосудистые нарушения полностью купированы. Мезотелиальная выстилка частично восстановлена за счет пролиферации клеток, но местами сохранились участки, лишенные мезотелиального покрова. В этих участках отмечается формирование спаек. После обработки брюшины монооксидом азота в течение $1,8 \text{ сек/см}^2$ возникают сосудистые нарушения и периваскулярный отек, происходит повреждение и десквамация мезотелия. К концу эксперимента в большинстве наблюдений мезотелиальный покров восстанавливается, но в части наблюдений возникают небольшие нежные спайки.

При воздействии на брюшину крысы монооксидом азота в течение 3 сек/см^2 на 4-е сутки в брюшине развивается диффузный отек, выраженные сосудистые нарушения в виде полнокровия, перераспределения форменных элементов с образованием эритроцитарных агрегатов. Мезотелиоциты с дистрофическими изменениями: набухание, изменение формы, увеличение числа митозов и образование многоядерных гигантских клеток, десквамация на значительном протяжении. На 8 сутки сохраняется прежняя картина: явления полнокровия, агрегации эритроцитов, но отмечается появление юной грануляционной ткани. Через 28

суток после обработки брюшины монооксидом азота в течение 3 сек/см² выявлено, что по всей десквамированной поверхности брюшины сформированы спайки из зрелой соединительной ткани. Таким образом, при обработке поверхности брюшины монооксидом азота в течение 3 сек/см² на 4-е сутки развиваются выраженные сосудистые нарушения, диффузный отек, дистрофически-деструктивные изменения мезотелия и десквамация его на всем протяжении. На 8-е сутки происходит формирование юной грануляционной ткани, а к 28-м суткам образуются спайки. Мезотелий не восстанавливается.

Сравнительный анализ результатов проведенного исследования показал, что при обработке брюшины монооксидом азота в течение 0,6 сек/см² не выявлено каких-либо грубых макроскопических изменений в брюшной полости крыс, что подтверждается и гистологическими данными: деструктивные изменения в мезотелии и фиброзном слое не обнаружены. Определяются небольшие сосудистые нарушения в виде полнокровия и очаговый перивенулярный отек, которые купируются на 8-е сутки. При более длительной обработке брюшины монооксидом азота (1,8 сек/см²) при макроскопической оценке препаратов наблюдается умеренно выраженный спаечный процесс в брюшной полости между петлями тонкой кишки и брюшиной. При гистологическом исследовании выявлено, что возникают дистрофические и деструктивные изменения мезотелия с частичной десквамацией его на 4-е сутки, более выражены сосудистые нарушения и отек по сравнению с группой А. На 28-е сутки целостность мезотелиального покрова восстанавливается за счет репаративных процессов, но кое-где формируются тонкие нежные спайки. При обработке брюшины монооксидом азота в течение 3 сек/см² выявлены наиболее выраженные изменения: выраженный спаечный процесс во всех отделах брюшной полости, наиболее значительный в области послеоперационной раны и местах стояния дренажей. При гистологическом исследовании обнаружены выраженные сосудистые нарушения, повреждение мезотелия и полная десквамация его. На 28-е сутки формируются спайки, целостность мезотелия не восстанавливается.

Заключение. Сравнительный анализ результатов исследования показал, что обработка интактной брюшины монооксидом азот-содержащим газовым потоком в течение 0,6 сек/см² является оптимальной, так как не вызывает патоморфологических изменений в органах брюшной полости и брюшине у экспериментальных животных, при более длительной экспозиции (1,8 сек/см² и 3,0 сек/см²) обнаружены выраженные сосудистые нарушения, повреждение, десквамация и нарушение целостности мезотелия брюшины с формированием спаек.

Список литературы

1. Возможности экзогенного монооксида азота в предупреждении послеоперационной раневой инфекции / А. Б. Ларичев, В. К. Шишло, А. В. Лисовский, А. Л. Чистяков // Хирургия. – 2011. – № 7. – С. 31-35.
2. Лукьяненко Е.В. Использование по-содержащих воздушно-плазменных потоков в комплексном лечении перитонита : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е. В. Лукьяненко. – М., 2006. – 24 с.
3. Мойсев П.Н. Клинико-экспериментальное обоснование применения экзогенного монооксида азота в санации желчного пузыря при хирургическом лечении острого холецистита у больных пожилого и старческого возраста : автореф. дис. ... канд. мед. наук / П. Н. Мойсев. – Ставрополь, 2014. – 24 с.
4. Полапин И.А. Применение экзогенного монооксида азота в комплексном лечении язвенно-некротических поражений у больных с синдромом диабетической стопы : автореф. дис. ... канд. мед. наук / И. А. Полапин. – Ставрополь, 2013. – 20 с.
5. Тихов Г. В. Фотодинамическая терапия в лечении перитонита : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Г. В. Тихов. – М., 2014. – 24 с.
6. Эффективность применения монооксида азот-содержащего газового потока при миниинвазивном лечении интраабдоминальных абсцессов / С. И. Кубанов, И. В. Суздальцев, А. Г. Бондаренко [и др.] // Вестн. Северо-Кавказ. федерал. ун-та. – 2014. – № 1 (40). – С. 83-85.
7. Endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration used for the diagnosis of a retroperitoneal abscess / A. Srftoiu, S. Iordache, C. Popescu [et al.] // J Gastrointestin Liver Dis. – 2006. – Vol. 15, № 3. – P. 283-287.

Рецензенты:

Лаврешин П.М., д.м.н., профессор, зав. кафедрой общей хирургии Ставропольского государственного медицинского университета, г. Ставрополь;

Белик Б.М., д.м.н., доцент, зав. кафедрой общей хирургии Ростовского государственного медицинского университета, г. Ростов-на-Дону.