

ПРИМЕНЕНИЕ ОЗОНИРОВАННОГО ПЕРФТОРАНА ПРИ ОСТРОМ ПЕРИТОНИТЕ

А. М. Голубев, Р. М. Рагимов, А. О. Османов

ГУ НИИ общей реаниматологии РАМН, Москва
Дагестанская государственная медицинская академия, Махачкала

Use of Ozonized Perfluorane in Acute Peritonitis

A. M. Golubev, R. M. Ragimov, A. O. Osmanov

Research Institute of General Reanimatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow;
Daghestan State Medical Academy, Makhachkala

Впервые изучены свойства озонированного перфторана при лечении экспериментального разлитого перитонита. Опыты проведены на белых беспородных крысах. Использовалась модель острого перитонита по С. С. Ременнику. После моделирования перитонита животным в брюшную полость вводились физиологический раствор (1-я серия), перфторан (2-я серия), озонированный физиологический раствор (3-я серия), озонированный перфторан (4-я серия). Все животные, которым в брюшную полость вводили физиологический раствор, погибли на 1–7 сутки эксперимента. При применении озонированного перфторана все животные выжили. Терапевтический эффект озонированного перфторана при остром перитоните обусловлен активацией фагоцитирующих клеток и антибактериальным действием озона.

The properties of ozonized perfluorane were first studied in the treatment of experimental generalized peritonitis. Experiments were conducted on albino noninbred rats. The model of acute peritonitis, proposed by S. S. Remennik, was used. After simulating peritonitis, the animals were intraperitoneally injected saline solution (Series 1), perfluorane (Series 2), ozonized saline solution (Series 3), ozonized perfluorane (Series 4). All the animals intraperitoneally given saline solution died on days 1–7 of the experiment. When ozonized perfluorane was used, all the animals survived. The therapeutic effect of ozonized perfluorane in acute peritonitis was due to the activation of phagocytes and to the antibacterial activity of ozone.

Перитонит является частым осложнением различных заболеваний органов брюшной полости (язвенная болезнь желудка и 12-ти перстной кишки, холецистит, аппендицит, непроходимость кишечника, панкреатит и т. д.).

Исследованиями авторов [3] установлено, что введение в брюшную полость перфторуглеродной эмульсии «перфторан» стимулирует миграцию в брюшную полость гранулоцитов и мононуклеаров. Макрофаги и сегментоядерные лейкоциты фагоцитируют частицы перфторуглеродной эмульсии, в результате чего активность фагоцитов возрастает. Исследование повреждающего действия фагоцитов на стафилококк показало, что количество переваренных микробов при введении перфторана значительно выше по сравнению с контрольными опытами. Микробиологически выявлено снижение числа микробных клеток в перитонеальной жидкости. Перфторофаги, культивируемые в питательной среде в опытах *in vitro*, фагоцитировали стафилококк уже через 15 мин. В докторской диссертации А. Г. Гусейнова (2000) показано: введение перфторана в брюшную полость больным распространенным гнойным перитонитом оказывает стиму-

лирующее действие на миграцию фагоцитов в брюшную полость. Отмечено значительное снижение контаминации экссудата, особенно за счет анаэробов, возрастают показатели антимикробной активности фагоцитов.

Известно также, что озонотерапия применяется как эффективный способ санации брюшной полости при экспериментальном перитоните и для лечения больных с заболеваниями органов брюшной полости, осложненных перитонитом [2, 6, 7]. Исследования авторов [10] свидетельствуют о высокой растворимости и стабильности озона во фторорганических соединениях.

Целью исследования явилось повышение эффективности лечения острого экспериментального перитонита при введении в брюшную полость озонированного перфторана.

Материал и методы исследования

Для реализации поставленной цели нами воспроизводилась модель острого перитонита по С. С. Ременнику (1965). Опыты поставлены на 53 беспородных крысах-самцах 4-х месячного возраста.

Таблица 1

Летальность животных по сериям и срокам эксперимента

Серии экспериментов	Число погибших животных в различные сроки экспериментов				Общее количество павших животных
	1 сутки	2 суток	3 суток	7 суток	
1 серия	1	3	3	5	12
2 серия	—	1	2	1	4
3 серия	—	1	—	1	2
4 серия	—	—	—	—	0

ста массой 130–160 г. Под хлороформным наркозом в брюшную полость животных вводилась 5% каловая взвесь на физиологическом растворе из расчета 1 мл на 100 г массы животного. После моделирования перитонита крысы были разделены на четыре группы (серии). В первой серии экспериментов в брюшную полость вводили физиологический раствор, во второй — перфторан, в третьей — озонированный физиологический раствор и в четвертой серии экспериментов — озонированный перфторан. Пять крыс составили контрольную группу. Физиологический раствор или перфторан вводился из расчета 1,5 мл на 100 г массы животного. Озонирование перфторана и физиологического раствора проводилось барботированием их озон-кислородной смесью в течение 15 мин с заданной концентрацией озона 3000 мкг/л на озонаторе «Медозонс-БМ АОТ — Н — 01 — Арз — 91» фирмы ОАО «Арзамасский приборостроительный завод». Через 24, 48, 72 ч и 7 сут все оставшиеся животные были выведены под наркозом из эксперимента. После вскрытия и осмотра брюшной полости были взяты мазки-отпечатки, которые окрашивались по Романовскому — Гимза. После идентификации и подсчета содержания клеток в мазках-отпечатках проводилась статистическая обработка с определением t — критерия Стьюдента. Оценивались фагоцитирующая и переваривающая способности фагоцитирующих клеток.

Результаты исследования

Введение озонированного перфторана в брюшную полость оказывает существенное влияние на исход экспериментального перитонита (табл. 1).

В первой серии экспериментов развивалась выраженная картина диффузного перитонита и все крысы погибали в 1–7-е сутки. В брюшной полости в 1–2-е сут содержался мутный, а на 3-е сут густой фибринозно-гнойный экссудат. На 3-и сутки в брюшной полости обнаруживались множественные рыхлые спайки. Во второй серии экспериментов на 1–4-е сутки признаки диффузного перитонита отмечались только у 1/3 животных. Через сутки в брюшной полости определялось небольшое количество (0,5 мл) мутноватой жидкости. На 3-и сут у 2-х крыс на нижней поверхности печени выявлялись единичные ок-

руглые образования (1,5×1 мм), из которых на разрезе выделялось гноевидное содержимое. На 7-е сут эксперимента только у одной крысы между печенью и сальником имелась спайка, в толще которой определялось округлое образование эластической консистенции с незначительным количеством густого гноя. В третьей серии экспериментов у большинства животных брюшина была покрыта фибринозным налетом, обнаруживались небольшие спайки и мелкие осумкованные гнойнички между тощей кишкой и нижней поверхностью печени. В четвертой серии экспериментов после введения озонированного перфторана в брюшной полости через сутки обнаруживалось около 0,5 мл жидкости с молочным оттенком. Диффузный перитонит у крыс этой серии не развивался. У части животных через 2–7 суток в складках сальника выявлялись единичные мелкие округлые образования эластической консистенции, спайки отсутствовали.

В мазках-отпечатках при цитологическом исследовании в первой серии экспериментов во всех полях зрения определяется сплошная бактериальная флора. В цитоплазме макрофагов и сегментоядерных лейкоцитов содержится большое количество микробных тел. Наибольшее число нейтрофильных лейкоцитов наблюдается через 1 сутки (52,7±2,5%), затем отмечается снижение их содержания на 2–3 сутки до 25,5±1,6% и 19,2±1,5%, соответственно. Относительное содержание мононуклеарных фагоцитов максимально уменьшается на 3-и сутки — до 6,7±0,5% (в контроле суммарное содержание мононуклеарных фагоцитов — макрофагов и моноцитов составляет более 19%). Во второй серии опытов в перитонеальной жидкости процентное содержание клеток мононуклеарного ряда составляет около половины всех клеточных элементов — 41,7±0,95%. В большом количестве обнаруживаются широкоплазменные вакуолизированные макрофаги (перфторофаги) с фагоцитированными нейтрофилами и микробными телами. На 3–7-е сутки в мазках-отпечатках видны лимфоциты с конденсированным хроматином, увеличено процентное содержание средних и больших лимфоцитов, плазмоцитов. В 3-й серии экспериментов через сутки в мазках-отпечатках обнаруживается высокое содержание нейтрофильных лейкоцитов (40,2±1,3%). Как внутри, так и вне фагоцитов выявляются

микроорганизмы. Через 48 ч отмечается постепенное снижение процентного содержания нейтрофилов, но в то же время появляются фибробласты (около 4,2% от числа клеток перитонеального экссудата) и возрастает количество макрофагов (до 19,2±1,3%). В цитоплазме последних видны фрагменты клеток, иногда 1–2 лейкоцита с микробными включениями, реже – эритроциты. На 3–7 сутки увеличивается число клеток лимфоцитарного ряда, при этом содержание мононуклеарных фагоцитов в 1,3–1,5 раза ниже по сравнению с контролем. В четвертой серии опытов микробная флора внеклеточно не выявлена, но имеются внутриклеточные микробные включения в цитоплазме макрофагов и нейтрофильных лейкоцитов. Через 24 часа после введения озонированного перфторана количество мононуклеарных фагоцитов достигает 45,8±2,6%. Большая часть фагоцитов – широкоплазменные, вакуолизированные макрофаги (перфторофаги) с включениями из обломков разрушенных клеток и лейкоцитов. Количество нейтрофильных лейкоцитов составляет 35,3%, в них обнаруживаются микробные тела. Перфторофаги выявляются и к 7 суткам эксперимента, но в значительно меньшем количестве по сравнению с предыдущими сроками. Содержание нейтрофильных лейкоцитов и моноцитов в этот срок приближается к норме. На 7 сутки возрастает количество больших лимфоцитов, плазматических клеток и малых лимфоцитов с конденсированным хроматином, появляются ретикулоциты. Клеточный состав перитонеального экссудата представлен в табл. 2.

Результаты и обсуждение

Таким образом, положительный терапевтический эффект озонированного перфторана и его преимущество перед другими препаратами, использованными в эксперименте для лечения острого перитонита, подтверждается как клиническим течением и исходом острого перитонита, так и результатами цитологического исследования мазков-отпечатков перитонеальной жидкости. Его преимущества объясняются тем, что перфторан обладает цитопротекторными и мембраностабилизирующими свойствами [9, 13]. Кроме этого перфторан стимулирует систему перитонеальных моноцитарных фагоцитов [1, 3, 5, 8, 11]. Перитонеальный лаваж перфторорганическими соединениями обладает защитными свойствами в отношении слизистой оболочки кишечника в постишемическом и реперфузионном периоде [15]. Важным свойством перфторана является его способность препятствовать образованию спаек при перитоните [14]. По всей видимости, перфторан, растворяя значительные объемы озона, способен пролонгировать его действие, поскольку в физиологическом растворе концентрация озона быстро (в течение 30 мин) снижается более чем на 50% [12]. Растворение озона в перфторуглеродах блокирует повреждающий эффект, который озон может оказывать на клеточные системы. Положительный терапевтический эффект перфторана обусловлен активацией и увеличением числа фагоцитирующих клеток, находящихся в брюшной полости и антибактериальным действием озона.

Таблица 2
Микро- и макрофагальная система перитонеальной жидкости (в % от клеточного состава экссудата)

Серии опытов	0 ч			Через 24 ч			Через 48 ч			Через 72 ч			Через 7 суток		
	Моноциты	Макрофаги	Нейтрофилы	Моноциты	Макрофаги	Нейтрофилы	Моноциты	Макрофаги	Нейтрофилы	Моноциты	Макрофаги	Нейтрофилы	Моноциты	Макрофаги	Нейтрофилы
Контроль (интактные животные)	11,75±0,32	12,85±0,8	16,0±0,57												
Перитонит + Ф	11,75±0,32	12,85±0,8	16,0±0,57	14,12±0,7	18,69±1,23	52,7±2,50	10,1±1,7	7,61±0,62	25,5±1,6	2,9±0,4	3,8±1,6	19,2±1,5			Гибель животных 100 %
I серия															
Перитонит + F				11,9±0,7	29,8±1,25	38,7±2,16	9,8±0,28	12,3±0,4	28,5±2,78	7,8±1,25	7,2±0,32	30,0±3,34	7,44±1,1	8,44±1,07	22,5 1,56
II серия															
Перитонит + FО ₃				12,4±1,1	16,7±2,03	40,2±1,3	7,4±1,62	19,2±1,3	32,7 2,07	8,2±1,9	10,3±3,4	18,44±2,74	8,85±1,8	9,1±2,82	12,7±2,05
III серия															
Перитонит + FО ₃				17,2±2,4	28,6±2,9	35,3±1,9	12,1±2,12	20,3±1,45	30,6±3,13	8,3±0,8	14,45±1,75	14,6±2,4	11,9±0,9	10,2±1,71	16,5 2,1
IV серия															

Примечание. Ф – физиологический раствор; F – перфторан; FО₃ – озонированный физиологический раствор; FО₃ – озонированный перфторан.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что озонированный перфторан наиболее эффективен при введении в первые часы развития

острого перитонита, препятствуя развитию разлитого перитонита и формированию в последующем спаек в брюшной полости.

Литература

1. Аскерханов Г. Р., Голубев А. М., Гусейнов А. Г. и соавт. Внутривнутрибрюшинная перфузия перфторана в лечении больных распространенным гнойным перитонитом. Хирургия, 2000, №9, с. 8–10.
2. Векслер Н. Ю., Частое В. П., Германова Т. А. и соавт. Озонотерапия в комплексе детоксикации у больных с заболеваниями органов брюшной полости, осложненных диффузным перитонитом. Тез. докл. 1V Всероссийской научно-практической конференции. Нижний Новгород, 2000, 248 с.
3. Голубев А. М., Леонтьева Т. А., Коркмасова М. А. и соавт. Морфофункциональные особенности и фагоцитарная активность системы фагоцитарных клеток перитонеального экссудата крыс после внутривнутрибрюшинного введения перфторана. Сб. научн. тр. «Физиологическая активность фторсодержащих соединений (эксперимент и клиника)». Пушкино: ОНТИ ПНЦ РАН, 1995, с. 114–123.
4. Голубев А. М., Коркмасова Т. А., Леонтьева Т. А. и соавт. Антимикробная активность перитонеальных фагоцитов крыс в условиях предварительного внутривнутрибрюшинного введения перфторана. Медицина: наука и практика, 1996, 2, с. 90–95.
5. Гусейнов А. Г. Комплексное лечение распространенного гнойного перитонита с синдромом полиорганной недостаточности. Автореф. диссерт. докт. мед. наук. Махачкала, 2000.
6. Корабельников А. И., Аксенова С. В. Озон в лечении гнойного перитонита. Новгород, 1997, 108 с.
7. Кудрявцев Б. П., Мирошин С. И., Семенов С. В. и соавт. Озонотерапия распространенного перитонита в раннем послеоперационном периоде. Хирургия, 1997, №3, с. 36–41.
8. Кузнецова И. Н. О механизмах биологической активности эмульсий перфторуглеродов. В кн.: «Физиологически активные вещества на основе перфторуглеродов в экспериментальной и клинической медицине». С-Пб., ВМА, 2001, с. 29–31.
9. Мороз В. В., Крылов Н. Л., Иваницкий Г. Р. и соавт. Применение перфторана в клинике. Анестезиол. и реаниматол., 1995, №6, с. 12–17.
10. Разумовский С. Д., Подмастерьев В. В. Растворы озона в субстратзаменяющих перфторорганических жидкостях и их свойства. Тез. докл. 1V Всероссийской научно-практической конференции «Озон и методы эфферентной терапии в медицине». Нижний Новгород, 2000, 248 с.
11. Рагимов Р. М. Морфология перитонеального экссудата в динамике перитонита на фоне внутривнутрибрюшинной перфузии перфторана. Сб. научн. тр. ДГМА. Юбилейный выпуск. Т. 11. Махачкала, 2002, с. 249–251.
12. Пятаев Н. А., Бояринов Г. А., Котлов И. С. Оптимизация дозирования озона при инфузии озонированного физиологического раствора. Тез. докл. 1V Всероссийской научно-практической конференции. Нижний Новгород, 2000, 248 с.
13. Хруткин В. И., Мороз В. В., Писаренко Л. В. и соавт. Использование эмульсии перфторуглеродов в местном лечении ран, осложненных хирургической инфекцией. Вестник хирургии, 1997, № 4, с. 53–55.
14. Ярема И. В., Магомедов М. А. Перфторан в профилактике образования послеоперационных спаек при перитоните (экспериментальное исследование). Бюлл. эксперимент. биол. и мед., 2003, № 12, с. 661–663.
15. Ohara M., Umno N., Mitsuoka H. et al. Peritoneal lavage with oxygenated perfluorochemical preserves intestinal mucosa barrier after ischemia-reperfusion and ameliorates lung injury. Crit. Care Med., 2001, vol. 29, № 4, p. 782–788.

Поступила 17.10.04