

На правах рукописи

Мосолова Анастасия Викторовна

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ИММОБИЛИЗИРОВАННОЙ
ФОРМЫ КАТИОННОГО АНТИСЕПТИКА И НОВОГО ШОВНОГО
ХИРУРГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА В УСЛОВИЯХ
РАСПРОСТРАНЕННОГО ПЕРИТОНИТА**

3.1.9. Хирургия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

КУРСК – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор **Суковатых Борис Семенович**

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор **Затолокина Мария Алексеевна**

Официальные оппоненты:

Власов Алексей Петрович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии с курсами топографической анатомии и оперативной хирургии, урологии и детской хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва»;

Сергеев Алексей Николаевич – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой общей хирургии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Тверской государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «__»_____20__ года в часов на заседании диссертационного совета Д 21.2.015.01 при федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 305041, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России (305041, г. Курск, ул. К. Маркса, д. 3; <http://www.kurskmed.com>)

Автореферат разослан «__»_____2022 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Маль Галина Сергеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность

Важной проблемой в хирургии неотложных состояний остается диагностика, лечение и профилактика различных осложнений заболеваний органов брюшной полости [Гостищев В.К., 2016]. Ранний послеоперационный период при полостных хирургических операциях часто сопровождается возникновением осложнений, частота которых варьируется от 17,5% до 22%. При присоединении инфекционного агента этот показатель увеличивается до 29%. Важнейшее место в лечебной программе распространенного перитонита принадлежит санации брюшной полости [Якубов Р.А., 2018]. Современные требования к препаратам учитывают широкий спектр активности, длительный противовоспалительный эффект, отсутствие токсического воздействия, что приводит к существенному сокращению подходящих лекарственных средств [Блинков Ю.Ю., Nazarchuk O.A., 2019].

Также дискуссии подвергается профилактика мест хирургического вмешательства, несостоятельности швов в условиях перитонита, т.к. одним из основных факторов, способствующих возникновению осложнений в этой области, считается эндогенное обсеменение микроорганизмами зоны операции [Дарвин В.В., 2018]. В настоящее время существуют различные способы достижения данной цели, одним из них является применение шовного материала с антисептическим покрытием, укрепление мест оперативного вмешательства различными мембранами, гелями, повышающими прочность наложения швов, и др. [Rand B.C., 2015].

Степень разработанности темы

В настоящее время эффективность применения как иммобилизированной формы бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония (БМП) на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) для санации брюшной полости, так и использование шовного материала с его покрытием для профилактики несостоятельности швов кишечной трубки в условиях перитонита не изучалась.

Остается неизученной противовоспалительная и антимикробная активность иммобилизированной формы (ИФ) в условиях распространенного перитонита и ее влияние на морфологические изменения висцеральной и париетальной брюшины.

Комплексного изучения шовного материала, импрегнированного БМП, до настоящего времени не проводилось. Не изучены исходная и остаточная бактериальная активность, влияние этого шовного хирургического материала на частоту несостоятельности кишечного шва и летальности в условиях распространенного перитонита (РП). В литературе отсутствуют сведения о течении раневого процесса в кишечной стенке после ее зашивания нитью с данным покрытием. Все вышеизложенное определяет актуальность темы и диктует потребность в дальнейшем изучении этого вопроса.

Цель исследования

В условиях эксперимента оценить эффективность применения иммобилизированной формы бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы в лечении распространенного перитонита и шовного материала, импрегнированного данным антисептиком, в профилактике несостоятельности кишечного шва.

Задачи исследования:

1. Сравнить противовоспалительную и противомикробную активность, ассоциированную с ней летальность экспериментальных животных, при лечении распространенного перитонита водной и иммобилизированной (гелевой) формой бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония.
2. Изучить динамику морфологических изменений брюшины при санации брюшной полости водной и иммобилизированной формой бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония.
3. Дать сравнительную оценку выраженности и продолжительности антисептического действия плетеной полигликолевой нити с 10% и 20% покрытием бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмонием.
4. Оценить частоту несостоятельности кишечного шва и летальности животных при ушивании ран толстой кишки инертной полигликолевой нитью с покрытием бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмонием в концентрации 10% и 20%.
5. Определить динамику раневого процесса в стенке кишки при ее ушивании инертной полигликолевой нитью, нитью с покрытием бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмонием в концентрации 10% и 20%.

Научная новизна

Впервые разработана и применена для лечения экспериментального распространенного перитонита иммобилизованная форма БМП на основе Na-КМЦ, изучена ее противовоспалительная и антимикробная активность.

Впервые изучено течение экспериментального перитонита при санации брюшной полости водной и иммобилизированной формой БМП. По результатам работы получен патент на изобретение № 2715922 от 04.03.2020 г. (зарегистрирован в государственном реестре полезных моделей Российской Федерации 4 марта 2020 г. «Способ лечения распространенного перитонита»).

Впервые произведена оценка исходной и остаточной антимикробной активности нового хирургического шовного материала с 10% и 20% покрытием БМП. Впервые в условиях эксперимента «in vivo» изучено влияние ушивания ран толстой кишки нитями, покрытыми 10% и 20% БМП, на частоту несостоятельности и летальности экспериментальных животных.

Впервые определена динамика раневого процесса в стенке кишки при ее ушивании инертной нитью ПГА, нитью с покрытием 10% и 20% БМП. По результатам работы получен патент на изобретение № 2744538 от 11.03.2021 г. (зарегистрирован в государственном реестре полезных моделей Российской Федерации 11 марта 2021 г. «Способ профилактики несостоятельности кишечных швов в условиях распространенного перитонита в эксперименте»).

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Комплексное изучение иммобилизированной формы БМП на основе Na-КМЦ показало, что она обладает высокой противовоспалительной и антимикробной активностью в условиях РП. При ее введении в брюшную полость морфологические признаки воспаления в брюшной полости купируются на 7-е сутки эксперимента. Изготовление ИФ препарата легко осуществить в условиях промышленного производства.

2. Шовный материал, импрегнированный БМП, обладает высокой исходной и остаточной антибактериальной активностью в течение двух суток, что предупреждает развитие несостоятельности кишечного шва. Под влиянием антисептического покрытия кишечный шов быстро ограничивается элементами соединительной ткани, что защищает швы от воздействия патогенной кишечной микрофлоры.

3. Изучение образцов шовного материала, покрытого 10% и 20% БМП, доказало преимущество последнего. Внедрение в клиническую практику ИФ БМП и шовного материала, импрегнированного данным антисептиком, сделает возможным повысить эффективность профилактики несостоятельности кишечного шва и лечения больных с распространенным гнойным перитонитом.

Методология и методы исследования

Примененный в диссертационной работе методологический комплекс основан на подходах, опубликованных в российских и зарубежных научных источниках. Дизайн исследования был составлен в соответствии с этическими нормами работы с лабораторными животными и с учетом наиболее верификационных методов и методик, позволяющих получить достоверные и репрезентативные результаты, с использованием современного оборудования. Проведение исследования одобрено комиссией регионального этического комитета (выписка из протокола заседания секции доклинических исследований РЭК № 2 от 05.03.2018).

Основные положения, выносимые на защиту

1. Технология изготовления иммобилизированной формы бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы проста и доступна для внедрения в практическое здравоохранение.
2. Гелевая форма бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония превосходит по противовоспалительной и антимикробной активности водную и при введении в брюшную полость позволяет в короткие сроки купировать перитонит.
3. Шовный материал, импрегнированный бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмонием, обладает высокой исходной и остаточной в течение двух суток антисептической активностью, при этом активность нити с 20% покрытием превосходит нить с 10% покрытием.
4. При ушивании ран кишечника в условиях распространенного перитонита целесообразно использовать шовный материал, покрытый бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмонием, в сочетании с введением в брюшную полость иммобилизированной формы антисептика.

Личный вклад автора

Для достижения поставленной цели автор лично участвовал во всех этапах диссертационного исследования: планирование научно-исследовательской работы, написание литературного обзора на основе актуальных источников отечественной и зарубежной литературы, проведение и описание экспериментальных исследований, анализ полученных данных, их систематизация, объяснение и статистическая обработка, написание и публикации статей, формулирование, изложение выводов и практических рекомендаций по диссертационной работе.

Внедрение результатов исследования

Результаты работы послужили обоснованием для дальнейшей разработки, экспериментального изучения, выпуска малых партий хирургического шовного материала с покрытием БМП на базе научно-производственной лаборатории компании ООО «Линтекс» (г. Санкт-Петербург). Материалы диссертации используются на лекциях и практических занятиях со студентами 2, 3, 4, 5 и 6 курсов на кафедрах федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Курский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации: оперативной хирургии и топографической анатомии им. профессора А.Д. Мясникова; гистологии, эмбриологии, цитологии; общей хирургии, хирургических болезней института непрерывного образования, хирургических болезней № 1, хирургических болезней № 2, кафедры госпитальной хирургии Медицинского института федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет».

Степень достоверности полученных результатов

Достоверность полученных результатов исследования, сформулированных в диссертации, обусловлена анализом большого объема данных, полученных в ходе экспериментальных работ. Обработка полученного материала выполнена с использованием современных методов статистического анализа. Материалы диссертационного исследования представлены на: Международной научной конференции, посвященной 85-летию Курского государственного медицинского университета «Университетская наука: взгляд в будущее» (г. Курск, 2020), Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Молодежная наука и современность», посвященной 85-летию КГМУ (г. Курск, 2020), Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Молодежная наука и современность», Ассоциации общих хирургов, приуроченной к юбилею кафедры общей хирургии ЯГМУ «Нестираемые скрижали: сепсис et cetera» (г. Ярославль, 2020), Международной научно-практической конференции молодых ученых и студентов «Проблемы фундаментальной медицины и биологии» (г. Кемерово, 2020), Международной республиканской научно-практической конференции «Актуальные проблемы медицины» (г. Гомель, 2020), Международной научной конференции,

посвященной 86-летию КГМУ (г. Курск, 2021), XV международной научно-практической конференции молодых ученых «Сова-2021» (г. Курск, 2021), Международной научно-практической конференции «От фундаментальных знаний к тонкому владению скальпелем» (г. Курск, 2021), Международной научной конференции, посвященной 87-летию Курского государственного медицинского университета «Университетская наука: взгляд в будущее» (г. Курск, 2022).

Апробация диссертации и публикации

Апробация работы состоялась 27 мая 2022 года на совместном заседании кафедр общей хирургии, оперативной хирургии и топографической анатомии им. профессора А.Д. Мясникова, хирургических болезней № 1, хирургических болезней № 2, хирургических болезней института непрерывного образования, гистологии, эмбриологии, цитологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России.

По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, в том числе 5 в изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки РФ для опубликования результатов диссертационных исследований, 1 статья в издании, входящем в базу данных Scopus vs Web of Scince.

Объем и структура диссертации

Текст диссертации состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственного исследования, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, включающего 180 источников, из них 139 отечественных и 41 зарубежных авторов. Материал изложен на 139 страницах печатного текста, содержит 50 рисунков, в том числе с макро- и микрофотографиями, 3 таблицы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы

В качестве материала для исследования были выбраны: иммобилизованная форма 0,01% бензилдиметил-миристоиламинопропиламмония (БМП) на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы (Na-КМЦ) и водный раствор 0,01% БМП (Мирамистин® производства компании ООО «Инфамед»); шовный материал производства компании ООО «Линтекс» (г. Санкт-Петербург), на основе полигликолевой кислоты (ПГА) без антисептического покрытия, нить ПГА с покрытием БМП в концентрации 10%, нить ПГА с покрытием БМП в концентрации 20%. Данные хирургические нити применялись для наложения кишечного шва в условиях РГП в комплексе с иммобилизованной формой БМП. Экспериментальное исследование проводилось в три этапа на 656 крысах-самцах линии «Wistar» массой 200-250 г. на базе лаборатории «Экспериментальной хирургии и онкологии НИИ экспериментальной медицины» ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Этап 1. Для изучения влияния ИФ 0,01% БМП на основе Na-КМЦ на купирование РПП в условиях «in vivo» все экспериментальные животные были разделены на три группы: животным 1-й группы (контрольная) через сутки после моделирования перитонита проводилась санация брюшной полости физиологическим раствором NaCl 0,9%; животным 2-й группы (сравнения) через сутки после моделирования перитонита производили удаление перитонеального экссудата, затем санацию брюшной полости проводили водным раствором 0,01% БМП; в 3-й (опытной) группе через сутки после моделирования перитонита и удаления экссудата в брюшную полость вводили 3-5 мл ИФ 0,01% БМП на основе Na-КМЦ. Противовоспалительную активность антисептика изучали по динамике лейкоцитоза и ЛИИ, противомикробную активность – по динамике КОЕ в 1 мл экссудата, морфологические исследования проводили по стандартным методикам. Забор материала для морфологических, бактериологических и лабораторных исследований производили на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е, 21-е сутки послеоперационного периода.

Этап 2. Исследование исходной и остаточной антибактериальной активности шовного материала проводилось в условиях «in vitro» и «in vivo», где изучали влияние шовного материала на рост микроорганизмов в питательной среде. Во всех исследованиях были сформированы три группы в соответствии с количеством образцов шовного материала. Выведение животных из эксперимента в исследованиях «in vivo» проводили на 1-е и 3-и сутки.

Этап 3. Для изучения влияния антисептического шовного материала в комплексе с ИФ на течение распространенного перитонита все экспериментальные животные были разделены на три группы: животным 1-й группы (контрольная) через сутки после моделирования перитонита и удаления перитонеального экссудата наносили раневой дефект на стенку толстой кишки длиной 1 см, который ушивали с помощью ПГА нити без антисептического покрытия, затем в брюшную полость вводили 3-5 мл ИФ 0,01% БМП на основе Na-КМЦ; животным 2-й группы (сравнения) через сутки после моделирования перитонита и удаления перитонеального экссудата наносили раневой дефект на стенку толстой кишки стандартно (1 см), который ушивали с помощью антисептической ПГА нити с покрытием 10% БМП, после чего во все ее отделы вводили 3-5 мл ИФ; животным 3-й группы (опытная) проводили аналогичные манипуляции, что и животным в группе № 2, но дефект кишки ушивали с помощью ПГА нити с покрытием 20% БМП, затем во все ее отделы вводили 3-5 мл ИФ. Забор материала для морфологических, бактериологических, лабораторных исследований производился на 1-е, 3-и, 7-е, 14-е, 21-е сутки от начала экспериментального исследования в послеоперационном периоде.

Статистическая обработка результатов выполнена по общепринятым методическим рекомендациям для медико-биологических исследований. Учитывая, что большинство распределений были негауссовскими, определяли такие показатели описательной статистики, как медиана и интерквартильный размах – Me [25;75]. Ввиду небольших размеров выборки в экспериментальных

группах исследования при выполнении расчетов было принято решение в качестве основной методики определения уровня статистической значимости отличий использовать непараметрический критерий Манна-Уитни. Считали допустимой для экспериментальных медико-биологических исследований ошибку 5% (уровень $p \leq 0,05$). В качестве программной среды использовали триал-версию (версия, предусматривающая бесплатное распространение в сети Интернет, а также неполный, ограниченный функционал программы, но достаточный для выполнения указанных расчетов) программы Statistica 10.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты изучения влияния способа санации на течение распространенного перитонита (этап 1)

Для оценки влияния антисептического эффекта раствора 0,01% БМП и ИФ 0,01% БМП на основе Na-КМЦ на течение распространенного перитонита производился бактериологический посев содержимого брюшной полости на 1-е, 3-и сутки в послеоперационном периоде. Анализ подвергался количественный состав микроорганизмов в 1 мл содержимого брюшной полости.

На 1-е сутки после операции число микроорганизмов в контрольной группе, где не применялся антисептический раствор, было в 1,8 раза достоверно выше, чем в группах животных, где применялся антисептик. В группе животных, где применялся водный раствор БМП, количество колониеобразующих единиц было в 1,2 раза больше, чем в группе животных, где применялась ИФ (рисунок 1).

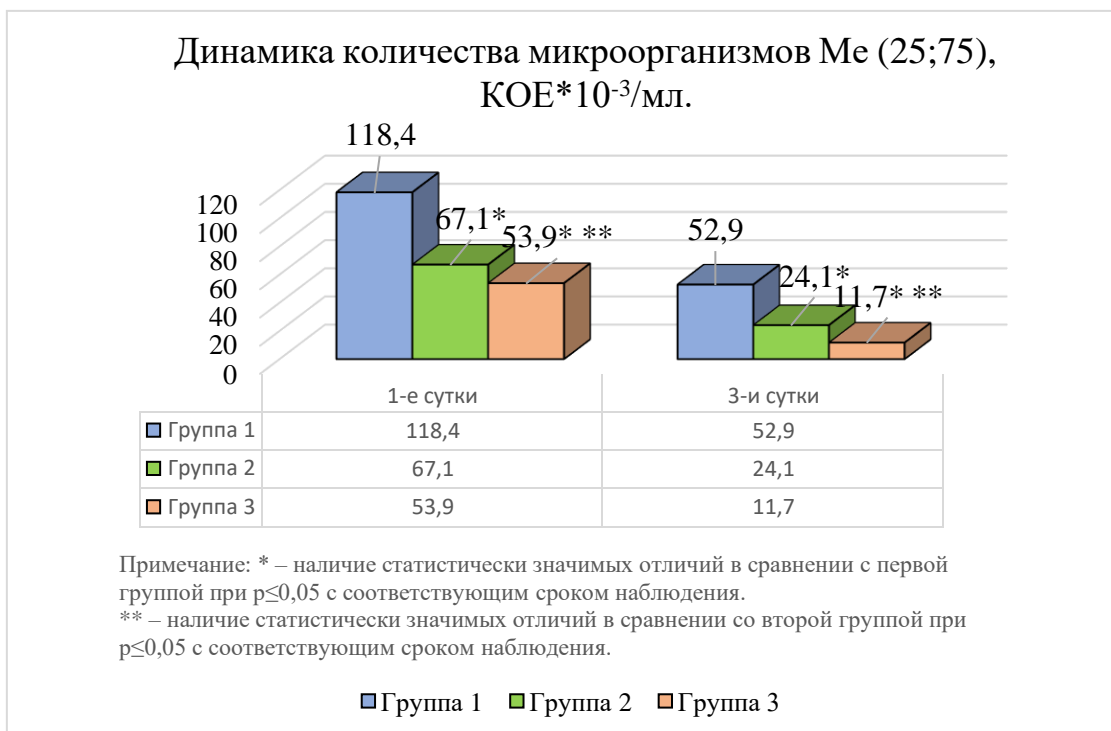


Рисунок 1 – Количество микроорганизмов в 1 мл содержимого брюшной полости на 1-е и 3-и сутки эксперимента.

Наиболее выраженный антисептический эффект наблюдался в опытной группе животных, где на 3-и сутки эксперимента количество колониеобразующих единиц при сопоставлении с контрольной группой было в 4,5 раза ниже, при сопоставлении с группой сравнения ниже в 2 раза ($p \leq 0,05$). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что применение ИФ 0,01% БМП дает больший антисептический эффект в сравнении с его жидкой формой, что было статистически достоверно.

В контрольной группе животных (группа № 1) без применения антисептика на 1-е сутки в раннем послеоперационном периоде отмечался значительный подъем лейкоцитов до $20,1 (18,2; 24,3) \cdot 10^3/\text{мл}$, что в 1,2 раза больше, чем в группе, где применялся водный раствор БМП, и в 1,4 раза выше, чем в группе, где применялась ИФ ($p \leq 0,05$). Отмечалось постепенное снижение лейкоцитоза в этой группе к 7-м суткам послеоперационного периода до $17,3 (14,9; 19,2) \cdot 10^3/\text{мл}$, что в 1,7 раза и в 2 раза достоверно больше, чем в группе № 2 и группе № 3 соответственно. Лейкоцитоз в контрольной группе животных так и не доходил до нормальных показателей даже на 14-е сутки эксперимента.

В серии эксперимента, где применялся водный раствор БМП (группа № 2), на 1-е сутки отмечалось значительное снижение лейкоцитоза в сравнении с контрольной группой, что составляло $16,2 (14,4; 17,3) \cdot 10^3/\text{мл}$ и было в 1,2 раза выше, чем в группе животных с применением ИФ ($p \leq 0,05$). Выраженное уменьшение показателя наблюдалось к 3-м суткам послеоперационного периода, что составило $12,5 (10,9; 14,2) \cdot 10^3/\text{мл}$ и было в 1,5 раза достоверно меньше, чем в контрольной группе, но в 1,3 раза выше ($p \leq 0,05$), чем в опытной. В последующем отмечалось снижение лейкоцитоза к 7-м суткам до $10,1 (7,9; 12,2) \cdot 10^3/\text{мл}$, что в 1,2 раза выше, чем в группе животных с введением ИФ, но в 1,7 раза ниже в сравнении с контрольной группой без применения антисептика ($p \leq 0,05$). Верхних границ нормы уровень лейкоцитов достигал к 14-м суткам эксперимента (рисунок 2).

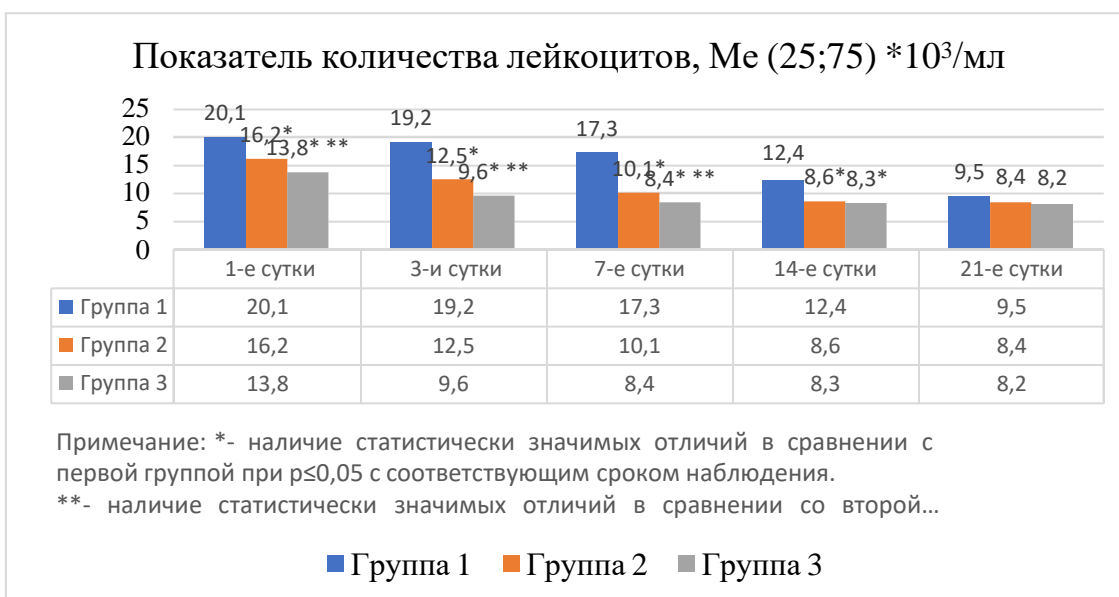
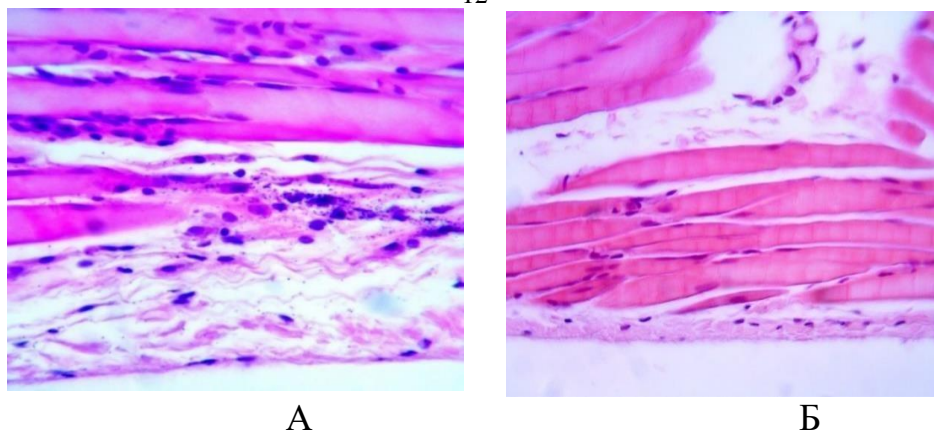


Рисунок 2 – Динамика количества лейкоцитов в зависимости от способа санации брюшной полости.

В опытной группе (группа № 3), где применялась ИФ, на 1-е сутки послеоперационного периода отмечалось наиболее значительное уменьшение лейкоцитоза до $13,8 (11,9;15,2) * 10^3/\text{мл}$, что в сравнении с группой без введения антисептика было в 1,4 раза меньше и в 1,2 раза ниже, чем в группе сравнения с применением водного раствора ($p \leq 0,05$). Стоит отметить, что до верхних границ нормы показатель лейкоцитоза доходил уже к 3-м суткам эксперимента и составил $9,6 (7,9;12,2) * 10^3/\text{мл}$. Начиная с 7-х суток, число лейкоцитов оставалось в пределах нормы. К 14-м суткам регистрировался нормальный показатель лейкоцитов в опытной группе. К 21-м суткам во всех экспериментальных группах животных количество лейкоцитов варьировалось в пределах нормы (рисунок 2). В группе с применением ИФ отмечалось более выраженное снижение значений ЛИИ к 3-м и 7-м суткам (рисунок 2) в сравнении с другими группами эксперимента, что было статистически достоверно. Начиная с 7-х суток, число лейкоцитов оставалось в пределах нормы. Таким образом, результаты исследуемых лабораторных показателей свидетельствуют о том, что наиболее динамичное и быстрое снижение лейкоцитоза, ЛИИ до нормальных показателей наблюдалось в группе животных, где применялась ИФ. Результаты исследуемых лабораторных показателей свидетельствуют о том, что наиболее эффективный способ лечения распространенного перитонита отмечался в 3-й группе эксперимента, где в брюшную полость вводили иммобилизованную форму БМП ($p \leq 0,05$). У животных 2-й группы с применением водного раствора также отмечался положительный эффект от лечения, но наиболее динамичное и быстрое снижение лейкоцитоза, ЛИИ до нормальных показателей наблюдалось в опытной группе, что свидетельствовало об уменьшении воспалительных патологических процессов в брюшной полости и было статистически достоверно.

Проведенный анализ морфологических изменений органов, контактирующих с раствором БМП, выявил хорошо выраженную картину воспалительных изменений со стороны как париетального, так и висцерального листков брюшины с сохранением некоторых реактивных изменений вплоть до 21-х суток эксперимента. При микроскопическом изучении морфологических особенностей органов брюшной полости, имеющих непосредственный местный контакт с гелем БМП, было обнаружено прогрессирование признаков воспаления на 1-е и 3-и сутки эксперимента. К 7-м суткам происходило снижение воспалительной реакции со стороны париетального и висцерального листков брюшины. Через семь дней от начала эксперимента в париетальном листке брюшины и образующей его соединительной ткани определялись лаброциты в стадии дегрануляции. Клеток воспалительного ряда, таких как нейтрофилы и лейкоциты, в поле зрения гистологических препаратов отмечено не было. Отмечалось небольшое количество тучных клеток, моноцитов и лимфоцитов. В местах локального прикрепления париетального листка брюшины с сальником, а также брыжейкой, присутствовали в большом количестве лаброциты в стадии дегрануляции и в стадии перехода к накоплению секрета (рисунок 3А).



А

Б

Рисунок 3 – Микрофотография среза передней брюшной стенки через неделю после оперативного вмешательства. А – тучные клетки в стадии дегрануляции, низкая клеточная плотность, признаки отека сохранены после санации раствором БМП. Б – в поле зрения визуализировались в большей степени фибробласты и фиброциты, а также единичные лимфоциты, мезотелий не изменен. Признаков отека нет после введения ИФ БМП. Окрашено гематоксилином и эозином. Увеличение x 200 (Б), x 400 (А, Б).

Полное восстановление структурной целостности изучаемых тканей наблюдалось, начиная с 14-х суток эксперимента. При микроскопическом изучении морфологических особенностей органов брюшной полости, имеющих непосредственный местный контакт с гелем БМП, было обнаружено прогрессирование признаков воспаления на 1-е и 3-и сутки. Было выявлено, что введение ИФ БМП приводило к затуханию воспалительного процесса уже на 7-е сутки эксперимента, а при применении водного раствора воспаление в брюшной полости сохранялось даже через 2 недели от начала эксперимента. Это проявлялось в выраженном уменьшении количественного и качественного состава клеточного компонента. Визуализировались в большей степени фибробласты и фиброциты, а также единичные лимфоциты (рисунок 3Б). Полное восстановление структурной целостности изучаемых тканей происходило к 14-м суткам эксперимента.

Результаты исходной и остаточной антибактериальной активности шовного материала (этап 2)

Было установлено, что все образцы шовного материала обладают выраженным антибактериальным эффектом в отношении представленных тест-штаммов микроорганизмов. Стоит отметить, что образцы шовного материала, которые содержали на своей поверхности БМП в концентрации 20%, оказали наиболее выраженную задержку зон роста в отношении *E.coli* ATCC 25922, *Candida albicans* NCTC 2625 по сравнению с образцами шовного материала с концентрацией 10%. На 1-е сутки исследования наибольшую остаточную бактерицидную активность показали образцы шовного материала ПГА, содержащие на своей поверхности БМП в концентрации 20%, что было статистически достоверно (рисунок 4).

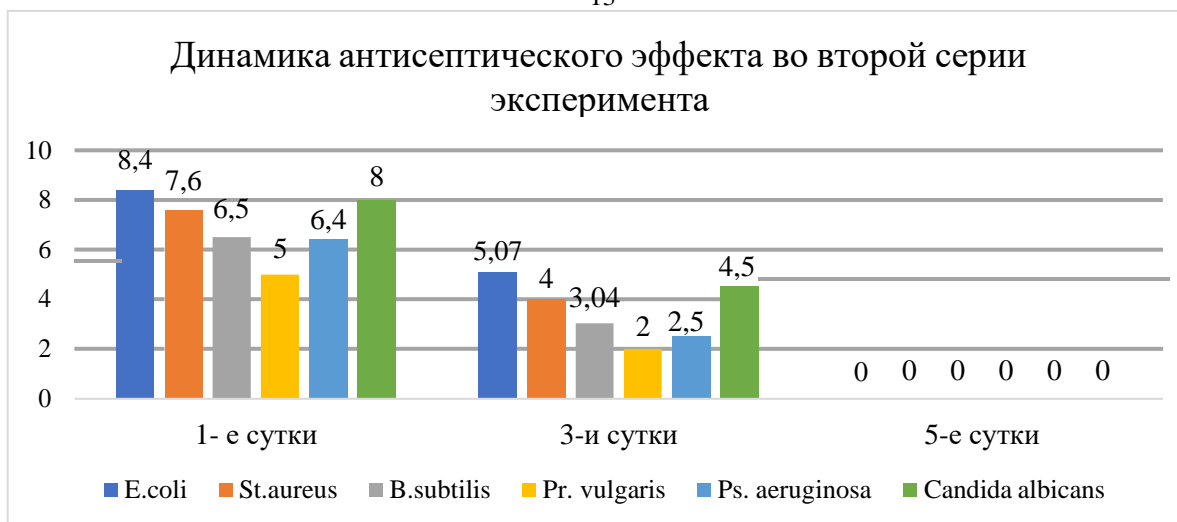


Рисунок 4 – Остаточная антисептическая активность ПГА с покрытием 20% (группа № 2).

К 3-м суткам послеоперационного периода происходит уменьшение антисептического эффекта, но отмечается сохранение бактерицидной активности в отношении всех представленных факультативно-аэробных микроорганизмов. В группе животных, где применялась нить ПГА с покрытием 10%, также сохраняется антисептический эффект на 1-е сутки послеоперационного периода в отношении всех тест-штаммов микроорганизмов, однако к 3-м суткам задержка зона роста была достоверно меньше, чем в группе сравнения.

Результаты влияния антисептического шовного материала в комплексе с иммобилизированной формой при наложении кишечного шва (этап 3)

Было установлено, что на 1-е сутки после операции в группе животных, где применялась ИФ и ПГА с 10% покрытием БМП, число микроорганизмов было в 1,4 раза меньше, чем в контрольной группе, а на 3-и сутки в 1,6 раза меньше ($p \leq 0,05$). В группе животных, где применялась ИФ и ПГА с 20% покрытием БМП, число микроорганизмов было в 1,8 раза достоверно меньше, чем в контрольной группе, а на 3-и сутки в 2,4 раза меньше. Более сильное антисептическое воздействие отмечается в опытной группе животных (ИФ БМП и ПГА с 20% покрытием), где на 1-е сутки КОЕ при сопоставлении с группой сравнения было в 1,2 раза ниже. К 3-м суткам в этой же группе показатель количества микроорганизмов в содержимом из брюшной полости в 1,5 раза меньше, чем в группе сравнения (ИФ БМП и ПГА с 10% покрытием). В группе с применением ИФ и ПГА с 10% БМП на 1-е сутки отмечалось снижение лейкоцитоза по сравнению с контрольной группой в 1,2 раза ($p \leq 0,05$). Значительное уменьшение лейкоцитарной реакции наблюдалось к 3-м и 7-м суткам. ЛИИ в данной группе устанавливался в пределах нормы к 7-м суткам в послеоперационном периоде. К 14-м суткам количество лейкоцитов варьируется в пределах нормальных значений. В группе животных с применением ИФ и ПГА с 20% БМП через сутки после операции отмечается самый низкий уровень лейкоцитов, что в 1,3 раза достоверно меньше в

сравнении с контрольной группой и ниже в 1,2 раза, чем в группе сравнения. К 3-м суткам отмечается плавное снижение числа лейкоцитов, с последующим установлением нормальных значений к 7-м суткам. В этой же группе значение ЛИИ было в 1,2 раза меньше в сравнении с опытной группой животных, где применялась нить ПГА с покрытием 10% ($p \leq 0,05$). К 7-м суткам шло плавное снижение лейкоцитарного индекса.

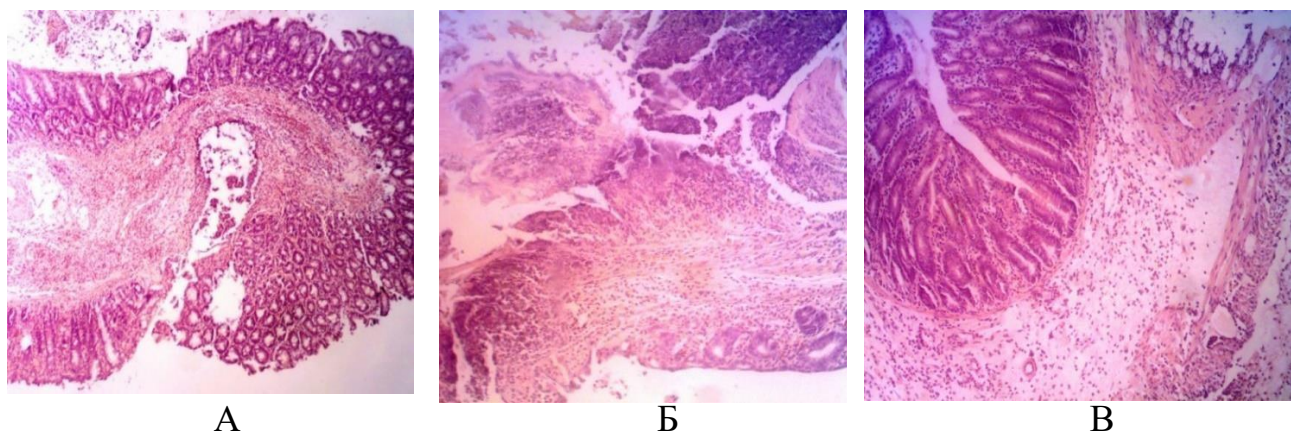


Рисунок 5 – Микрофотография среза толстой кишки на 3-и сутки после ушивания дефекта. А – инертной полигликолидной нитью. Б – полигликолидной нитью с покрытием 10% БМП. В – полигликолидной нитью с покрытием 20% БМП. Окрашено гематоксилином и эозином. Ув.×200.

Было отмечено, что в группе, где применялась нить ПГА без покрытия, на ранних сроках послеоперационного периода наблюдались ярко выраженные изменения в области наложения шва в отличие от групп животных, где использовали ПГА с покрытием БМП. В области шва отмечались очаги инфильтрации с локальной ориентацией (рисунок 5А). При этом основными клетками являлись нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты.

В группе с применением ИФ БМП и ПГА с концентрацией 10% на 3-и сутки в срезах толстого отдела кишечника происходило снижение объема инфильтрации тканей, образующих стенку кишки. Относительно области шва наблюдалось сохранение интерстициального отека, остатков шовного материала. В клеточном компоненте визуализировались клетки фибробластического дифферона на фоне абсолютного преобладания агранулоцитов (рисунок 5Б). При применении ИФ БМП и ПГА с концентрацией 20% в эти же сроки отмечалась тенденция к многократному снижению площади инфильтрата вокруг нити шовного материала в сравнении с другими группами. В мышечной оболочке инфильтрации практически не наблюдалось, визуализируемые кровеносные сосуды были кровенаполненными, кишечные крипты расширены, в выстилающем их эпителии наблюдались бокаловидные клетки крупных размеров с активным накоплением секрета (рисунок 5В).

В контрольной группе животных на 7-е сутки в срезе стенки толстой кишки, в слизистой и подслизистой оболочках отек, инфильтрация и

кровенаяполнение кровеносных сосудов сохранялись (рисунок 6А). В клеточном компоненте преобладали нейтрофилы, лимфоциты и макрофаги. На 14-е сутки в толстом кишечнике наблюдалась инфильтрация мышечной и серозной оболочек, и даже через 21 день отмечалась высокая клеточная плотность в подслизистой и мышечной оболочках. Среди клеток в поле зрения преобладали клетки-нерезиденты.

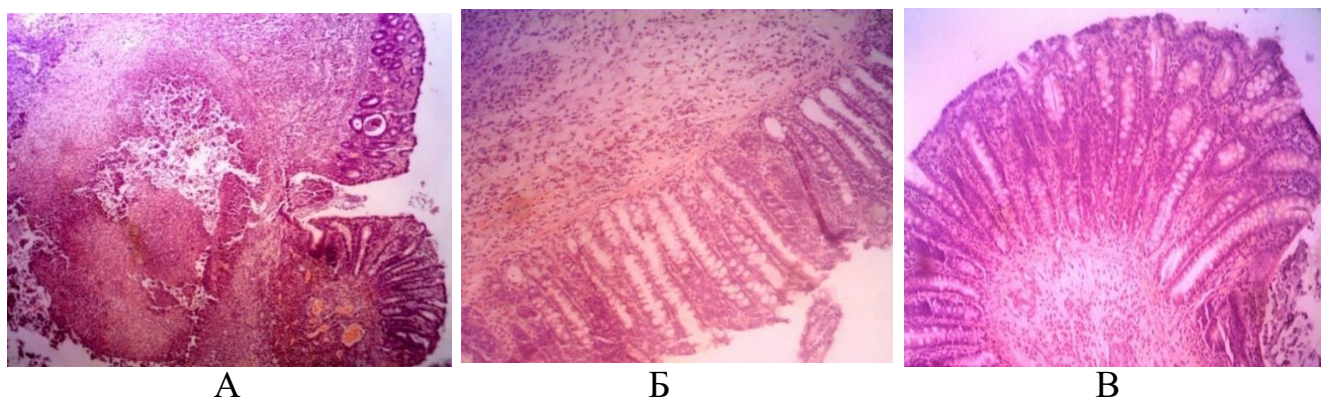


Рисунок 6 – Микрофотография среза толстой кишки на 7-е сутки после ушивания дефекта. А – инертной полигликолидной нитью. Б – полигликолидной нитью с покрытием 10% БМП. В – полигликолидной нитью с покрытием 20% БМП. Окрашено гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$.

В группах сравнения и опытной в области кишечного шва зоны нейтрофильно-лимфоцитарной инфильтрации уменьшались уже к 3-м суткам, и через неделю от начала эксперимента отмечалась незначительная инфильтрация в области наложения шва. В экспериментальной группе животных, где применялся шовный материал ПГА с покрытием БМП в концентрации 10% в комплексе с ИФ, на 7-е сутки послеоперационного периода в микропрепаратах толстого кишечника в непосредственной зоне шва отмечался умеренный отек. Наблюдалась инфильтрация слоев кишечной стенки в области наложения шва лимфоцитами (рисунок 6Б). В экспериментальной группе животных, где применялся шовный материал ПГА с покрытием БМП в концентрации 20% в комплексе с ИФ, на 7-е сутки послеоперационного периода в срезах толстого отдела кишечника в сравнении с предыдущими сутками плотность клеток была ниже (рисунок 6В). Серозная оболочка была представлена рыхло-волокнистой соединительной тканью, состоящей из равных пропорций клеточного и волокнистого компонентов. В поле зрения преобладали клетки фиброциты, фибробласты, лимфоциты, отмечались участки без мезотелиальной ткани. Плоский однослойный эпителий в большинстве своем был представлен клетками, находящимися в стадии деления. Через две и три недели в послеоперационном периоде срезы в области шва были без особенностей.

Таким образом, по результатам морфологического исследования было отмечено, что в группе, где применялись ИФ и нить ПГА с покрытием 10%, на 1-е

и 3-и сутки эксперимента реактивные изменения были ярко выражены, при этом интенсивность их проявления была несколько ниже, чем в группе, где применялась нить ПГА без покрытия. Начиная с 7-х суток, наблюдалась регрессия ранее выявленных структурных изменений, приводящая к тому, что на 14-е и 21-е сутки гистологические срезы толстой кишки были без особенностей. Использование ИФ с ПГА покрытием 20% позволило значительно сократить сроки воспаления в области кишечного шва. Хорошо выраженная динамика в сторону снижения признаков воспаления проявлялась в постепенном уменьшении площади инфильтрации от тотального (инфильтрация лимфоцитами и нейтрофилами всех слоев стенки толстого отдела кишечника) до обычного количества клеток воспалительного ряда в стенке толстого отдела кишечника. В зоне наложения кишечного шва отмечалось снижение не только участков некроза, но и нейтрофильно-лимфоцитарной инфильтрации уже к 3-м суткам, до полного исчезновения к 7-м суткам эксперимента, что также свидетельствовало о высокой эффективности данной формы БМП и нитей с покрытием БМП 20%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Первый опыт использования ИФ БМП на основе Na-КМЦ в эксперименте говорит об удовлетворительных результатах применения таких средств. Это подтверждается менее выраженной воспалительной реакцией тканей по итогам оценки лабораторных и морфологических исследований. Наиболее эффективный способ профилактики швов в условиях распространенного перитонита отмечается в группе экспериментальных животных, где для наложения шва применялся шовный материал ПГА с покрытием БМП 20% в комплексе с ИФ. Таким образом, применение ИФ БМП в комплексе с шовным материалом с его покрытием позволяет в короткие сроки купировать воспалительный процесс в брюшной полости и предотвратить возникновение несостоятельности кишечного шва.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Полученные в ходе исследования данные могут выступить основой для разработки эффективных образцов гелевых форм антисептических препаратов на основе натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы, используемых при санации брюшной полости, также образцов хирургических шовных материалов, покрытых антисептиком, для оперативных вмешательств на полых органах.

Согласно результатам исследования, перспективной является разработка инновационных гелевых форм антисептических средств для санации брюшной полости в условиях распространенного перитонита, применение хирургических нитей с антисептическим покрытием для профилактики несостоятельности швов. В качестве дальнейшего предмета изучения можно рассмотреть возможность доклинических исследований, а также варианты включения в состав антисептических средств на основе натрий-карбоксиметилцеллюлозы различных фармакологических веществ, обладающих антимикробной активностью.

ВЫВОДЫ

1. Противовоспалительная активность (лейкоцитоз, лейкоцитарный индекс интоксикации) иммобилизированной формы бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония была достоверно ($p \leq 0,05$) больше его водного раствора через сутки (24 ч.) – в 1,2 раза, через трое суток (48 ч.) – в 1,3 раза, через неделю (7 сут.) – в 1,2 раза, что привело к снижению летальности животных через сутки – в 1,5 раза, через трое суток – в 1,4 раза и через семь суток эксперимента – в 1,4 раза.

2. Морфологическое исследование выявило достоверное ($p \leq 0,05$) увеличение числа клеток фибробластического дифферона с наибольшим значением, начиная с 14-х суток эксперимента, в группе животных с применением иммобилизированной формы бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония для санации брюшной полости.

3. Исходная антимикробная активность полигликолевой нити с 20% покрытием бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмонием статистически значимо превосходила в 1,2 раза нить с 10% покрытием, а остаточная антимикробная активность нити с 10% покрытием была на первые сутки достоверно меньше ($p \leq 0,05$) в 1,5 раза, на вторые сутки – в 2,2 раза ($p \leq 0,05$).

4. При санации брюшной полости водной формой антисептика воспалительный процесс в брюшине продолжается до 14 суток, а при введении гелевой формы до 7 суток. Иммобилизованная форма в 2 раза эффективнее его водного раствора.

5. Несостоятельность кишечного шва развилась после ушивания раны полигликолевой нитью без покрытия антисептиком у 48% экспериментальных животных, при ушивании нитью с 10% покрытием бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмонием – у 32,3%, а при ушивании нитью с 20% покрытием – у 18%, что привело к летальности животных соответственно в 79,2%, 50% и 37,5% случаях ($p \leq 0,05$).

6. При применении нити с 10% покрытием первая фаза воспаления продолжалась 7 суток, вторая – 14 суток. Воспалительная реакция на нить с 20% покрытием длилась 3-е суток, фаза пролиферации заканчивалась к 14-м суткам, полное восстановление архитектоники кишечной стенки происходило на 14-е сутки.

Практические рекомендации

1. Пролонгированную форму бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония 0,01% изготавливать по следующей методике: 2 грамма порошка натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы заливать 100 мл раствора 0,01% бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония. Через 2 часа после набухания натриевой соли карбоксиметилцеллюлозы гель переливать во флакон емкостью 100 мл и стерилизовать в автоклаве под давлением в 1,1 атмосферы в течение 10 минут. После этого гель готов к применению.

2. При распространенном перитоните производить санацию брюшной полости можно по предложенной методике: патент РФ № 2715922 от 04.03.2020 г. «Способ лечения распространенного перитонита».

3. Придание антимикробной активности рассасывающейся полигликолидной нити осуществить путем нанесения полимерного покрытия в два слоя с введением антимикробного препарата. Для нанесения покрытия использовать растворы поли-ε-капролактона в 1,3-диоксолане, содержащие бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония. Для первого и второго покрытия использовать 2% и 10% растворы полимера, вводить в оба покрытия в количестве 10% или 20% от массы полимера. Дальнейшее повышение концентрации антисептика нарушает структуру шовного материала.

4. Устранение дефектов кишечной стенки, вызвавших распространенный перитонит, целесообразно производить по разработанной методике: патент РФ № 2744538 от 11.03.2021 г. «Способ профилактики несостоятельности кишечных швов в условиях распространенного перитонита в эксперименте».

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Мосолова, А.В. Тенденции разработки нового шовного материала в хирургической практике / А.В. Мосолова, Т.В. Мутова, В.М. Пашков // Университетская наука: взгляд в будущее: сборник научных трудов по материалам Международной научной конференции, посвященной 85-летию Курского государственного медицинского университета. (Курск, 7 февраля 2020 г.) – Курск: Курский государственный медицинский университет, 2020. – С. 444-446.

2. Патент № 2715922 С1 Российская Федерация, МПК А61В 17/00. Способ лечения распространенного перитонита: № 2019124361 : заявл. 29.07.2019; опубл. 04.03.2020 / А.В. Мосолова, Б.С. Суковатых, М.А. Затолокина, В.М. Пашков, Т.А. Панкрушева, М.С. Чекмарёва. – 7 с.

3. Мосолова, А.В. Преимущества и недостатки различных моделей экспериментального перитонита / А.В. Мосолова // Молодежная наука и современность : материалы 85-й Международной научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной 85-летию КГМУ (Курск, 23-24 апреля 2020 г.) – Курск : Курский государственный медицинский университет, 2020. – С. 363 – 365.

4. Суковатых, Б.С. Современные способы профилактики несостоятельности кишечного шва в условиях распространенного перитонита / Б.С. Суковатых, А.В. Мосолова, М.А. Затолокина // Нестираемые скрижали: сепсис et cetera : сборник материалов конференции Ассоциации общих хирургов, приуроченной к юбилею кафедры общей хирургии ЯГМУ (Ярославль, 18-19 мая 2020 г.). – Ярославль: Цифровая типография, 2020. – С. 462 – 465.

5. Оценка биоцидной активности нового шовного материала, импрегнированного мирамистином / А.В. Мосолова, Л.Г. Климова, Б.С. Суковатых [и др.] – DOI 10.19163/1994-9480-2021-1(77)-31-35 // Вестник

Волгоградского государственного медицинского университета. – 2021. – № 1 (77). – С. 31-35.

6. Патент № 2744538 С1 Российская Федерация, МПК G09В 23/28, А61В 17/00, А61Р 31/00. Способ профилактики несостоятельности кишечных швов в условиях распространенного перитонита в эксперименте: № 2020106408 : заявл. 11.02.2020: опубл. 11.03.2021 / В.А. Лазаренко, А.В. Мосолова, Б.С. Суковатых, М.А. Затолокина, В.В. Цымбалюк. – 9 с.

7. **Сравнительная эффективность иммобилизованных форм гипохлорита натрия и мирамистина в лечении экспериментального распространенного перитонита / Б.С. Суковатых, А.В. Мосолова, М.А. Затолокина, Ю.Ю. Блинков – DOI 10.25881/BPNMSC.2021.91.21.008 // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2021. – Т. 16, № 1. – С. 46-51.**

8. Суковатых, Б.С. Экспериментальное обоснование применения иммобилизованной формы мирамистина в лечении распространенного перитонита / Б.С. Суковатых, М.А. Затолокина, А.В. Мосолова – DOI 10.18499/2070-478X-2021-14-1-53-60 // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2021. – Т. 14, № 1 (50). – С. 53-60.

9. Профилактика несостоятельности кишечного шва в условиях экспериментального распространенного перитонита / Б.С. Суковатых, А.В. Мосолова, М.А. Затолокина [и др.] – DOI 10.25881/20728255_2021_16_3_52 // Вестник Национального медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2021. – Т. 16, № 3. – С. 52-56.

10. Экспериментально-клиническое обоснование применения шовного материала, импрегнированного мирамистином, в условиях распространенного перитонита / Б.С. Суковатых, А.В. Мосолова, М.А. Затолокина [и др.] – DOI 10.18499/2070-478X-2021-14-4-252-259 // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2021. – Т. 14, № 4(53). – С. 252-259.

11. Суковатых, Б.С. Эффективность шовного материала, импрегнированного мирамистином, в условиях экспериментального распространенного перитонита / Б.С. Суковатых, А.В. Мосолова // Актуальные вопросы хирургии: сборник статей, посвященный 90-летию со дня рождения почетного профессора КрасГМУ им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России Маркса Израилевича Гульмана / Министерство здравоохранения Красноярского края ; Красноярское региональное отделение Российского общества хирургов. – Красноярск: Типография «Версо», 2021. – С. 156-161.

12. Мосолова, А.В. Динамика морфологических изменений поджелудочной железы при распространенном перитоните на фоне лечения иммобилизованной формой мирамистина / А.В. Мосолова, Б.С. Суковатых, М.А. Затолокина // Эксперимент в хирургии и онкологии: сборник научных трудов и материалов Международной научно-практической онлайн-конференции

(Курск, 12 сентября 2021 г.). – Курск: Курский государственный медицинский университет, 2021. – С. 95-97.

13. Мосолова, А.В. Динамика морфологических изменений брюшины при распространенном перитоните на фоне лечения иммобилизированной формой мирамистина / А.В. Мосолова, Е.С. Затолокина // Молодежная наука и современность : материалы 86-й Международной научной конференции студентов и молодых ученых, посвященной 86-летию КГМУ (Курск, 22-23 апреля 2021 г.). – Курск: Курский государственный медицинский университет, 2021. – С. 226-228.

14. **Results of Evaluation of the Physical and Mechanical Properties of a New Suture Material with Miramistin Coating / A.V. Mosolova, B.S. Sukovatykh, M.A. Zatolokina [et al.] – DOI 10.21103/Article12(2)OA20 // International Journal of Biomedicine. – 2022. – Vol. 12, No 2. – P. 308-310.**

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

Na-КМЦ – натриевая соль карбоксиметилцеллюлозы

NaCl – физиологический раствор 0,9%

p – достоверность отличий между признаками

БМП – бензилдиметил-миристоиламино-пропиламмония

ИФ – иммобилизированная форма

ПГА – рассасывающаяся нить на основе полигликолевой кислоты

РП – распространенный перитонит

РГП – распространенный гнойный перитонит

ЛИИ – лейкоцитарный индекс интоксикации

Лицензия ЛР № 020862 от 30.04.99 г.
Сдано в набор 17.11.2022 г. Подписано в печать 18.11.2022 г.
Формат 30x42¹/₈. Бумага офсетная. Гарнитура Times New Rom.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 1,0.
Тираж 100 экз. Заказ № **«А»**.
Издательство Курского государственного медицинского университета
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3

