

УДК: (616.345 – 089.86: 616.381 – 002): 615.849.19

ВЛИЯНИЕ НИЛИ И ФДТ НА ЗАЖИВЛЕНИЕ ТОЛСТОКИШЕЧНОГО АНАСТОМОЗА В УСЛОВИЯХ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО КАЛОВОГО ПЕРИТОНИТА

И.В. Кумова; И.Г. Жук, профессор, д.м.н.; М.Ю. Брагов
УО «Гродненский государственный медицинский университет»

На белых беспородных крысах был поставлен эксперимент по изучению влияния НИЛИ (низкоинтенсивного лазерного излучения) и ФДТ (фотодинамической терапии) с ФС (фотосенсибилизатором) хлорофиллом на заживление толстокишечного анастомоза в условиях послеоперационного калового перитонита. В результате было доказано, что НИЛИ, особенно в виде ФДТ, купирует или сглаживает проявления перитонита, стимулирует образование и созревание грануляционной ткани, способствуя заживлению анастомоза.

Ключевые слова: низкоинтенсивное лазерное излучение, фотодинамическая терапия, хлорофилл, каловый перитонит, толстокишечный анастомоз.

The experiment was held on white rats to study the influence of LLLR and PDT with PS chlorophyll on the large bowel anastomosis healing in case of postoperative fecal peritonitis. The achieved results proved that LLL, especially in the form of PDT, controlled or alleviated symptoms of peritonitis, stimulated the formation and growth of granulation tissue, leading to large bowel anastomosis healing.

Key words: low-level laser radiation, photodynamic therapy, chlorophyll, fecal peritonitis, large bowel anastomosis.

До настоящего времени частота несостоятельности швов толстокишечных соустьев остается довольно высокой и составляет в среднем в плановой хирургии 12%, а в неотложной – до 20% [1]. Несостоятельность толстокишечных анастомозов в колоректальной хирургии приводит к грозному раннему послеоперационному осложнению – каловому перитониту. До сих пор данная патология обуславливает высокие цифры летальности (30,5-78,5%) [9].

При создании анастомозов полых органов, особенно толстой кишки, всегда имеет место микробное обсеменение из-за чрезвычайно высокой концентрации патогенной и условно патогенной микрофлоры [1, 3]. В раннем послеоперационном периоде после колопроктологических операций происходит почти двукратное увеличение обсемененности раны *E. coli* [12], значительно возрастает число микроорганизмов, принадлежащих к стрептококкам группы D, *S. aureus* [13].

Само наложение ручного шва считается септическим процессом; многорядность швов приводит к ишемии тканей, фитильность и капиллярность лигатур способствует тому, что стенка толстой кишки, прилегающая к анастомозу, вовлекается в воспалительный процесс, теряет свою барьерную функцию для микроорганизмов, вегетирующих в ее просвете, и инфекция из просвета кишки быстро распространяется между слоями тканей [10]. Эти процессы ведут к возможному прорезыванию лигатуры, развитию воспалительного процесса как в самом анастомозе, так и в свободной брюшной полости. В условиях перитонита процесс регенерации в зоне соустья задерживается под влиянием протеолитических ферментов, продуцируемых микрофлорой брюшной полости, которые разрушают фибрин как один из важных компонентов биологической герметизации [8].

Таким образом, после формирования анастомоза, помещая раневую поверхность в бактериальную среду толстой кишки, ожидать 100% сращения стенок анастомозируемого органа проблематично [3].

На данный момент НИЛИ используется в медицине в двух основных направлениях [5, 6, 9]:

- ♦ в качестве отдельного метода при лечении широкого круга заболеваний, имея в виду стимулирующий эффект НИЛИ [5];
- ♦ при ФДТ, где используется поражающий эффект НИЛИ [9]:
 - ♦ противоопухолевая ФДТ (ПОФДТ);
 - ♦ антимикробная ФДТ (АМФДТ).

Лазерный свет ускоряет процессы регенерации, способствует уменьшению микрофлоры, рассасыванию инфильтратов, нормализации показателей крови и приводит, в конечном итоге, к заживлению ран [2]. Под действием НИЛИ ускоряется очищение ран от некротических масс, более чем на 2-е суток сокращается экссудативная фаза воспаления, наблюдается 2-3-дневное опережение процессов созревания грануляционной ткани, активизация пролиферации фибробластов. В результате эпителизация раны также завершается на трое суток раньше [2, 4].

Механизм действия ФДТ представляется следующим образом [4]: ФС, в большинстве своем порфирины и их производные, накапливаются в неопластических клетках с поврежденной генной информацией. Молекула ФС активизируется с помощью излучателя (лазер или некогерентный источник света) и, поглотив квант света, переходит в возбужденное триплетное состояние. Далее она вступает в фотохимические реакции двух типов:

- При первом типе реакций происходит взаимодействие непосредственно с молекулами биологического субстрата, что, в конечном итоге, приво-

дит к образованию свободных радикалов.

- Во втором типе реакций происходит взаимодействие возбужденного ФС с молекулой кислорода с образованием синглетного атомарного кислорода, который является цитотоксическим для живых клеток, благодаря своему свойству сильного окислителя биомолекул.

В результате проведенных биологических испытаний, установлено, что на данном этапе наиболее оптимальными ФС для ФДТ являются хлориновые производные [9, 11]. Хлориновые тетрапиррольные ФС обладают интенсивной полосой поглощения в длинноволновой области, оптимальным соотношением флюоресценция/интерконверсия и проявляют на порядок большую световую токсичность, чем большинство фотосенсибилизаторов, при отсутствии темновой токсичности. Общие токсические свойства при введении хлориновых фотосенсибилизаторов в организм оказываются лучше, чем у порфириновых олигомеров или сульфированных фталоцианинов, а скорости выведения препаратов из организма значительно выше. Водорастворимые хлориновые фотосенсибилизаторы сохраняются в организме на период не более 2-х суток.

Родоначальником данного ряда ФС является хлорофилл [7]. Основное свойство хлорофилла – это антибактериальное действие. Также он укрепляет клеточные мембраны, способствует формированию соединительных тканей, что помогает в заживлении эрозий, язв, открытых ран. Хлорофилл усиливает иммунную функцию организма, ускоряя фагоцитоз.

Проблема инфекционных заболеваний остается одной из главных во многих областях медицины, несмотря на достижения в области антибактериальной терапии. Сегодня наиболее агрессивными и устойчивыми к антибактериальным препаратам являются такие широко распространенные патогены, как *E. coli*, *S. aureus*, стрептококки [1, 3, 12, 13]. Таким образом, АМФДТ представляет одно из перспективных направлений неонкологического применения ФДТ.

Цель исследования – изучить влияние НИЛИ, хлорофилла и ФДТ на заживление толстокишечного анастомоза в условиях послеоперационного калового перитонита.

Материалы и методы

В эксперимент было взято 80 крыс, разделенных на следующие экспериментальные группы (таблица 1).

Таблица 1. Экспериментальные группы

Группы	Кол-во крыс	Объем вмешательства
Контрольная	20	операция + моделирование калового перитонита
Опытная 1	20	операция + перитонит + воздействие НИЛИ
Опытная 2	20	операция + перитонит + введение хлорофилла
Опытная 3	20	операция + перитонит + хлорофилл + НИЛИ

Животным производили операцию наложения толстокишечного анастомоза.

Брюшная полость вскрывалась послойно путем нижней срединной лапаротомии. В операционную рану выводили слепую и восходящую ободочную кишку. Производили наложение обходного анастомоза по Брауну по типу «бок в бок» на восходящую ободочную кишку, отступя 2 см дистальнее илеоцекального угла. Стенку кишки рассекали на протяжении 1,5 диаметра просвета кишки для преддупреждения последующего стеноза. При создании соустья использовали двухрядный шов Альберта: внутренние – непрерывный сквозной обвивной на заднюю губу анастомоза и вворачивающий шов Шмидена на переднюю (Сургикрил 7/0), снаружи – серозно-мышечные швы Ламбера (Полипропилен 5/0). Передняя брюшная стенка ушивалась послойно.

Во время оперативного вмешательства на этапе вскрытия просвета кишки производили забор 0,25 грамма содержимого толстой кишки. Навеску растворяли в 0,5 мл стерильного физиологического раствора. Полученную взвесь вводили в брюшную полость после наложения анастомоза. Введенное количество содержимого толстой кишки являлось достаточным для развития калового послеоперационного перитонита.

На область сформированного толстокишечного анастомоза воздействовали НИЛИ красной области спектра ($\lambda = 0,67 \pm 0,02$ мкм, мощность излучения 20 мВт) по схеме: однократно интраоперационно и 7 сеансов по 5 минут с кратностью 1 ежедневно в послеоперационном периоде. Для облучения использовали аппарат лазерный терапевтический «Родник – 1». Облучение производилось контактным способом через переднюю брюшную стенку в области предполагаемой проекции зоны анастомоза. В качестве ФС использовали стерильный водный раствор хлорофилла из люцерны (содержание хлорофилла в 1 мл раствора – 3 мг). Вводили 1 мл раствора в брюшную полость крысам второй и третьей опытных групп сразу после наложения анастомоза и моделирования перитонита.

Оценивали «выживаемость – летальность». Животных выводили из эксперимента в сроки 3, 7, 14, 30 суток. Вскрывали брюшную полость и оценивали макроскопическую картину. Производили забор материала – кусочков из зоны анастомоза и прилегающих участков кишки – для гистологического исследования.

Результаты исследования

В послеоперационном периоде производили сравнительную оценку показателя «летальность – выживаемость» всех экспериментальных групп (рисунок 1). В контрольной группе летальность была наибольшей и составляла 80%. В случае отдельного использования НИЛИ и хлорофилла (опытная 1-я и опытная 2-я группы) летальность уменьшалась до 20% и 50% соответственно. В опытной 3-й группе, где применялось сочетанное

воздействие НИЛИ с хлорофиллом в виде ФДТ, данный показатель имел наименьшее значение – 15%.

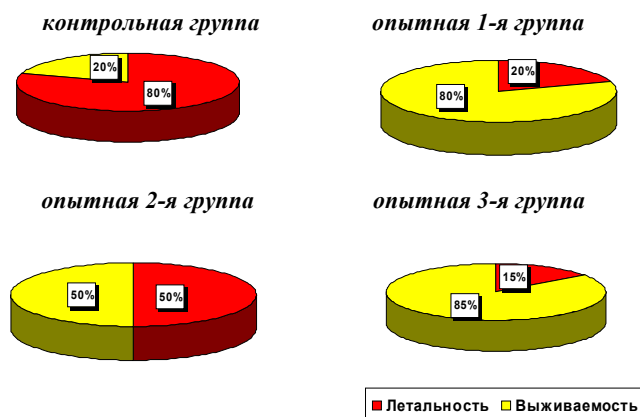


Рис. 1. Соотношение показателя «летальность - выживаемость» в экспериментальных группах

Макроскопическая картина. При вскрытии павших животных контрольной группы наблюдалась картина разлитого гнойного перитонита. В брюшной полости обнаруживался мутный гнойный выпот с характерным каловым запахом. Петли кишечника были раздуты, гиперемированы, покрыты фибринозным налетом. Отмечались отеки и гиперемия большого сальника, множественные межкишечные абсцессы. В большинстве случаев наблюдалась несостоятельность анастомоза за счет расхождения швов в результате разрыва воспаленной кишечной стенки.

При вскрытии павших животных опытных групп макроскопическая картина отличалась от контрольной меньшей выраженностью воспалительного процесса в брюшной полости: небольшое количество выпота, единичные межкишечные абсцессы. Несостоятельность анастомоза наблюдалась менее чем в половине случаев.

При осмотре брюшной полости выведенных из эксперимента крыс (в сроки 3, 7, 14, 30 суток) макроскопическая картина была следующей.

В контрольной группе выжило 4 крысы, поэтому в сроки 3, 7, 14, 30 суток выводили по 1 животному. На 3-и сутки макроскопическая картина брюшной полости выглядела практически аналогично картине павших животных: мутный гнойный выпот с каловым запахом, гиперемированные, отечные, несколько раздутые петли тонкой кишки, покрытые фибринозным налетом, подпаяны к зоне анастомоза, множественные межкишечные абсцессы. В области соустья обнаруживались участки расхождения швов в результате разрыва стенки кишки. Кишечное содержимое не выходило в свободную брюшную полость, так как анастомоз был окутан сальником. На 7-е сутки в брюшной полости еще обнаруживались небольшое количество мутного выпота, межпетлевые абсцессы, фибринозные наложения на стенке кишечника. Область анастомоза не дифференцировалась, так как была

окружена сальником и петлями тонкой кишки. На 14-е сутки выпота в брюшной полости не обнаруживалось, определялись абсцессы. Весь органокомплекс представлял собой единый конгломерат вокруг анастомоза. На 30-е сутки в брюшной полости обнаруживался выраженный спаечный процесс вокруг анастомоза, резко перерастянутая расширенная слепая кишка. После освобождения зоны соустья от спаек отмечалось некоторое сужение анастомотического кольца без нарушения проходимости кишки.

При вскрытии животных опытных групп на 3-и сутки в брюшной полости обнаруживались небольшое количество мутного выпота, фибринозный налет на стенке кишечника, микроабсцессы по ходу лигатур, в нескольких случаях межкишечные абсцессы, сальник был подпаян к зоне анастомоза, анастомоз состоятелен. Только у 2-х крыс из опытной 2-й группы макроскопическая картина была аналогична таковой в контрольной группе. На 7-е сутки выпот отсутствовал, у нескольких крыс в брюшной полости определялось небольшое количество прозрачной жидкости серозного характера. В опытных группах наблюдался слабо или умеренно выраженный спаечный процесс; сальник, а иногда и петли тонкой кишки были подпаяны к толстокишечному соустью. На 14-е сутки в брюшной полости наблюдался умеренно выраженный спаечный процесс, область анастомоза была окутана сальником, обнаруживались единичные осумкованные абсцессы (рисунок 4.4) (кроме опытной 3-й группы). На 30-е сутки анастомоз был окутан сальником, явлений кишечной непроходимости не отмечалось. В брюшной полости наблюдался умеренно выраженный спаечный процесс, у нескольких крыс обнаруживались единичные осумкованные абсцессы (кроме опытной 3-й группы).

Результаты гистологического исследования. В контрольной группе гистологическая картина на 3-и сутки выглядела следующим образом. Отмечалась массивная гнойная инфильтрация большого сальника и всех слоев стенки толстой кишки, как в области анастомоза, так и в прилежащих к соустью участках. Слизистая оболочка подверглась некрозу на значительном протяжении, некротически измененные участки, окруженные лейкоцитарным валом с преобладанием сегментоядерных нейтрофилов, наблюдались даже в подслизистой основе и мышечной оболочке кишки. Определялись признаки расстройства кровообращения: выраженный отек, полнокровие сосудов, массивные кровоизлияния в стенке кишки. Гнойная инфильтрация сальника и кишки, отек, некрозы слизистой сохранялись и на 7-е сутки. Отмечалась скудная лимфогистиоцитарная инфильтрация. На 14-е сутки грануляционная ткань была рыхлая, вялая, представлена одиночными островками со скудным количеством клеточных и волокнистых элементов и единичными новыми сосудами. Наблюдалось отставание в созревании грануляционной ткани и формирование очагов хронического

гнойного воспаления в стенке толстой кишки. К 30-м суткам в стенке кишки сохранялись очаги хронического гнояного воспаления, в области анастомоза формировался плотный грубый рубец, вызывавший стеноз соустья, наблюдались склеротические изменения в серозной оболочке.

При гистологическом исследовании препаратов из зоны анастомоза животных опытных групп на 3-и сутки отек, площадь некроза, нейтрофильно-эозинофильная инфильтрация сальника и стенки кишки были значительно меньше. Уже после 4-х суток наблюдалось уменьшение гнойной инфильтрации и нарастание количества лимфогистиоцитов. К 7-м суткам отек спадал, участков некроза и кровоизлияний не обнаруживалось (в некоторых препаратах наблюдались отложения гемосидерина). Сохранялись полнокровные сосуды и лимфогистиоцитарная инфильтрация сальника. Отмечалось начало формирования грануляционной ткани (молодые фибробласты, единичные фиброциты, новые сосуды, рыхлые коллагеновые волокна). В стенке кишки обнаруживались единичные микроочаги гнояного воспаления. К 14-м суткам в некоторых препаратах еще встречались единичные микроабсцессы в мышечном слое кишки и сальнике. Созревание грануляционной ткани соответствовало нормальным срокам (как при отсутствии перитонита, а в опытной 3-й группе даже с опережением на 1-2-е суток). К 30-м суткам формировался прочный соединительнотканый рубец, не вызывавший стеноза соустья. В стенке кишки определялись мелкие очаги фиброза на месте бывших абсцесов.

Вывод

На основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что НИЛИ и ФДТ стимулировали заживление анастомоза в условиях перитонита путем более быстрого купирования воспалительной реакции, образования и созревания грануляционной ткани.

Литература

- 1 Алиев, Ф.Ш. Морфогенез толстокишечных конце-концевых анастомозов / Ф.Ш. Алиев [и др.] // Вестник новых медицинских технологий – 2005. - Т. XII. - № 2. - С. 19.
- 2 Буйлин, Б.А. Низкоинтенсивные лазеры в хирургии: реальность и перспективы / Б.А. Буйлин, Е.И. Брехов, В.И. Брыков // *Анналы хирургии* - 2003. - № 2. - С. 8.
- 3 Воробьев, Г.И. Антимикробная профилактика у больных, оперированных на дистальном отделе прямой кишки, анальном канале и промежности / Г.И. Воробьев [и др.] // *Русский медицинский журнал*. – 1999. – т.1. – №1. – С. 34.

4 Жуков, Б.Н. Фотодинамическая терапия в комплексном лечении вазотрофических нарушений при хронической венозной недостаточности нижних конечностей / Б.Н. Жуков [и др.] // Сам-ГМУ, кафедра госпитальной хирургии, Самара [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.magicray.ru/RU/article/>. – Дата доступа: 12.11.2005.

5 Илларионов, В.Е. Основы лазерной терапии / В.Е. Илларионов. – Москва: Респект, 1992. – 122 с.

6 Клебанов, Г.И. Влияние эндогенных фотосенсибилизаторов на лазер-индуцированный прайминг лейкоцитов крови / Клебанов Г.И. [и др.] // *Биол. мембраны* – 1998. – т.15. - №3. – С. 273 – 285.

7 Климов, В.В. Фотосинтез и биосфера / В.В. Климов // *Сороковский образовательный журнал*. – 1996. – №8. – С. 6 – 13.

8 Кулачек, Ф.Г. Профилактика несостоятельности межкишечных анастомозов при перитоните / Ф.Г. Кулачек [и др.] // *Клиническая хирургия*. – 1984. – №6. – С. 71 – 72.

9 Соколов, В.В. Фотодинамическая терапия злокачественных опухолей основных локализаций с препаратами фотогем и фотосенс (результаты трехлетних наблюдений) / В.В. Соколов [и др.] // *Вопросы онкологии*. – 1995. - №41. – С. 134 – 138.

10 Тихонов, И.А. Способы формирования межкишечных анастомозов в колоректальной хирургии / И.А. Тихонов, Д.В. Басуров // *Хирургия* - 2002. - № 12. - С. 64.

11 Dougherty, T.J. Studies on the structure of porphyrins contained in Photofrin II / T.J. Dougherty // *Photochem. Photobiol.* - 1987. - Vol. 46 (5). - P. 569.

12 Lumley, J.W. Single dose ceftriaxone as prophylaxis for sepsis in colorectal surgery / J.W. Lumley [et al.] // *Aust. N.Z.J. Surg.* – 1992. – V. 62. – P. 292-296.

13 Morris, W.T. Ceftriaxone is more effective than gentamicin / metronidazole prophylaxis in reducing wound and urinary tract infections after bowel operations / W.T. Morris // *Dis Colon Rectum*. - 1993. – V. 36. – P. 826-833.

Summary

INFLUENCE OF LLLR AND PDT ON LARGE BOWEL ANASTOMOSIS HEALING IN CASE OF POSTOPERATIVE FECAL PERITONITIS

I.V. Kumova, I.G. Zhuk, M.Y. Bragov
Grodno State Medical University

The aim of the research was to investigate the influence of LLLR, chlorophyll and PDT on large bowel anastomosis healing in case of postoperative fecal peritonitis. The achieved results showed that LLLR therapy increased the survival rate of rats, the single use of chlorophyll led to less marked survival rate. The best results were achieved in case of PDT employment. Combined employment of LLLR in combination with chlorophyll as PS quickly controlled inflammation, stimulated the formation and growth of granulation tissue, leading to quicker large bowel anastomosis healing in comparison with the group under control.

Поступила 23.04.07