



005051652

*На правах рукописи*

**КОСИНЕЦ  
ВЛАДИМИР АЛЕКСАНДРОВИЧ**

**ОПТИМИЗАЦИЯ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ  
РАСПРОСТРАНЕННОГО ГНОЙНОГО ПЕРИТОНИТА  
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-КЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

**14.01.17 – хирургия**

**11 АПР 2013**

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

**Москва – 2013**

**Работа выполнена в ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации**

**Научный консультант:**

академик РАМН,

доктор медицинских наук, профессор

**Гостищев Виктор Кузьмич**

**Официальные оппоненты:**

**Ефименко Николай Алексеевич** – член-корреспондент РАМН, доктор медицинских наук, профессор, генерал-майор медицинской службы, главный врач-хирург, заведующий кафедрой хирургии усовершенствования врачей ФГКУ МО РФ «Медицинский учебно-научный клинический центр имени П.В. Мандрыка»;

**Липницкий Евгений Михайлович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургии медико-профилактического факультета ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова;

**Луцевич Олег Эммануилович** – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии № 1 ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова».

**Ведущая организация: ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации**

Защита диссертации состоится «13» мая 2013 г. в 14 часов на заседании диссертационного совета Д.208.040.03 при Первом Московском государственном медицинском университете имени И.М. Сеченова (119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2).

С диссертацией можно ознакомиться в Центральной научной медицинской библиотеке Первого МГМУ имени И.М. Сеченова (117418, Москва, Нахимовский проспект, д. 49).

Автореферат разослан 15 апреля 2013 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук,  
профессор

**Шулутко Александр Михайлович**

## **АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ.**

За последние десятилетия достигнуты определенные успехи в решении одной из наиболее сложных проблем абдоминальной хирургии - лечении распространенного гнойного перитонита. Многочисленные экспериментальные и клинические исследования способствовали разработке фундаментальных принципов лечения данного заболевания, которые позволили перестать считать исход перитонита неизбежно летальным. Тем не менее, согласно современных литературных данных, летальность при распространенном гнойном перитоните колеблется в широких пределах от 9,79 до 84% и в среднем составляет 38,6-45%, что, по-прежнему, свидетельствует об отсутствии единого эффективного комплексного подхода при его лечении (Савельев В.С., 2007; Ефименко Н.А., 2006; Брискин Б.С., Демидов Д.А., 2005; Стручков Ю.В., 2004; Гостищев В.К., 2002).

Не теряет свою актуальность проблема рациональной антибактериальной терапии. Основные сложности связаны с формированием резистентной микрофлоры в связи с назначением антибиотиков без учета результатов бактериологических исследований (Шестопалов А.Е., 2004). Важное значение имеет своевременное выделение, достоверная идентификация микроорганизмов, определение их чувствительности к антибактериальным препаратам и назначение эффективной антибактериальной терапии. В настоящее время с этой целью, как правило, используются тест-системы зарубежного производства. Основным их недостатком является высокая себестоимость применения. В связи с этим назрела необходимость создания отечественных тест-систем.

Перитонит характеризуется выраженными негативными изменениями иммунного гомеостаза, которые усугубляются операционной травмой и наркозом, оказывающими мощное депрессивное воздействие на иммунитет (Гаин Ю.М. и соавт., 2001; Жестков К.Г. и соавт., 1993).

В настоящее время медицина располагает широким набором препаратов, обладающих иммуномодулирующим действием. Тем не менее, в их применении при лечении распространенного гнойного перитонита нередко

отсутствует системный и целенаправленный характер, в частности, на клеточно-опосредованный иммунитет с целью регуляции миграционных свойств нейтрофильных гранулоцитов.

Исследования последних лет указывают на прямое негативное влияние бактериальных токсинов на функцию митохондриального аппарата (Porta F. et al., 2009; Fedotcheva N.I. et al., 2008; Vanasco V. et al., 2008;), выполняющего целый ряд функций, важнейшей из которых является синтез макроэргических соединений и энергообеспечение организма (Афанасьев В.В., 2005).

Следовательно, необходимым компонентом в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита должно быть средство, действие которого было бы направлено на нормализацию процессов биологического окисления и восстановление энергообеспечения организма.

В настоящее время большой интерес представляет изучение при распространенном гнойном перитоните состояния липид-транспортной системы организма и возможности его коррекции.

Современные методы исследования на клеточно-молекулярном уровне дают возможность получить новые данные о механизмах патогенеза распространенного гнойного перитонита. В связи с этим назрела необходимость уточнения и дополнения существующих схем комплексного лечения распространенного гнойного перитонита с целью повышения его эффективности и снижения летальности.

**Цель работы:** разработка комплексного лечения распространенного гнойного перитонита с учетом новых данных его этиопатогенеза.

**Задачи исследования:**

1. Провести анализ результатов применяемого в настоящее время комплексного лечения распространенного гнойного перитонита.
2. Разработать тест-системы для идентификации аэробных и неклостридиальных анаэробных микроорганизмов и определения их чувствительности к антибактериальным препаратам.
3. Разработать эффективные схемы антибактериальной терапии для лечения

распространенного гнойного перитонита.

4. Изучить состояние клеточно-опосредованного иммунитета и неспецифической резистентности организма при распространенном гнойном перитоните и возможности их коррекции.
5. Изучить состояние биоэнергетических процессов, происходящих в организме при распространенном гнойном перитоните.
6. Определить роль липид-транспортной системы в патогенезе распространенного гнойного перитонита.
7. На основании проведенных исследований разработать и оценить эффективность предложенной новой патогенетически обоснованной тактики комплексного лечения распространенного гнойного перитонита.

### **Научная новизна**

Впервые созданы тест-системы, позволяющие визуально или автоматически с помощью многоканального спектрофотометра АИФ М/340 и компьютера с разработанным программным обеспечением «Microbi» идентифицировать и определять чувствительность к антибактериальным препаратам основных возбудителей распространенного гнойного перитонита.

Предложены рациональные, эффективные схемы антибактериальной терапии в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита.

Впервые применен с целью иммунокоррекции при распространенном гнойном перитоните внутрикожный способ введения препарата рекомбинантного интерлейкина-2 «Ронколейкин», обеспечивший более выраженное иммуностропное действие, по сравнению с подкожным его введением, и сопоставимое с внутривенным, что позволило достичь в комплексе с другими средствами эффективное выздоровление пациентов.

Впервые системно изучены морфофункциональные изменения митохондриального аппарата тонкой кишки, печени и сердца при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

Впервые с целью коррекции морфофункциональных изменений митохондрий в организме, устранения энергетического дефицита, эндогенной интоксикации и полиорганной недостаточности при распространенном

гнойном перитоните применен препарат, содержащий янтарную кислоту, «Цитофлавин», значительно превосходящий по своей активности препарат креатинфосфата «Неотон».

Впервые при экспериментальном распространенном гнойном перитоните изучено состояние липид-транспортной системы и структуры митохондрий печени, а также возможность их коррекции.

Впервые с целью нормализации морфофункциональных изменений в организме, происходящих в результате нарушений в липид-транспортной системе, применен препарат, содержащий омега-3-жирные кислоты, «Омегавен».

Впервые в эксперименте изучено влияние «Омегавена» на морфометрические параметры надпочечников, свидетельствующие о его способности препятствовать развитию в них патологических структурных изменений и гипофункционального состояния. Применение «Омегавена» в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита положительно влияло на клиническое течение послеоперационного периода и исход заболевания.

Впервые показано, что сочетанное применение препарата рекомбинантного интерлейкина-2 «Ронколейкин» с внутривенным способом введения, метаболического средства, содержащего янтарную кислоту, «Цитофлавин» и препарата для парентерального питания на основе омега-3-жирных кислот «Омегавен» обладает выраженным противовоспалительным действием в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита.

На основании полученных данных об этиопатогенезе распространенного гнойного перитонита разработаны новые подходы в комплексном лечении, позволившие снизить летальность с 32,3% до 13,46%, а частоту послеоперационных гноyno-воспалительных осложнений – с 17,14% до 13,46%.

### **Теоретическая и практическая значимость**

Результаты исследования в значительной степени расширяют представления об этиопатогенезе распространенного гнойного перитонита и путях улучшения лечения пациентов с данным заболеванием.

Для идентификации грамотрицательных микроорганизмов и определения их чувствительности к антибактериальным препаратам

разработаны тест-системы «ИД-ЭНТ» и «АБ-ГРАМ(-)», для облигатно-анаэробных микроорганизмов – «ИД-АНА» и «АБ-АН», соответственно. Созданные тест-системы характеризуются большим разнообразием антибиотиков, относительной дешевизной, простотой в изготовлении, эксплуатации, быстротой идентификации и определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, и могут найти широкое использование в бактериологических лабораториях различного профиля с целью рационального применения антибактериальной терапии.

Установлены системные изменения миграционной активности иммунокомпетентных клеток, биоэнергетических процессов, состояния липид-транспортной системы при распространенном гнойном перитоните, предложены и обоснованы методы и способы их устранения.

Сочетанное применение в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита препарата рекомбинантного интерлейкина-2 «Ронколейкин» с внутрикожным способом его введения, метаболического средства, содержащего янтарную кислоту, «Цитофлавин», препарата, содержащего омега-3 жирные кислоты, «Омегавен» способствует эффективному снижению активности воспалительного процесса, более благоприятному течению послеоперационного периода.

Оптимизация комплексного лечения распространенного гнойного перитонита с учетом новых данных этиопатогенеза заболевания позволила снизить летальность с 32,38% до 13,46%, сократить число послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений с 17,41% до 13,46%.

### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту**

1. Разработанные тест-системы для идентификации аэробной и неклостридиальной анаэробной микрофлоры, определения ее чувствительности к антибактериальным препаратам позволяют обеспечить диагностику основных возбудителей распространенного гнойного перитонита и назначить эффективную комбинированную антибактериальную терапию.
2. Внутрикожное введение препарата рекомбинантного интерлейкина-2

«Ронколейкин» оказывает выраженное влияние на миграционные свойства нейтрофильных лейкоцитов, по сравнению с традиционными методами его применения.

3. Пациентам с распространенным гнойным перитонитом необходимо включать в комплексное лечение средства, воздействующие на биоэнергетические процессы организма.
4. При распространенном гнойном перитоните в липид-транспортной системе организма наблюдаются изменения, характерные для генерализованного воспаления, оказывающие существенное влияние на течение заболевания и требующие корригирующей терапии.
5. Сочетанное применение лекарственных средств, обладающих иммуностропным действием (препарат рекомбинантного интерлейкина-2 «Ронколейкин»), влияющих на биоэнергетические процессы (метаболическое средство, содержащее янтарную кислоту, «Цитофлавин») и липид-транспортную систему (препарат, содержащий омега-3-жирные кислоты, «Омегавен»), оказывает выраженное противовоспалительное действие при распространенном гнойном перитоните.

#### **Внедрение результатов исследования в практику**

Основные результаты диссертационной работы внедрены и используются в клинической практике хирургических отделений и отделений реанимации ГУЗ ГKB №23 им. «Медсантруд» (Москва), УЗ «Витебская больница скорой медицинской помощи» (Республика Беларусь), УЗ «Витебская областная клиническая больница» (Республика Беларусь).

Разработаны, прошли клинические испытания и регистрацию в Республике Беларусь тест-системы «ИД-ЭНТ», «АБ-ГРАМ(-)», «ИД-АНА» и «АБ-АН» для идентификации грамотрицательных и облигатно-анаэробных микроорганизмов, определения их чувствительности к антибактериальным препаратам. Материалы диссертации использованы для учебника «Инфекция в хирургии» (Минск, 2012), а также применяются при проведении теоретических и практических занятий на кафедре общей хирургии ГБОУ ВПО Первый МГМУ

им. И.М. Сеченова, кафедрах факультетской, госпитальной хирургии, хирургии повышения квалификации УО «Витебский государственный медицинский университет».

### **Апробация результатов диссертации**

Результаты исследований и основные положения диссертации доложены и обсуждены на: научных сессиях Витебского государственного медицинского университета (г. Витебск 2010, 2011, 2012 гг.); XXVII съезде хирургов Республики Беларусь (2010 г.); Всероссийской конференции хирургов с международным участием, посвященной 65-летию Научного хирургического общества и 20-летию Ассоциации врачей хирургического профиля на Кавказских Минеральных Водах (Пятигорск, 2011); VII Всероссийской конференции общих хирургов с международным участием (г. Красноярск, 2011 г.); Всероссийской конференции с международным участием «Актуальные вопросы хирургической гастроэнтерологии» (г. Геленджик, 2011 г.); IV съезде хирургов Сибири и Дальнего Востока (г. Якутск, 2012 г.); XXVI Пленуме Правления хирургов Республики Беларусь (Бобруйск, 2012); II съезде общероссийской общественной организации «Российское общество хирургов гастроэнтерологов» «Актуальные вопросы хирургической гастроэнтерологии» (Геленджик, 2012).

Апробация диссертации состоялась на научной конференции кафедры общей хирургии лечебного факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова.

### **Личный вклад соискателя**

Личное участие автора состоит в организации исследования в соответствии с его целями и задачами, непосредственное участие в обследовании и лечении пациентов. Автором самостоятельно проведены все клинические, биохимические и инструментальные исследования у пациентов, экспериментальные исследования на лабораторных животных, выполнены статистическая обработка, анализ и интерпретация полученных данных, написание публикаций и всех разделов диссертации.

## **Публикации**

По материалам диссертации опубликовано 34 научные работы, из них 1 учебник, 1 монография, 16 статей в журналах, входящих в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов, рекомендованных ВАК», получено 1 авторское свидетельство и 3 приоритетные справки на изобретения.

## **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, клинической характеристики обследованных пациентов и методов исследования, результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Материалы диссертации изложены на 316 страницах машинописного текста, иллюстрированы 42 таблицами и 84 рисунками. Список литературы включает 190 отечественных и 151 зарубежных источников.

## **СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **Материал и методы исследования**

*Клиническая часть.* Работа основана на результатах обследования и лечения 157 пациентов с распространенным гнойным перитонитом, оперированных в больнице № 23 им. Медсантруд г. Москва и больнице скорой медицинской помощи г. Витебска в 2008-2012 гг.

Для определения распространенности и стадии перитонита использовались шкала и классификация В.К. Гостищева.

В зависимости от проводимых лечебных мероприятий все обследованные пациенты были разделены на две группы: контрольную (105 пациентов) и основную (52 пациента). Формирование контрольной и основной групп проводилось методом слепой рандомизации. Каждому пациенту присваивался рандомизированный номер, который оставался неизменным до конца лечения.

Критерии включения пациентов в исследование: возраст 17-85 лет, верифицированный интраоперационно распространенный гнойный перитонит, занимающий более двух анатомических областей брюшной полости с Мангеймским перитонеальным индексом не менее 10 баллов, наличие мутного

выпота в брюшной полости. В исследование не включались пациенты с распространенным перитонитом панкреатогенной этиологии.

С целью определения интегральной количественной оценки тяжести состояния больных при поступлении использовали шкалу APACHE II. Оценка тяжести течения заболевания у пациентов определялась по Мангеймскому перитонеальному индексу (МПИ). В контрольной группе процент пациентов с I-ой степенью тяжести составил 46,67%, II-ой степенью – 39,05%, III-ей степенью – 14,28%. Средний балл МПИ при I-ой степени тяжести составил  $12,41 \pm 2,10$ , II-ой степени –  $23,73 \pm 2,65$ , при III-ей степени –  $35,2 \pm 2,51$ . В основной группе процент пациентов с I-ой степенью тяжести составил 46,15%, II-ой степенью – 40,38%, III-ей степенью – 13,47%. Средний балл МПИ при I-ой степени тяжести составил  $13,5 \pm 2,78$ , II-ой степени –  $24,94 \pm 2,82$ , III-ей степени –  $32,33 \pm 2,08$ .

У 105 пациентов контрольной группы с распространенным гнойным перитонитом изучены результаты применяемого в настоящее время комплексного лечения. У 52 пациентов с распространенным гнойным перитонитом (основная группа) были включены в комплексное лечение разработанные нами схемы, способы и методы на основании полученных новых данных об этиопатогенезе заболевания.

У 85 пациентов изучена роль аэробной и неклостридиальной анаэробной микрофлоры в возникновении распространенного гнойного перитонита, ее видовой состав, чувствительность к антибактериальным препаратам.

У 26 пациентов основной и контрольной групп в динамике послеоперационного периода исследованы показатели иммунной системы и неспецифической резистентности организма, проведены биохимические исследования и изучено состояние липид-транспортной системы, а также определены белки острой фазы и ряд маркеров воспаления в сыворотке крови. За норму были приняты соответствующие показатели 15 доноров.

У 35 пациентов основной и контрольной групп изучена электрическая активность отделов желудочно-кишечного тракта и состояние системы свободнорадикального окисления. За норму были приняты показатели 20 доноров.

*Экспериментальная часть.* С целью разработки новых методов лечения распространенного гнойного перитонита нами были проведены экспериментальные исследования на кроликах-самцах породы шиншилла, массой 2600-3000 грамм.

Животные (170 кроликов) были разделены на следующие группы: интактные (n=10); с распространенным гнойным перитонитом без хирургического лечения (n=10); контрольная группа – хирургическое лечение перитонита без применения в послеоперационном периоде лекарственных средств (n=30); основная группа, хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде в течение 5-и суток препаратов: «Ронколейкин» (два раза в сутки внутривенно капельно из расчета 10 000 МЕ/кг (n=15), подкожно из расчета 10 000 МЕ/кг (n=15) и внутривожно из расчета 3 000 МЕ/кг (n=15)); «Цитофлавин» внутривенно из расчета 28,5 мг янтарной кислоты на 1 кг массы животного (n=30); «Неотон» внутривенно из расчета 0,05 г на 1 кг массы животного (n=30); «Омегавен» внутривенно из расчета 2 мл на 1 кг массы животного (n=15).

Животные содержались в виварии в соответствии с международными правилами GLP. Карантинный режим животных составлял не менее 14 дней. Для моделирования перитонита использовали микробную смесь, состоящую из равных количеств аэробов (*E.coli*, штамм 0111 K58 НИ С 130-53) и анаэробов (*B.Fragilis*, штамм 323). Микробную смесь вводили в брюшную полость животных стерильным шприцем из расчета 6 млрд. микробных тел на 1 кг массы кролика. Количество микробных тел рассчитывали по стандарту мутности McFarland. Через 6 часов после введения микроорганизмов у всех животных развивались симптомы перитонита: вялость, заторможенность, отказ от пищи, учащенное дыхание, вздутие живота.

В основной и контрольной группах животных через 6 часов после заражения под внутривенным нембуталовым наркозом (30 мг/кг) плюс местная анестезия 50 мл 0,25%-ого раствора новокаина выполняли оперативное вмешательство: срединная лапаротомия, удаление гнойно-геморрагического выпота, промывание брюшной полости 0,02%-ым раствором хлоргексидина

биглюконата; интубация тонкой кишки перфорированной полихлорвиниловой трубкой; декомпрессия и промывание тонкой кишки физиологическим раствором до светлых вод; наложение подвешной цекстомы.

Непосредственно после операции и через каждые 8 часов в течение первых 2-3-х суток проводили промывание тонкой кишки физиологическим раствором в объеме 40-60 мл на одну процедуру. Дренажную трубку удаляли из просвета тонкой кишки на 3-и сутки после операции.

Животных с распространенным гнойным перитонитом выводили из эксперимента (летальная доза нембутала) через 6 часов после заражения (10 животных), основной и контрольной групп – на 1-е, 3-и и 5-е сутки после операции (по 5 животных в исследуемые сроки). За норму были приняты результаты исследований, проведенных у 10 интактных (здоровых) кроликов.

У всех выведенных из эксперимента животных выполнялись иммунологические, биохимические, биофизические, гистологические исследования и электронная микроскопия.

Разработанная нами модель по клиническому течению и лабораторно-морфологическим показателям приближалась к перитониту у человека.

*Микробиологические методы исследования.* Идентификацию энтеробактерий и других грамотрицательных аэробных микроорганизмов, облигатно-анаэробных микроорганизмов проводили с помощью разработанных нами тест-систем «ИД-ЭНТ», «ИД-АНА», определение их чувствительности к антибактериальным препаратам – с помощью разработанных нами тест-систем «АБ-ГРАМ (-)», «АБ-АН». Учет осуществляли как визуально, так и с помощью многоканального спектрофотометра АИФ М/340 и компьютера с программным обеспечением «Microbi» - комплекса антибактериального (КАН), разработанного нами совместно с производственным объединением «Витязь» (Республика Беларусь). Идентификацию аэробных, факультативно-анаэробных и анаэробных микроорганизмов проводили также и с помощью тест-систем на автоматизированном биохимическом анализаторе АТВ Expression фирмы «BioMerieux» (Франция). Для обнаружения различных видов стрептококков использовали 5%-ый кровяной Колумбия-агар, стафилококки выделяли на

высокоселективном желточно-солевом агаре с азидом натрия, для кишечной группы бактерий использовали среду Эндо с генциан-фиолетовым, псевдомонады выделяли на среде ЦПХ с N-цетилпиридиния хлоридом, посев на микробы группы протей производили дополнительно по методу Шукевича. Для оценки чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам использовали также стандартные бумажные диски «Weston Dickinson» (США), содержащие определенное количество антибиотиков и стандартные питательные среды, необходимые для роста данного вида микроорганизма.

*Иммунологические методы исследования.* Определяли реакцию торможения миграции лейкоцитов (Г.П. Адаменко и соавт., 1994). Иммуоферментное определение концентрации IgG, IgM, IgA общего, IgA секреторного, количественное определение человеческого фактора некроза опухоли ( $\alpha$ -ФНО), количественное определение человеческих интерлейкинов-1 $\beta$ , -2, -4, -6, -8, -10 (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, ИЛ-10) в сыворотке крови проводили с использованием наборов «Вектор-Бест», г. Новосибирск, Россия.

*Биохимические методы исследования.* Определение состояния процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности проводили методом индуцированной биохемилюминесценции (Е.И. Кузьмина и соавт., 1983). Определение диеновых конъюгатов в мышечной оболочке тонкой кишки выполняли по методу В.Б. Гаврилова и соавт. (1983). Определение малонового диальдегида в мышечной оболочке тонкой кишки проводили по методу Я.И. Андреевой и соавт. (1988). Определение содержания липопротеинов в сыворотке крови осуществлялось с использованием наборов фирмы «Cognay-Diana» (Польша-Республика Беларусь). Определение содержания фосфолипидов в мембранах митохондрий печени проводили по методу М. Кейтса (1975). Содержание в сыворотке крови С-реактивного белка, высокочувствительного С-реактивного белка и  $\alpha$ 1-антитрипсина определяли с использованием турбидиметрических наборов фирмы «SPINREACT» (Испания). Определение содержания нитратов и нитритов в сыворотке крови проводили с помощью реакции Грисса. Определение среднемолекулярных

пептидов в сыворотке крови проводилось по методу Н.И. Габриэлян (1984). Определение концентрации аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) в мышечной оболочке тонкой кишки проводилось с использованием наборов «Микролюм» фирмы «Люмтек» (Россия).

Выделение митохондрий печени выполняли по методу Johnson-Lardy (1967). Выделение митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки проводили с помощью разработанного нами метода (патент 13689 С2, Национальный центр интеллектуальной собственности Республики Беларусь). Определение функциональной активности митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки проводили с помощью полярографического метода.

*Периферическая электроэнтерография.* Двигательную активность отделов тонкой кишки исследовали методом периферической компьютерной электроэнтерографии с помощью гастроэнтеромонитора «Гастроскан-ГЭМ» (НПО "Исток", Россия). Данные обрабатывали прилагаемым пакетом программ с использованием алгоритмов быстрого преобразования Фурье и оценкой следующих показателей: абсолютная электрическая активность (Pi), коэффициент ритмичности (Kritm).

*Гистологические методы исследования.* Материалом для морфологического исследования служили участки стенки тонкой кишки, печени, сердца и надпочечников экспериментальных животных. Для световой микроскопии материал фиксировали в 10%-ом растворе нейтрального формалина. После стандартной проводки готовили парафиновые срезы, которые окрашивали гематоксилином-эозином и по методу Ван-Гизон (О.В. Волкова, Ю.К. Елецкий, 1982). Оценка морфологических изменений проводилась на световом оптическом уровне при увеличении  $\times 100$ ,  $\times 200$ .

*Электронная микроскопия.* Для трансмиссионной электронной микроскопии участки тонкой кишки, печени и сердца экспериментальных животных фиксировали в 2,5%-ом растворе глутарового альдегида на 0,1 М фосфатном буфере (рН 7,2) и в 2%-ом растворе четырехоксида осмия, после дегидратации и пропитки заливали эпон-аралдитной смесью (В.Я. Карупу, 1984). Ультратонкие срезы изготавливали на ультрамикротоме «ЛКВ»

(Швеция), контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца по Рейнольдсу, исследовали в электронном микроскопе «JEM-100СХ» (Япония).

*Статистическая обработка полученных результатов.* Статистическая обработка данных проведена в соответствии с требованиями, предъявляемыми к исследованиям в области медицины с использованием электронных пакетов анализа «STATISTICA 6.0», «MedCalc 10.2.0.0» и «MS Excel». Использованы методы описательной статистики. На основании нормального распределения показателей в выборках экспериментальных данных для сравнения 2-х групп использовали t-критерий Стьюдента (уровень достоверности отличий средних значений  $p < 0,05$ ). Для оценки клинических данных применены методы непараметрической (расчет медианы (Me), доверительного интервала для медианы с вероятностью 95%, размаха минимальных и максимальных значений (размах min-max), межквартильного интервала (25-75 процентиль), критериев Wilcoxon, Mann-Whitney (уровень достоверности  $p < 0,05$ )) статистики.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

У 105 пациентов контрольной группы с распространенным гнойным перитонитом изучены результаты применяемого в настоящее время комплексного лечения. Лечение в контрольной группе пациентов с распространенным гнойным перитонитом проводилось по традиционной общепринятой схеме стандарта, утвержденного Министерством здравоохранения и социального развития Российской Федерации (Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 25.10.2007 № 669 «Об утверждении стандарта медицинской помощи больным с перитонитом (при оказании специализированной помощи)»): экстренная операция по устранению источника перитонита; промывание брюшной полости антисептиками; декомпрессия желудочно-кишечного тракта через концевую, петлевую илеостому или назогастральный зонд; дренирование брюшной полости; формирование лапаростомы по показаниям; послеоперационная антибактериальная терапия; инфузионно-трансфузионная терапия.

Среди наблюдавшихся нами 105 пациентов было 67 (63,81%) мужчин и 38 (36,19%) женщин. Средний возраст составил  $M_e=49,0$  (min-max 19-85) лет. Распределение пациентов по возрасту показало, что контрольную группу составляют пациенты старше 40 лет. В подавляющем большинстве случаев причинами перитонита были острые хирургические заболевания органов брюшной полости. Летальность у пациентов с распространенным гнойным перитонитом в контрольной группе составила 32,38%. В послеоперационном периоде у 18 пациентов (17,14%) с распространенным гнойным перитонитом контрольной группы развились гнойно-воспалительные осложнения, что в значительной степени ухудшило течение и исход заболевания. Структура послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений распределилась следующим образом: нагноение ран было у 3 пациентов, пневмония развилась у 14, флегмона передней брюшной стенки – у 1 пациента.

У 52 пациентов с распространенным гнойным перитонитом (основная группа) были включены в существующее комплексное лечение разработанные нами новые схемы, способы и методы: 1) антибактериальной терапии; 2) иммунокорректирующей терапии; 3) коррекции биоэнергетических процессов в организме и устранения эндогенной интоксикации; 4) коррекции липид-транспортной системы; 5) противовоспалительной терапии.

В основной группе пациентов с распространенным гнойным перитонитом было 29 (55,77%) мужчин и 23 (44,23%) женщины. Средний возраст составил  $M_e=54,5$  (min-max 18-85) лет. Летальность в основной группе составила 13,46%. В послеоперационном периоде у 7 пациентов (13,46%) основной группы возникли гнойно-воспалительные осложнения: флегмона передней брюшной стенки – у 1 пациента, пневмония – у 6 пациентов.

Важной составляющей хирургического лечения распространенного гнойного перитонита являлось формирование лапаростомы при тяжелых случаях заболевания. В контрольной группе оперативное вмешательство было завершено лапаростомией в 31,43% случаев, в основной группе – в 32,69%.

Показаниями к лапаростомии были: высокий риск развития эвентрации; распространенный перитонит в поздней стадии заболевания (III-IVA-Б степени),

сопровожающийся тяжелой эндогенной интоксикацией или полиорганной недостаточностью; распространенный перитонит, сопровождающийся некрозом органов брюшной полости и забрюшинной клетчатки.

По возрастному составу, полу, нозологическим формам заболевания и сопутствующим заболеваниям, стадиям перитонита, степени эндогенной интоксикации контрольная и основная группы пациентов статистически значимо не отличались ( $p < 0,05$ ).

**Антибактериальная терапия.** Для идентификации грамотрицательных микроорганизмов и определения их чувствительности к антибактериальным препаратам нами разработаны тест-системы «ИД-ЭНТ» и «АБ-ГРАМ(-)», для облигатно-анаэробных микроорганизмов – «ИД-АНА» и «АБ-АН» соответственно.

В качестве планшетов использовали 96-луночные планшеты для иммуноферментного анализа (ИФА), которые содержат 8 рядов по 12 лунок. Всего на одном планшете можно одновременно идентифицировать четыре штамма микроорганизмов, определить чувствительность грамотрицательных микроорганизмов к 23 антибиотикам, облигатно-анаэробных – к 12 антибиотикам.

Тест-система «ИД-ЭНТ» для идентификации грамотрицательных микроорганизмов однократного использования служит для определения видовой принадлежности грамотрицательных микроорганизмов в полужидкой среде после 18-24 часов инкубации. Учет идентификации возможен визуально или инструментально. В состав тест-системы включили 24 теста определения ферментативной активности микроорганизмов. При взаимодействии микробной культуры с субстратом происходит изменение цвета среды.

Для идентификации облигатно-анаэробных микроорганизмов использовалась разработанная нами тест-система «ИД-АНА». Стандартные количества бактериальной взвеси вносятся в лунки планшета, содержащего дегидрированные субстраты с индикатором или хромогенные субстраты. После 4-6 часов инкубации производили визуальный или инструментальный учет. Штаммы, имеющие ферментативную способность, расщепляют соответствующие субстраты с изменением цвета содержимого лунок планшета.

Разработанная нами тест-система «АБ-ГРАМ(-)» позволяет определить

чувствительность сразу четырех микроорганизмов к 23 антибактериальным препаратам, после инкубации (18-24 часов) в термостате при 35-37°C. После инкубации производили визуальный или инструментальный учет. При визуальном учете, при наличии роста в лунке, штамм считали резистентным, а при отсутствии роста – чувствительным к определенному антибиотику.

Тест-система «АБ-АН» для определения чувствительности облигатно-анаэробных бактерий к антибиотикам однократного использования служит для определения чувствительности облигатно-анаэробных микроорганизмов к антибиотикам в полужидкой среде после 18-48 часов инкубации.

В культуральную среду добавлялась бактериальная взвесь, которая затем вносилась в лунки планшета, содержащего лиофилированные антибиотики. После инкубации производился визуальный или инструментальный учет. Резистентные штаммы растут в лунке, делая среду непрозрачной, а если штамм чувствителен к антибиотику, среда остается прозрачной.

Инструментальный учет производился с помощью многоканального спектрофотометра АИФ М/340 и компьютера с программным обеспечением «Microbi», разработанных нами совместно с производственным объединением «Витязь»: комплекс антибактериальный (КАН) (Рис. 1).



*Рисунок 1 – Комплекс антибактериальный (КАН)*

Разработанные нами тест-системы обладают следующими преимуществами:

одно исследование обходится примерно в 1 доллар США, временные затраты на исследование чувствительности к антибиотикам занимают до 17 минут для 4 штаммов микроорганизмов вместо 3-4 часов, учет результатов – до 5 минут.

Тест-системы прошли санитарно-гигиенические и клинические испытания, которые показали, что они соответствуют заявленным требованиям: по параметру оценки качества и воспроизводимости в серии определений чувствительности контрольного образца к антибактериальным препаратам с расчетом различий по точному критерию Фишера и по параметру диагностической специфичности, по сравнению с методом бумажных дисков и с тест-системами фирмы «BioMerieux» (Франция). Получены регистрационные документы, утвержденные Белорусским государственным научно-исследовательским институтом стандартизации и сертификации и Министерством здравоохранения Республики Беларусь («ИД-ЭНТ», ТУ РБ 300002704.020-2011 г.; «АБ-ГРАМ(-)», ТУ РБ 300002704.011-2009 г.; «ИД-АНА», ТУ РБ 300002704.016-2011 г.; «АБ-АН», ТУ РБ 300002704.019-2011 г.). Предложенный стандартизованный подход к комплектации тест-систем позволяет увеличить их срок годности до года и создает возможности по организации промышленного производства.

Таким образом, созданные нами тест-системы позволяют быстро идентифицировать основных возбудителей хирургической инфекции и определить их чувствительность ко многим антибактериальным препаратам.

При микробиологическом исследовании перитонеального экссудата пациентов с распространенным гнойным перитонитом установлено, что в 76,25% случаев воспаление брюшины было вызвано смешанной аэробно-анаэробной микрофлорой, в 15% - только анаэробами, в 8,75% - только аэробами.

Среди выделенных штаммов анаэробов представителей рода *Bacteroides* было 63,4%, *Bifidobacterium* – 4,32%, *Peptostreptococcus* – 5,38%, *Peptococcus* – 4,3%, *Eubacterium* – 7,53%, *Clostridium* – 3,23%, *Fusobacterium* – 6,45%, недифференцированные грамм (-) палочки – 3,22%, недифференцированные грамм (+) и грамм (-) кокки – 3,22%. Среди выделенных штаммов аэробов доминировали энтеробактерии: *E.coli* – 54,93%. В коллекции также

определялись: Streptococcus – 9,85%, Pseudomonas aeruginosa – 4,23%, Klebsiella spp. – 9,86%, Proteus spp. – 5,63%, Staphilococcus – 4,23%, Enterococcus – 11,27%.

При изучении чувствительности основных возбудителей распространенного гнойного перитонита к антибиотикам было установлено, что большинство штаммов обладало множественной лекарственной устойчивостью (Рис. 2, 3).

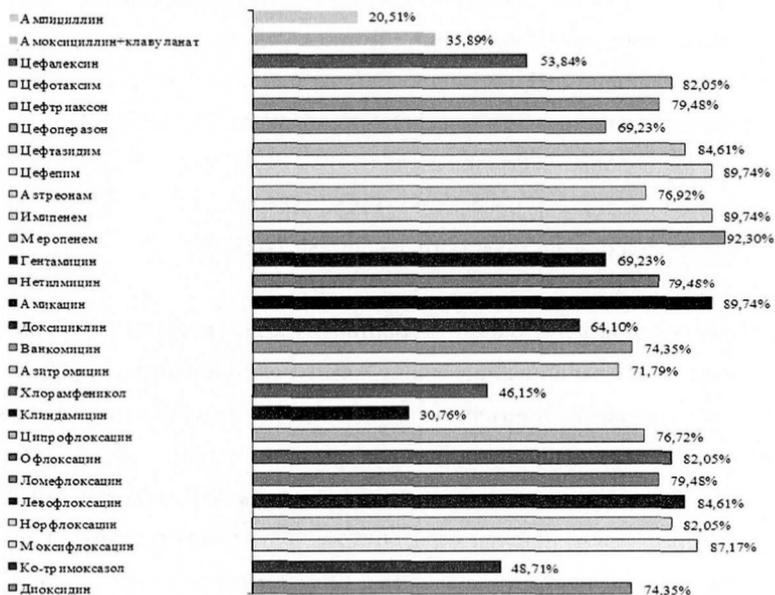


Рисунок 2 – Чувствительность E. Coli к антибактериальным препаратам

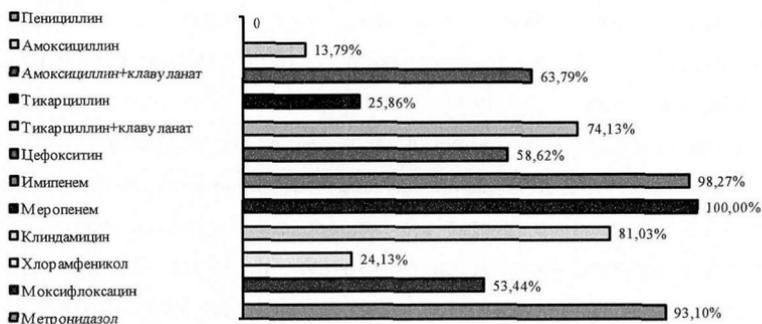


Рисунок 3 – Чувствительность Bacteroides spp. к антибактериальным препаратам

На основании данных об этиологической структуре и чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам нами предложены следующие эффективные схемы рациональной эмпирической антибактериальной терапии распространенного гнойного перитонита:

- ✓ препараты выбора 1-го ряда (чувствительность 53,84-93,1%)
  - цефалоспорины III поколения + метронидазол;
  - цефалоспорины III поколения + аминогликозиды + метронидазол;
- ✓ препараты выбора 2-го ряда (чувствительность 76,72-93,1%)
  - фторхинолоны + метронидазол;
  - цефалоспорины IV поколения + метронидазол;
- ✓ препараты резерва (чувствительность 89,74-100%)
  - карбапенемы.

**Иммунокорригирующая терапия.** Нами изучено функциональное состояние митоген-индуцированных иммунокомпетентных клеток крови, иммуноглобулиновый и интерлейкиновый профили сыворотки крови пациентов с распространенным гнойным перитонитом.

С 1-х суток послеоперационного периода у пациентов контрольной группы с распространенным гнойным перитонитом, получавших традиционное лечение, наблюдалось наличие способности иммунокомпетентных клеток (ИКК) регулировать миграционные свойства нейтрофильных гранулоцитов. Моноциты, активированные фитогемагглютинином (ФГА), утрачивали способность подавлять миграционные свойства нейтрофилов, в то время как липополисахарид (ЛПС) активированные моноциты еще в большей степени усиливали их миграцию. Лимфоциты после активации митогенами по-разному изменяли миграционные свойства нейтрофильных лейкоцитов. В отличие от ФГА, их стимуляция ЛПС *E.coli* оказывала меньшее влияние на миграцию тест-клеток. В контрольной группе это сопровождалось достоверным увеличением индекса миграции нейтрофильных гранулоцитов (ИМН), по сравнению с нормальными значениями, с  $Me=0,78$  до  $Me=0,98$  ( $p<0,0001$ ) (ФГА-стимулированные мононуклеарные клетки), с  $Me=1,35$  до  $Me=1,59$  ( $p<0,0001$ ) (ЛПС-индуцированные моноциты) и с  $Me=0,99$  до  $Me=1,08$

( $p=0,0001$ ) (ФГА-индуцированные лимфоциты), что, по-видимому, приводит к значительному накоплению нейтрофильных лейкоцитов в брюшной полости и участию этих клеток в развитии экссудативно-деструктивного воспаления в ней.

На 7-10-е сутки послеоперационного периода в контрольной группе ИМН под действием ФГА-активированных мононуклеаров и лимфоцитов, а также ЛПС-активированных моноцитов, по-прежнему, превышал показатели нормы и составил  $Me=0,89$  ( $p<0,0001$ ),  $Me=1,03$  ( $p=0,002$ ) и  $Me=1,46$  ( $p=0,0005$ ) соответственно.

У пациентов с распространенным гнойным перитонитом в послеоперационном периоде наблюдаются выраженные изменения со стороны иммунной системы, которые характеризуются явлением дисиммуноглобулинемии - снижением уровня IgM, IgG и общего IgA на фоне роста содержания секреторного IgA в сыворотке крови. Возможно, при распространенном гнойном перитоните под влиянием протеолитической системы усиливаются метаболические процессы катаболизма IgM и IgG, в то время как IgA, и особенно его секреторный компонент, защищены от такого воздействия углеводным компонентом.

При изучении сывороточного профиля цитокинов пациентов с распространенным гнойным перитонитом установлено с 1-х суток послеоперационного периода на фоне снижения уровня регуляторных медиаторов (ИЛ-2, ИЛ-4) одностороннее повышение содержания как провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8), так и противовоспалительных интерлейкинов (ИЛ-10).

На фоне традиционного лечения на 7-10-е сутки послеоперационного периода сохранялись патологические изменения со стороны иммунной системы, что свидетельствовало о продолжающемся воспалительном процессе.

Важным звеном в патогенезе иммунной дисфункции является дефицит эндогенного ИЛ-2. Нами изучено иммунокорректирующее действие рекомбинантного интерлейкина-2 «Ронколейкина» на функциональные

свойства иммунокомпетентных клеток иммунных органов при различных способах введения препарата в условиях экспериментального распространенного гнойного перитонита.

В настоящее время применяются внутривенный и подкожный способы введения «Ронколейкина» при перитоните, а также использование с данной целью метода экстракорпоральной иммунофармакотерапии. Внутривенное введение, а также сравнительная оценка эффективности различных способов введения «Ронколейкина» при перитоните, в доступной литературе отсутствуют.

Эксперимент выполнен на 70 кроликах-самцах породы шиншилла массой 2600-3000 г. Животные были разделены на следующие группы: норма (n=5); I – 6-часовой распространенный гнойный перитонит (n=5); III – контрольная (хирургическое лечение распространенного гнойного перитонита), (n=15); IV – хирургическое лечение распространенного гнойного перитонита с внутривенным введением в послеоперационном периоде в течение 5-и суток препарата «Ронколейкин» из расчета 10000 МЕ/кг (n=15); V – хирургическое лечение распространенного гнойного перитонита с подкожным введением в послеоперационном периоде в течение 5-и суток препарата «Ронколейкин» из расчета 10000 МЕ/кг (n=15); VI – хирургическое лечение распространенного гнойного перитонита с внутривенным введением в послеоперационном периоде в течение 5-и суток препарата «Ронколейкин» из расчета 3000 МЕ/кг (n=15). Для иммунологических исследований выполнялся забор венозной крови, селезенки, Пейеровых бляшек и подкожных лимфатических узлов.

При экспериментальном распространенном гнойном перитоните происходили изменения цитокинпродуцирующей активности иммунокомпетентных клеток различных иммунных органов при их активации митогенами ЛПС и ФГА. Эти изменения характеризовались снижением продукции фактора ингибирования миграции нейтрофильных лейкоцитов ФГА-активированными мононуклеарными клетками, ростом стимуляции миграции нейтрофильных лейкоцитов моноцитами, активированными ЛПС *E.coli*. Полученные данные позволяют полагать, что

при экспериментальном распространенном гнойном перитоните наблюдаются изменения цитокинпродуцирующей активности иммунокомпетентных клеток (ИКК), приводящие к значительному накоплению нейтрофильных лейкоцитов в брюшной полости.

Оценка влияния «Ронколейкина» на функциональное состояние митоген-индуцированных иммунокомпетентных клеток венозной крови, Пейеровых бляшек, селезенки и периферических лимфатических узлов в условиях экспериментального распространенного гнойного перитонита при внутривенном, подкожном и внутрикожном способах введения показала, что препарат оказывал выраженное иммуностропное действие при внутрикожном введении. Эффект характеризовался повышением функциональной активности ИКК мононуклеаров при их стимуляции ФГА. В крови наблюдалось достоверное, по сравнению с внутривенным и подкожным способами введения ( $p=0,0003$ ,  $p<0,0001$  соответственно), восстановление регуляции миграционных свойств нейтрофильных лейкоцитов под влиянием ФГА-активированных мононуклеарных клеток до значений, полученных у здоровых животных. Данный эффект был наиболее характерен для ИКК крови, Пейеровых бляшек и периферических лимфоузлов, но не селезенки. Кроме этого, следует отметить, что такой иммуностропный эффект отмечался уже на 3-и сутки внутрикожного введения «Ронколейкина» и достигал максимальных значений на 5-е сутки его применения. Индекс миграции нейтрофильных лейкоцитов при этом снижался с  $0,97\pm 0,01$  до  $0,70\pm 0,03$  в крови и с  $0,99\pm 0,02$  до  $0,73\pm 0,01$  в Пейеровых бляшках.

Таким образом, результаты исследования указывают на наличие у «Ронколейкина» существенного иммуностропного потенциала, реализация которого зависит от способа его введения. Отличительной особенностью предложенной иммунотерапии перитонита является методика внутрикожного введения «Ронколейкина», позволяющая корригировать влияние иммунокомпетентных клеток различных органов на миграционные свойства нейтрофильных лейкоцитов. Теоретическим обоснованием целесообразности данной методики является присутствие в коже как значительного количества

регуляторных иммунокомпетентных клеток, осуществляющих трансдукцию модуляционных сигналов, так и множества лимфатических микрососудов.

Иммунотропная терапия путем внутрикожного введения рекомбинантного интерлейкина-2 «Ронколейкин» в дозировке 0,15 мг 1 раз в сутки применена у 52 пациентов основной группы с распространенным гнойным перитонитом.

Установлено, что внутрикожный способ введения препарата «Ронколейкин» способствует оптимизации регуляторного потенциала иммунокомпетентных клеток крови по отношению к миграционным свойствам нейтрофильных гранулоцитов. Применение препарата «Ронколейкин» внутрикожно в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита позволяет эффективно корректировать миграционные свойства нейтрофильных лейкоцитов под действием митоген-активированных клеток крови (мононуклеары, моноциты и лимфоциты), по сравнению с контрольной группой, обеспечивая восстановление их регуляторных свойств на 7-10-е сутки послеоперационного периода.

Полученные данные указывают на позитивное воздействие предложенной схемы иммунотропной терапии на иммуноглобулиновый и интерлейкиновый профили крови в комплексном лечении пациентов с распространенным гнойным перитонитом, что можно расценивать как результативный иммунотропный эффект, сопровождавшийся положительным клиническим течением и исходом заболевания.

Выявленные иммунотропные свойства «Ронколейкина» при внутрикожном введении позволяют в клинической практике лечения перитонита максимально локализовать воспалительную реакцию в брюшной полости, посредством регуляции миграционных свойств нейтрофильных гранулоцитов на ранних этапах воспаления до развития развернутой картины абдоминального сепсиса.

**Коррекция биоэнергетических процессов и устранение эндогенной интоксикации.** Ведущую роль в прогрессировании распространенного гнойного перитонита и возникновении его осложнений играет синдром энтеральной недостаточности, основным патогенетическим звеном которого является парез кишечника.

Исследование двигательной функции желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) у пациентов контрольной группы с распространенным гнойным перитонитом показало значительное снижение электрической активности всех его отделов на 1-е сутки послеоперационного периода, по сравнению с нормой.

На 3-и и 5-е сутки после операции в данной группе прослеживалась тенденция к восстановлению электрической активности ЖКТ. Однако, и на 5-е сутки послеоперационного периода в контрольной группе эти показатели были далеки от нормы. Абсолютная электрическая активность (Pi) желудка была равна 1,31 (Me,  $p < 0,0001$ ), двенадцатиперстной кишки - 0,14 (Me,  $p < 0,0001$ ), тощей и подвздошной кишок - 0,42 (Me,  $p < 0,0001$ ) и 0,51 (Me,  $p < 0,0001$ ) соответственно, толстой кишки - 1,74 (Me,  $p = 0,008$ ). Коэффициент ритмичности (Kritm) аналогичных отделов желудочно-кишечного тракта составил 2,98 (Me,  $p < 0,0001$ ), 0,67 (Me,  $p < 0,0001$ ), 1,31 (Me,  $p = 0,0001$ ), 1,52 (Me,  $p < 0,0001$ ) и 4,93 (Me,  $p = 0,008$ ) соответственно.

Развитие распространенного гнойного перитонита приводило к выраженной эндогенной интоксикации, энергетическому «голоду», нарушению процессов свободнорадикального окисления, что отражалось в системном накоплении токсичных продуктов перекисного окисления липидов, снижении активности антиоксидантов.

Нами проведена сравнительная оценка влияния метаболитических средств «Цитофлавин» и «Неотон» на функциональную активность митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки, состояние антиоксидантной и дезинтоксикационной активности организма, структурные изменения внутренних органов при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

«Цитофлавин» - раствор для инфузий, содержащий янтарную кислоту, никотинамид, рибоксин и рибофлавин. Янтарная кислота - один из промежуточных метаболитов, образующихся при биохимических превращениях углеводов, белков и жиров. Ее превращение в цикле Кребса в митохондриях связано с продукцией АТФ. Возрастание функциональных нагрузок в организме энергетически обеспечивается преимущественно за счет окисления янтарной кислоты, которая обладает регуляторными свойствами. Другие компоненты

препарата также относятся к метаболически активным соединениям. Инозин является предшественником АТФ, активирует ряд ферментов цикла Кребса и стимулирует синтез нуклеотидов. Рибофлавин входит в состав флавиновых коферментов, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях дыхательной цепи митохондрий. Никотинамид играет важную роль в регуляции работы цикла Кребса, влияя на соотношение НАДН/НАД<sup>+</sup>. Активным веществом препарата «Неотон» является фосфокреатин – буферное соединение, поставляющее фосфатную группу АДФ с целью повторного синтеза универсального источника энергии АТФ.

Эксперимент выполнен на 55 кроликах-самцах породы шиншилла массой 2600-3000 г. Животные были разделены на следующие группы: I – интактные (n=5); II – 6-часовой распространенный гнойный перитонит без хирургического лечения (n=5); III – контрольная, хирургическое лечение перитонита (n=15); IV – хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде в течение 5-и суток препарата «Цитофлавин» ежедневно внутривенно капельно (28,6 мг янтарной кислоты на 1 кг массы) (n=15); V - хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде в течение 5-и суток препарата «Неотон» ежедневно внутривенно капельно (0,05 г на 1 кг массы) (n=15).

Животным III-ей группы вводился внутривенно капельно эквивалентный объем 0,9%-ного раствора натрия хлорида. Животных с распространенным гнойным перитонитом выводили из эксперимента (летальная доза нембутала) через 6 часов после заражения, III-й, IV-й и V-й групп – на 1-е, 3-и и 5-е сутки после операции.

Через 6 часов после интраабдоминального введения животным аэробно-анаэробной взвеси *E.coli* и *B.fragilis* наблюдалось выраженное нарушение процессов дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки.

В контрольной группе животных, несмотря на санацию брюшной полости и декомпрессию тонкой кишки, на 1-е сутки после операции отмечалось снижение функциональной активности митохондрий с последующей тенденцией к ее

восстановлению на 3-и и 5-е сутки послеоперационного периода.

Однако, в контрольной группе животных и на 5-е сутки послеоперационного периода митохондрии мышечной оболочки тонкой кишки не достигли показателей дыхательной и фосфорилирующей способности митохондрий интактных животных. Начальная скорость субстратного окисления  $V_2$  и скорость окисления после фосфорилирования  $V_4$  недостоверно ( $p>0,05$ ) увеличились и составили  $13,19\pm 0,57$  и  $15,41\pm 1,27$  нг-атом  $O_2$ /мин/мг белка соответственно, в то время как скорость фосфорилирующего окисления  $V_3$  была достоверно ( $p=0,003$ ) снижена до  $47,71\pm 3,21$  нг-атом  $O_2$ /мин/мг белка. Это свидетельствует о сохраняющемся явлении разобщения процесса окислительного фосфорилирования. Скорость разобщенного окисления  $V_{днф}$  и коэффициент его стимуляции 2,4-динитрофенолом (ДНФ) были достоверно снижены и составили  $57,71\pm 2,83$  нг-атом  $O_2$ /мин/мг белка ( $p=0,002$ ) и  $3,77\pm 0,43$  ( $p=0,043$ ) соответственно, что указывает на ограничение резервных возможностей дыхательной цепи. Коэффициенты дыхательного контроля (ДК) по Чансу и по Ларди были ниже аналогичных показателей здоровых животных и составили  $3,10\pm 0,17$  ( $p=0,0007$ ) и  $3,61\pm 0,15$  соответственно ( $p=0,0003$ ). Скорость фосфорилирования аденозиндифосфорной кислоты  $АДФ/\Delta t$  и коэффициент  $АДФ/O$  были достоверно снижены до  $39,68\pm 2,95$  нмоль  $АДФ$ /мин/мг белка ( $p=0,005$ ) и  $1,58\pm 0,08$  ( $p=0,014$ ) соответственно.

В группе животных, получавших препарат «Цитофлавин», с первых суток послеоперационного периода отмечалось более интенсивное восстановление всех показателей функциональной активности митохондрий, по сравнению с контрольной группой.

На 5-е сутки послеоперационного периода показатели группы животных, получавших «Цитофлавин», превосходили аналогичные показатели здоровых животных. Начальная скорость окисления  $V_2$  достоверно ( $p=0,03$ ) увеличилась до  $13,98\pm 1,01$  нг-атом  $O_2$ /мин/мг белка, скорость фосфорилирующего окисления  $V_3$  –  $62,32\pm 2,74$  нг-атом  $O_2$ /мин/мг белка ( $p=0,0004$ ). Скорость окисления после фосфорилирования  $V_4$  и скорость разобщенного окисления  $V_{днф}$  возросли до  $16,14\pm 0,87$  ( $p=0,02$ ) и  $77,09\pm 3,02$  нг-атом  $O_2$ /мин/мг белка ( $p<0,0001$ )

соответственно. Коэффициент ДК по Ларди составил  $4,46 \pm 0,19$ , а коэффициент ДК по Чансу –  $3,86 \pm 0,12$  ( $p=0,046$ ). Скорость фосфорилирования АДФ/ $\Delta t$  достоверно ( $p=0,005$ ) увеличилась до  $51,32 \pm 2,52$  нмоль АДФ/мин/мг белка, а коэффициенты АДФ/О и ДНФ – до  $1,8 \pm 0,02$  ( $p=0,0005$ ) и  $4,78 \pm 0,24$  ( $p=0,003$ ) соответственно, по сравнению с показателями здоровых животных.

Применение препарата «Неотон» продемонстрировало его способность позитивно влиять на функциональную активность митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки при распространенном гнойном перитоните. Однако, его эффективность, по сравнению с препаратом «Цитофлавин», была существенно ниже.

На фоне применения препарата, содержащего янтарную кислоту, «Цитофлавин» во все сроки послеоперационного периода концентрация АТФ в мышечной оболочке тонкой кишки была достоверно выше, чем у животных, которые получали препарат креатинфосфата. На 5-е сутки после операции содержание АТФ превышало уровень интактных животных и составило  $3,35 \times 10^{-9} \pm 1,31 \times 10^{-10}$  моль/г ткани.

Более низкая эффективность препарата «Неотон» объясняется буферными свойствами креатинфосфата, которые в отсутствие достаточного объема ресинтеза АТФ, вследствие структурных изменений в митохондриях, не способны оказывать существенное влияние на процесс окислительного фосфорилирования.

Таким образом, развитие распространенного гнойного перитонита сопровождается значительным снижением функциональной активности митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки. Выраженное нарушение сопряжения процессов дыхания и окислительного фосфорилирования следует расценивать как глубокие повреждения элементов дыхательной цепи и мембранной структуры митохондрий. Следствием разобщения процесса окислительного фосфорилирования было резкое снижение образования макроэргических фосфорных соединений, что ведет к энергетическому «голоду». Это является одним из ключевых звеньев в патологическом круге нарушения моторной функции кишечника и прогрессирования энтеральной недостаточности.

Проведенные нами исследования показали, что «Цитофлавин» является высокоэффективным средством устранения нарушения функциональной активности митохондрий мышечной оболочки тонкой кишки и энтеральной недостаточности при распространенном гнойном перитоните. Действие препарата направлено на поддержание второго комплекса (сукцинат:хинон оксидоредуктаза) дыхательной цепи, функция которого, по сравнению с первым комплексом (НАД-зависимыми оксидазами), в условиях гипоксии и окислительного стресса, страдает в меньшей степени. Однако, учитывая многокомпонентный состав данного метаболического средства, можно также предполагать наличие и других путей и механизмов оптимизации и коррекции процессов биологического окисления в цикле Кребса и дыхательной цепи митохондрий.

Проведен также сравнительный анализ влияния метаболических средств «Цитофлавин» и «Неотон» на состояние процессов свободнорадикального окисления в митохондриях мышечной оболочки тонкой кишки, печени и в сыворотке крови при экспериментальном распространенном гнойном перитоните.

Состояние системы свободнорадикального окисления в митохондриях мышечной оболочки тонкой кишки животных с 6-ти часовым распространенным гнойным перитонитом было значительно нарушено. Наблюдалась интенсификация перекисного окисления липидов (ПОЛ), снижение антиоксидантной активности (АОА) и скорости элиминации свободных радикалов.

Показатели максимальной интенсивности свечения, пропорциональной уровню перекисного окисления липидов ( $I_{max}$ ) и светосуммы свечения, обратнопропорциональной антиоксидантной активности (S), увеличились, по сравнению с нормой, с  $0,52 \pm 0,04$  мВ и  $4,52 \pm 0,27$  мВ\*сек до  $0,66 \pm 0,06$  мВ ( $p=0,009$ ) и  $6,80 \pm 0,69$  мВ\*сек ( $p=0,0001$ ) соответственно,  $\text{tg} \alpha_2$  (тангенс угла убывания сигнала после достижения максимальной интенсивности, характеризующий скорость снижения свободнорадикальных процессов) снизился с  $-0,131 \pm 0,02$  до  $-0,162 \pm 0,01$  ( $p=0,01$ ). Уровень малонового диальдегида (МДА) и диеновых конъюгатов (ДК) составил  $34,32 \pm 2,84$  и  $4,05 \pm 0,10$  нМ/г ткани

соответственно и статистически достоверно ( $p < 0,0001$ ) превышал показатели нормы ( $8,81 \pm 0,40$  и  $1,54 \pm 0,16$  нМ/г ткани соответственно).

Во все сроки послеоперационного периода у животных основной группы на фоне применения препарата «Цитофлавин» интенсивнее и достоверно снижался уровень свободнорадикального окисления, чем в контрольной группе и у животных, которые получали препарат «Неотон». На 3-и сутки показатели  $I_{max}$ ,  $S$  и  $tg\alpha 2$  не отличались от нормы –  $0,54 \pm 0,06$  мВ,  $4,44 \pm 0,35$  мВ\*сек и  $-0,132 \pm 0,01$  соответственно. В то же время содержание МДА и ДК было достоверно выше –  $15,53 \pm 0,88$  нМ/г ткани ( $p < 0,0001$ ) и  $2,56 \pm 0,22$  нМ/г ( $p < 0,0001$ ) ткани соответственно. На 5-е сутки послеоперационного периода уровень МДА и ДК достоверно от нормы не отличался и был равен  $8,69 \pm 0,22$  нМ/г ткани и  $1,65 \pm 0,29$  нМ/г ткани соответственно.

При экспериментальном распространенном гнойном перитоните наблюдалось раннее (через 6 часов после инициации) развитие дисбаланса процессов свободнорадикального окисления в печени. При сравнительном анализе препаратов «Неотон» и «Цитофлавин» установлено, что на 5-е сутки послеоперационного периода «Цитофлавин» способствовал более эффективному снижению уровня показателей перекисного окисления липидов ( $I_{max}$ ) и антиоксидантной активности ( $S$ ) на 8,77% ( $p < 0,01$ ) и 5,89% ( $p < 0,001$ ) соответственно, а также увеличению скорости элиминации свободных радикалов ( $tg\alpha 2$ ) на 6,8% ( $p < 0,05$ ), что отражалось в статистически значимом ( $p < 0,05$ ) снижении содержания токсичных продуктов ПОЛ диеновых конъюгатов в гомогенате печени.

Развитие распространенного гнойного перитонита характеризовалось выраженной манифестацией системного нарушения процессов свободнорадикального окисления, о чем свидетельствовала интенсификация в ткани печени перекисного окисления липидов, накопление его токсических продуктов и угнетение антиоксидантной активности. Данные изменения в полной мере проявлялись уже через 6 часов после инициации распространенного гнойного перитонита, что указывало на раннее снижение возможностей компенсаторных механизмов и развитие недостаточности важнейшего

барьерного и детоксикационного органа - печени.

Подтверждением являлась аналогичная динамика изменений процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности в сыворотке крови.

Эти обстоятельства указывали на необходимость своевременного начала проведения метаболической поддержки антиоксидантной системы

Проведенные исследования показали, что «Цитофлавин», содержащий янтарную кислоту, обладает более выраженными антиоксидантными свойствами, чем препарат фосфокреатина «Неотон», обеспечивает эффективное и быстрое восстановление баланса процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, увеличивает скорость элиминации свободных радикалов, способствует дезинтоксикации организма.

Нами изучены структурные изменения в стенке тонкой кишки, печени и сердца у 30 животных, получавших «Цитофлавин» и «Неотон», на 1-е, 3-и и 5-е сутки после операции, в сравнении с интактными животными (n=5), 6-ти часовым распространенным гнойным перитонитом без хирургического лечения (n=5) и с хирургическим лечением (n=15).

Материалом для морфологического исследования служили участки тонкой кишки, печени и сердца.

Проведенные исследования показали, что для распространенного гнойного перитонита характерно раннее развитие энтеральной недостаточности. Об этом свидетельствуют структурные изменения в стенке тонкой кишки уже через 6 часов после введения в брюшную полость аэробно-анаэробной культуры *E. coli* и *V. fragilis*. Расстройство крово- и лимфообращения, деструктивные повреждения ворсин слизистой оболочки являются предпосылкой к транслокации микрофлоры кишечника в системный кровоток, а дистрофические и некротические изменения в мышечной оболочке – к нарушению перистальтики тонкой кишки. Значительное влияние на развитие пареза кишечника может оказывать снижение энергообеспечения в результате структурной дезорганизации и повреждения митохондриального аппарата миоцитов. Нарастание негативных изменений через сутки после оперативного

вмешательства указывает на то, что санации брюшной полости и декомпрессии тонкой кишки недостаточно для устранения энтеральной недостаточности.

Наиболее тяжелым осложнением и неблагоприятным прогностическим признаком при распространенном гнойном перитоните является развитие синдрома полиорганной недостаточности (ПОН). Одна из ключевых ролей в данном процессе принадлежит дисфункции печени, что приводит к значительному росту летальности. Печень является важнейшим катаболическим центром и детоксикационным барьером, запас прочности которого во многом определяет эффективность борьбы с инфекцией.

Развитие экспериментального распространенного гнойного перитонита сопровождается выраженными структурными изменениями в печени. Уже через 6 часов после инициации перитонита отмечаются существенные гемодинамические изменения, интерстициальный отек, диффузная нейтрофильная воспалительная инфильтрация паренхимы указывает на стремительное формирование несостоятельности барьерно-детоксикационной функции печени с генерализацией воспалительного процесса. Деструктивные изменения митохондриального аппарата свидетельствуют о дефиците обеспечения клеток энергией макроэргических соединений и возможном запуске процесса апоптоза. Нарастание деструктивных изменений через сутки после оперативного вмешательства определяет важность раннего начала проведения мероприятий, направленных на коррекцию патологических изменений в ткани печени и предотвращение негативной тенденции развития печеночной дисфункции.

Течение экспериментального распространенного гнойного перитонита сопровождается выраженными структурными изменениями в сердце. Наличие в миокарде уже через 6 часов после инициации перитонита расстройств кровообращения, интерстициального отека, дистрофических и некробиотических изменений кардиомиоцитов указывают на высокую скорость развития системных токсических повреждений при данном заболевании. Патологические изменения в миокарде и деструкция митохондрий свидетельствуют о формировании дефицита энергетического обеспечения кардиомиоцитов. Сохранение отрицательной

динамики через сутки после оперативного вмешательства является сигналом недостаточной результативности борьбы организма с интоксикацией и необходимости раннего начала проведения мероприятий фармакологической поддержки и коррекции процессов метаболизма в миокарде.

Проведенный сравнительный анализ применения при экспериментальном распространенном гнойном перитоните метаболитических средств «Цитофлавин», содержащего янтарную кислоту, и «Неотон», содержащего фосфокреатин, выявил высокую эффективность препарата «Цитофлавин», которая заключалась в более интенсивном восстановлении структуры стенки тонкой кишки, печени, сердца, снижении выраженности воспаления, торможении развития дистрофических и некротических изменений, сохранении энергетического потенциала клеток за счет препятствия деструкции митохондрий

С целью восстановления моторной функции кишечника, устранения энтеральной, печеночной и сердечной недостаточности при распространенном гнойном перитоните препарат, содержащий янтарную кислоту, «Цитофлавин», как показывают литературные данные, в клинической практике не применялся. Нами изучено влияние метаболитического средства «Цитофлавин» на электрическую активность тонкой кишки и состояние системы свободнорадикального окисления в комплексном лечении 52 пациентов с распространенным гнойным перитонитом основной группы.

В основной группе в динамике послеоперационного периода с первых суток отмечалось достоверно более интенсивное восстановление электрической активности всех отделов желудочно-кишечного тракта, по сравнению с контрольной группой. На 1-е сутки послеоперационного периода  $P_i$  желудка был равен 0,74 (Ме), двенадцатиперстной кишки - 0,09 (Ме), тощей и подвздошной кишок - 0,30 (Ме,  $p=0,04$ ) и 0,52 (Ме,  $p<0,0001$ ) соответственно, толстой кишки - 1,19 (Ме,  $p=0,008$ ).  $K_{litm}$  аналогичных отделов желудочно-кишечного тракта составил 2,98 (Ме,  $p<0,0001$ ), 0,63 (Ме), 1,49 (Ме,  $p=0,001$ ), 1,45 (Ме,  $p=0,009$ ) и 3,27 (Ме,  $p=0,008$ ) соответственно. На 5-е сутки послеоперационного периода показатели электрической активности ЖКТ в основной группе приближались или не отличались от нормы. Значения  $P_i$  достигли следующих уровней: желудок

– 3,27 (Me, p=0,0001), двенадцатиперстная кишка – 0,15 (Me, p=0,03), тощая и подвздошная кишки – 0,87 (Me) и 1,23 (Me) соответственно, толстая кишка – 2,81 (Me). Значения K<sub>ritm</sub> были равны: желудок – 5,16 (Me), двенадцатиперстная кишка – 0,83 (Me), тощая и подвздошная кишки – 1,69 (Me) и 2,52 (Me) соответственно, толстая кишка – 6,38 (Me).

Следовательно, комплексное лечение распространенного гнойного перитонита с применением препарата, содержащего янтарную кислоту, «Цитофлавин» способствует полному восстановлению двигательной функции желудочно-кишечного тракта к 5-ым суткам послеоперационного периода.

Во все сроки послеоперационного периода в основной группе также отмечалось более интенсивное статистически достоверное снижение уровня свободнорадикального окисления, чем в контрольной группе. На 1-е сутки послеоперационного периода значения I<sub>max</sub> и S составили 0,91 мВ (Me, p=0,0001) и 9,40 мВ\*сек (Me, p=0,001), tgα<sub>2</sub> – -0,198 (Me, p<0,0001). На 3-и сутки наблюдалась дальнейшая положительная динамика восстановления баланса процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности, показатели I<sub>max</sub> и S снизились до 0,86 мВ (Me, p=0,0006) и 8,5 мВ\*сек (Me, p<0,0002) соответственно, tgα<sub>2</sub> увеличился до -0,187 (Me, p=0,005). На 5-е сутки послеоперационного периода в основной группе исследуемые показатели не отличались от нормы и статистически достоверно превосходили значения в контрольной группе: I<sub>max</sub> – 0,76 мВ (Me, p<0,0001), S – 7,58 мВ\*сек (Me, p<0,0001), tgα<sub>2</sub> – -0,170 (Me, p=0,0001).

Таким образом, клинические исследования свидетельствуют о высокой эффективности использования препарата, содержащего янтарную кислоту, «Цитофлавин» в послеоперационном периоде с целью устранения энтеральной недостаточности и эндогенной интоксикации при распространенном гнойном перитоните.

**Коррекция липид-транспортной системы.** При распространенном гнойном перитоните в липид-транспортной системе (ЛТС) пациентов контрольной группы наблюдались изменения, характерные для генерализованного воспаления, – снижалось содержание белка, общего

холестерола сыворотки крови ( $p < 0,0001$ ), холестерина липопротеинов высокой и низкой плотности ( $p < 0,0001$  и  $p = 0,02$  соответственно), отмечался рост уровня триглицеридов ( $p = 0,0001$ ).

В фосфолипидном спектре липопротеинов высокой плотности (ЛПВП) патологические изменения характеризовались увеличением процентного содержания лизофосфатидов ( $p < 0,0001$ ), сфингомиелина ( $p < 0,0001$ ) и фосфатидилэтаноламина ( $p = 0,006$ ) со снижением уровня фосфатидилхолина ( $p < 0,0001$ ) и полиглицерофосфатидов ( $p < 0,0001$ ).

Наиболее выраженные изменения ЛТС и липидного состава ЛПВП у пациентов, получавших стандартное лечение, отмечены на 3-и сутки после операционного вмешательства. Несмотря на комплекс проводимых мероприятий, на 5-е сутки послеоперационного периода в данной группе сохранялись характерные для воспалительного процесса сдвиги в липидном профиле крови, которые имели достоверное отличие от показателей нормы. Важное значение в терапии критических состояний принадлежит парентеральному питанию. В связи с этим большой интерес представляет изучение состояния липид-транспортной системы при распространенном гнойном перитоните и свойств препарата «Омегавен», в состав которого входят омега-3 жирные кислоты.

Эксперимент выполнен на 40 кроликах-самцах породы шиншилла, массой 2600-3000 г. Животные были разделены на следующие группы: I – интактные ( $n=5$ ); II - 6-ти часовой распространенный гнойный перитонит без хирургического лечения ( $n=5$ ); III – контрольная, хирургическое лечение перитонита ( $n=15$ ); IV – хирургическое лечение перитонита с применением в послеоперационном периоде препарата «Омегавен» ( $n=15$ ).

Изучено влияние «Омегавена» на состояние липид-транспортной системы крови и мембран митохондрий печени, на структурные изменения в тонкой кишке, печени и сердце, морфофункциональные изменения надпочечников.

Развитие распространенного гнойного перитонита вызывает негативные изменения липид-транспортной системы крови, в результате которых в сыворотке крови уровень белка снижается на 17,46% ( $p = 0,0001$ ), ЛПВП - на

60,0% ( $p < 0,0001$ ), наблюдается рост содержания триглицеридов на 117% ( $p < 0,0001$ ). В фосфолипидном спектре ЛПВП патологические изменения характеризуются увеличением содержания лизофосфатидов на 22,36% ( $p = 0,022$ ) и компенсаторным ростом уровня полиглицерофосфатидов на 23,08% ( $p = 0,011$ ). В результате декомпенсации защитных систем организма на 5-е сутки послеоперационного периода наблюдается сохранение отрицательных изменений в сыворотке крови, заключающееся в статистически достоверном, по сравнению с нормой, снижении уровня белка на 14,57% ( $p = 0,0007$ ) и ЛПВП на 32,50% ( $p = 0,017$ ), увеличении содержания холестерина – на 238,83% ( $p < 0,0001$ ) и триглицеридов – на 50,39% ( $p = 0,03$ ). Нарушения фосфолипидного спектра ЛПВП представлены высоким процентным содержанием лизофосфатидов ( $p = 0,0009$ ) и низким уровнем фосфатидилхолина ( $p = 0,0001$ ).

Выявленные нами изменения спектра фосфолипидов мембран митохондрий печени при распространенном гнойном перитоните являются критичным фактором нарушения их функциональной активности и обуславливают необходимость фармакологической поддержки.

Развитие экспериментального распространенного гнойного перитонита характеризуется системными изменениями в тонкой кишке, печени и сердце, выраженные некротические и дистрофические процессы в которых свидетельствуют о тяжести патологического процесса. Нарушение гемодинамики, стаз в сосудах микроциркуляторного русла с диапедезными кровоизлияниями указывают на явления значительной ишемии и гипоксии тканей. Нарастание негативных изменений через сутки после оперативного вмешательства определяет важность раннего начала проведения мероприятий, направленных на ликвидацию полиорганной недостаточности.

При развитии распространенного гнойного перитонита со стороны эндокринной системы, а именно, ее исполнительного периферического звена – надпочечников, наблюдаются существенные структурные перестройки, приводящие к патологическим процессам в корковом веществе: в клубочковой зоне – паранекрозу и вакуолизации клеток, пучковой зоне — мелкокапельной

жировой дистрофии, сетчатой зоне - атрофии клеток, зернистой дистрофии. Снижение толщины коры приводит к снижению функциональной активности адренокортикоцитов и может являться причиной развития острой надпочечной недостаточности.

Установлено, что препарат «Омегавен» обладает способностью влиять на белково-фосфолипидный спектр сыворотки крови при распространенном гнойном перитоните. В результате на 5-е сутки послеоперационного периода применение препарата способствовало, по сравнению с контрольной группой, росту содержания белка и ЛПВП на 12,46% ( $p=0,0003$ ) и 59,26% ( $p=0,015$ ) соответственно, снижению уровня холестерина на 50,14% ( $p<0,0001$ ). Действие препарата также было направлено на нормализацию фосфолипидного спектра ЛПВП, а именно, рост уровня общих фосфолипидов на 39,37% ( $p=0,0002$ ), снижение содержания лизофосфатидов на 27,18% ( $p=0,0009$ ) и рост полиглицерофосфатидов на 22,34% ( $p=0,003$ ).

Препарат «Омегавен» оказывает эффективное положительное воздействие на белково-липидные соотношения и фосфолипидный спектр митохондрий печени при экспериментальном распространенном гнойном перитоните. Действие препарата связано со снижением процентного содержания в спектре фосфолипидов митохондрий лизофосфатидов, увеличением уровня полиглицерофосфатидов и кардиолипина, что, возможно, способствует сохранению осмотической устойчивости митохондрий, препятствует разобщению окислительного фосфорилирования и гиперактивации перекисного окисления липидов.

«Омегавен» предотвращает снижение содержания общего количества фосфолипидов в мембранах митохондрий, что совместно с ростом содержания белка также указывает на высокие протективные свойства препарата, которые позволяют сохранить функциональный потенциал митохондрий печени в условиях экспериментального распространенного гнойного перитонита.

Применение в послеоперационном периоде при экспериментальном распространенном гнойном перитоните жировой эмульсии, содержащей омега-3-жирные кислоты, «Омегавен» способствует восстановлению

структуры тонкой кишки, печени и сердца, снижению выраженности воспаления, препятствует развитию дистрофических и некротических изменений. Морфометрические параметры надпочечников животных, получавших в послеоперационном периоде данный препарат, указывают на его способность препятствовать развитию патологических структурных изменений и гиподисфункционального состояния надпочечников.

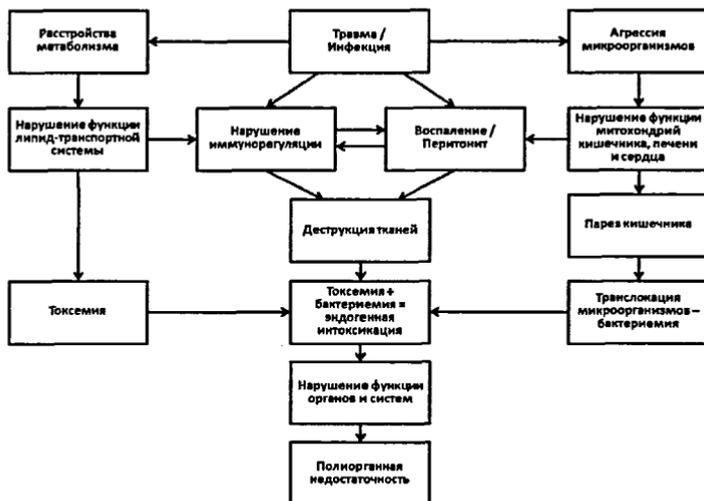
Таким образом, полученные результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о высокой противовоспалительной активности «Омегавена».

Применение у 52 пациентов основной группы в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита препарата, содержащего омега-3 жирные кислоты, «Омегавен» достоверно снижало негативное влияние воспалительного процесса на состояние ЛТС и липидный состав ЛПВП, по сравнению с контрольной группой, не допускало глубоких патологических изменений, способствуя их восстановлению на 5-е сутки послеоперационного периода, что положительно влияло на клиническое течение послеоперационного периода и исход заболевания.

**Противовоспалительная терапия.** У пациентов контрольной группы распространенный гнойный перитонит характеризовался развитием выраженного воспалительного процесса, сопровождающегося статистически достоверным ростом содержания в крови острофазных белков (CRP – С-реактивный белок, CRP-ultra – высокочувствительный С-реактивный белок), ингибиторов тканевых протеаз ( $\alpha$ -1-АТТ –  $\alpha$ -1-антитрипсин), маркеров эндогенной интоксикации (молекул средней массы, оксида азота) и снижением уровня общих фосфолипидов ( $p < 0,0001$  для всех показателей).

Сочетанное применение в комплексном лечении 52 пациентов с распространенным гнойным перитонитом (основная группа) препарата рекомбинантного интерлейкина-2 «Ронколейкин» с внутривенным способом введения, метаболического средства «Цитофлавин», препарата, содержащего омега-3-жирные кислоты, «Омегавен» эффективно снижало активность воспалительного процесса, способствуя его купированию на 7-10-е сутки послеоперационного периода.

Таким образом, проведенные нами экспериментально-клинические исследования открывают новые данные в этиопатогенезе распространенного гнойного перитонита (Рисунок 4).



**Рисунок 4 – Схема этиопатогенеза распространенного гнойного перитонита**

Разработанные нами в эксперименте, с учетом новых данных об этиологии и патогенезе заболевания схемы, способы и методы лечения распространенного гнойного перитонита, включающие рациональное применение антибактериальных препаратов, иммунокоррекцию путем внутрикожного введения «Ронколейкина», нормализацию биоэнергетических процессов с помощью «Цитофлавина», коррекцию изменений в липид-транспортной системе с помощью «Омегавена», их комплексное противовоспалительное действие, в результате применения в клинике позволили существенно улучшить течение заболевания, снизить летальность с 32,38% до 13,46%, число послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений с 17,14% до 13,46%, что имеет большое не только медицинское, но и социальное, и экономическое значение.

## ВЫВОДЫ

1. Анализ результатов, применяемого в настоящее время комплексного лечения пациентов с распространенным гнойным перитонитом (контрольная группа), показал, что летальность составляет 32,38%, а частота послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений – 17,14%. Причинами летальных исходов были: полиорганная недостаточность – 64,70%, острая сердечно-сосудистая недостаточность – 26,48%, острая почечная недостаточность – 2,94%, тромбоэмболия легочной артерии – 5,88%. Главная причина летальных исходов – эндогенная интоксикация, обусловленная генерализованной инфекцией, требующая новых этиопатогенетических подходов в ее лечении.

2. Распространенный гнойный перитонит – смешанная полимикробная аэробно-анаэробная инфекция. В 76,25% случаев воспаление брюшины было вызвано аэробно-анаэробной микрофлорой, в 15% - только анаэробной, в 8,75% - только аэробной. Среди анаэробов доминирующую позицию занимают бактероиды – 63,4%, среди аэробов – кишечная палочка – 54,93%.

3. Тест-системы «ИД-ЭНТ», «ИД-АНА», «АБ-ГРАМ (-)» и «АБ-АН» (идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам аэробных и неклостридиальных анаэробных микроорганизмов) позволяют снизить временные затраты на исследование чувствительности к антибактериальным препаратам до 17 минут для 4 штаммов микроорганизмов вместо 3 – 4 часов, учет результатов – до 5 минут, обеспечивают назначение и проведение целенаправленной, эффективной антибактериальной терапии при распространенном гнойном перитоните.

4. Отсутствие универсальных антибактериальных препаратов указывает на необходимость их комбинированного применения с целью лечения распространенного гнойного перитонита. Установлены следующие эффективные схемы комбинированной антибактериальной терапии:

- ✓ препараты выбора 1-го ряда (чувствительность 53,84-93,1%)
  - цефалоспорины III поколения + метронидазол;
  - цефалоспорины III поколения + аминогликозиды + метронидазол;
- ✓ препараты выбора 2-го ряда (чувствительность 76,72-93,1%)
  - фторхинолоны + метронидазол;

- цефалоспорины IV поколения + метронидазол;
- ✓ препараты резерва (чувствительность 89,74-100%)
- карбапенемы.

5. У пациентов с распространенным гнойным перитонитом в послеоперационном периоде отмечаются значительные изменения со стороны иммунной системы и неспецифической резистентности организма, характеризующиеся нарушением миграционных свойств нейтрофильных гранулоцитов, понижением уровня регуляторных медиаторов ИЛ-2 и ИЛ-4 и повышением содержания как провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ИЛ-8), так и противовоспалительных интерлейкинов (ИЛ-10), явлениями дисиммуноглобулинемии. Внутривенное введение препарата рекомбинантного интерлейкина-2 «Ронколейкин» обладает эффективным иммунокорректирующим действием посредством регуляции миграционных свойств нейтрофильных гранулоцитов.

6. При распространенном гнойном перитоните отмечаются глубокие системные структурные изменения в тканях тонкой кишки, печени, сердца, надпочечников (дистрофические и некротические процессы, интерстициальный отек, воспалительная нейтрофильная инфильтрация, гиперемия сосудов, стаз в микроциркуляторном русле и диапедезные кровоизлияния), включая митохондрии этих органов (набухание и деструкция митохондрий с разрывами наружной мембраны, дезорганизацией и разрушением крист, гомогенизацией матрикса), что оказывает крайне негативное влияние на течение заболевания и требует целенаправленной этиопатогенетической терапии.

7. При распространенном гнойном перитоните происходит существенное угнетение функциональной активности митохондрий мышечного слоя тонкой кишки, гепатоцитов и кардиомиоцитов. В результате нарушения сопряжения процессов дыхания и окислительного фосфорилирования резко снижается образование макроэргических фосфатных соединений, что приводит к энергетическому «голоду». Применение препарата, содержащего янтарную кислоту, «Цитофлавин» обеспечивает нормализацию процессов биологического окисления,

восстанавливает функциональную активность митохондрий, устраняет энтеральную недостаточность, оказывает выраженное дезинтоксикационное действие.

8. В липид-транспортной системе организма пациентов с распространенным гнойным перитонитом выявлены изменения, характерные для генерализованного воспаления: снижение содержания белка, общего холестерина сыворотки крови, холестерина липопротеинов высокой и низкой плотности, рост уровня триглицеридов, патологические сдвиги в фосфолипидном спектре ЛПВП и мембран митохондрий печени. Применение в послеоперационном периоде жировой эмульсии, содержащей омега-3 жирные кислоты, «Омегавен» способствует снижению активности воспалительного процесса, препятствует развитию дистрофических и некротических изменений.

9. Сочетанное применение в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита препарата рекомбинантного интерлейкина-2 «Ронколейкин» (внутрикожное введение), метаболического средства, содержащего янтарную кислоту, «Цитофлавин», препарата, содержащего омега-3 жирные кислоты, «Омегавен» обладает выраженным противовоспалительным действием.

10. Оптимизация комплексного лечения распространенного гнойного перитонита, включающая разработанные новые схемы рациональной антибактериальной терапии, иммунокоррекцию путем внутрикожного введения «Ронколейкина», коррекцию биоэнергетических процессов и липид-транспортной системы в организме с помощью «Цитофлавина» и «Омегавена», их сочетанное противовоспалительное действие, позволила снизить летальность с 32,38% до 13,46% и уменьшить число послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений с 17,14% до 13,46%.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

В существующее комплексное лечение распространенного гнойного перитонита целесообразно включение новых схем, способов и методов, разработанных нами на основании новых данных об этиопатогенезе заболевания:

1. Антибактериальная терапия.

Для эффективного применения антибактериальных препаратов в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита необходимо использовать разработанные нами тест-системы «ИД-ЭНТ» и «ИД-АН» (идентификация грамотрицательных аэробных и облигатных анаэробных микроорганизмов), «АБ-ГРАМ(-)» и «АБ-АН» (определение чувствительности к антибактериальным препаратам грамотрицательных аэробных и неклостридиальных анаэробных микроорганизмов). Наиболее рациональными схемами антибактериальной терапии являются:

- ✓ препараты выбора 1-го ряда
  - цефалоспорины III поколения + метронидазол;
  - цефалоспорины III поколения + аминогликозиды + метронидазол;
- ✓ препараты выбора 2-го ряда
  - фторхинолоны + метронидазол;
  - цефалоспорины IV поколения + метронидазол;
- ✓ препараты резерва
  - карбапенемы.

## 2. Иммунокорректирующая терапия.

Внутрикожное введение «Ронколейкина» (0,15 мг один раз в сутки внутрикожно, в течение 5 суток) приводит к выраженному иммуностимулирующему действию, по сравнению с другими способами введения, заключающемся в значительном повышении цитокинпродуцирующей активности иммунокомпетентных клеток, которые в свою очередь более эффективно регулируют миграционные свойства нейтрофильных лейкоцитов в очаге воспаления в брюшной полости.

## 3. Коррекция биоэнергетических процессов в организме.

Высокой эффективностью обладает препарат, содержащий янтарную кислоту, «Цитофлавин» (по 10 мл в 200 мл 5% раствора глюкозы 2 раза в сутки внутривенно капельно) с целью нормализации биоэнергетических процессов, происходящих в органах и тканях, устранения энтеральной недостаточности, эндогенной интоксикации и полиорганной недостаточности. Установлено, что лечебное действие данного лекарственного средства связано с восстановлением

функциональной активности митохондрий, увеличением образования АТФ, дезинтоксикационным и антиоксидантным действием, снижением последствий окислительного стресса на организм.

#### 4. Коррекция липид-транспортной системы.

Жировая эмульсия, содержащая омега-3-жирные кислоты, «Омегавен» (2мл/кг 1 раз в сутки внутривенно капельно) способствует восстановлению структуры тонкой кишки, печени, сердца, надпочечников, снижению выраженности воспаления, препятствует развитию дистрофических и некротических изменений.

5. Сочетанное применение «Ронколейкина», «Цитофлавина» и «Омегавена» обладает выраженным противовоспалительным действием при распространенном гнойном перитоните, что способствует существенному улучшению результатов лечения.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

1. Генералова А.Г., Адамович Л.А., Косинец В.А., Генералов И.И. Таксономическое значение многомерных методов статистического анализа на модели межвидовой дифференциации стафилококков // *Фундаментальные, клинические и фармацевтические проблемы патологии человека: сборник трудов сотрудников Витебского государственного медицинского университета.* – Витебск. – 2003. – С. 180-186.
2. Косинец В.А. Цитофлавин – высокоэффективное средство для лечения синдрома кишечной недостаточности при распространенном гнойном перитоните // *Достижения фундаментальной, клинической медицины и фармации: материалы 62-й научной сессии Витебского государственного медицинского университета.* – Витебск. – 2007. – С. 27-29.
3. Косинец А.Н., Окулич В.К., Федянин С.Д., Конопелько Е.А., Косинец В.А., Шилин В.Е., Мацкевич Е.Л. Тест-система «АБ-ГРАМ (-)» для оценки чувствительности грамотрицательных бактерий к антибиотикам // *Новости хирургии.* – 2007. – № 3. – С. 57-64.
4. Косинец А.Н., Окулич В.К., Шилин В.Е., Косинец В.А., Федянин С.Д., Лазир

- Тавфик, Бабако Н.К. Новые алгоритмы идентификации микроорганизмов с использованием многомерной статистики // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2008. – № 2. – С. 5-10.
5. Шилин В.Е., Окулич В.К., Косинец В.А., Бабако Н.К., Чередняк А.Н. Применение многомерной статистики для идентификации наиболее значимых возбудителей хирургической инфекции // Сборник научных трудов «Современные проблемы инфекционной патологии человека». – Минск, 2008. – Вып. 2. – С. 487-490.
  6. Косинец В.А. Антиоксидантная активность препарата цитофлавин при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // **Экспериментальная и клиническая фармакология**. – 2010. – № 1. – С. 30-32.
  7. Косинец В.А., Федотов Д. Н. Структурные изменения в надпочечниках при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // Ученые записки учреждения образования «Витебская государственная академия ветеринарной медицины». – 2011. – Т. 47, вып. 2, ч. 1. – С. 178-180.
  8. Косинец А.Н., Окулич В.К., Косинец В.А., Федянин С.Д., Плотников Ф.В., Шилин В.Е., Мацкевич Е.Л., Чередняк А.Н., Погочкий А.К. Тест-система «АБ-АН» для определения чувствительности облигатно-анаэробных микроорганизмов к антибиотикам // Достижения медицинской науки Беларуси. – 2011. – Вып. 16. – С. 143.
  9. Косинец А.Н., Окулич В.К., Косинец В.А., Федянин С.Д., Плотников Ф.В., Шилин В.Е., Мацкевич Е.Л., Чередняк А.Н., Погочкий А.К. Тест-система «ИД-АНА» для идентификации облигатно-анаэробных микроорганизмов // Достижения медицинской науки Беларуси. – 2011. – Вып. 16. – С. 144.
  10. Косинец В.А. Коррекция процессов свободнорадикального окисления в митохондриях мышечной оболочки тонкой кишки при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2011. – № 3. – С. 118.
  11. Гостищев В.К., Косинец В.А., Матусевич Е.А., Адаменко Г.П. Иммунологические аспекты экспериментального распространенного гнойного перитонита // **Новости хирургии**. – 2011. – № 5. – С. 3-8.
  12. Косинец В.А., Самсонова И.В., Рьжковская Е.Л. Структурные изменения в

- тонкой кишке при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // **Новости хирургии.** – 2011. – № 5. – С. 9-16.
13. Косинец В.А., Самсонова И.В., Рыжковская Е.Л. Структурные изменения в печени при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // **Новости хирургии.** – 2011. – № 6. – С. 8-14.
14. Косинец В.А. Лечение синдрома энтеральной недостаточности при распространенном гнойном перитоните // Актуальные вопросы неотложной хирургии: материалы выездного пленума Проблемной комиссии «Неотложная хирургия» и Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 65-летию научного хирургического общества и 20-летию Ассоциации врачей хирургического профиля на Кавказских Минеральных Водах. – Пятигорск: РИА-КМВ, 2011. – С. 198-199.
15. Гостишев В.К., Косинец В.А. Иммунотропное действие «Ронколейкина» при различных способах введения в условиях экспериментального распространенного гнойного перитонита // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2012. – № 1. – С. 38-46.
16. Косинец В.А., Осочук С.С., Яроцкая Н.Н. Влияние препарата «Омегавен» на состояние мембран митохондрий печени при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // **Новости хирургии.** – 2012. – № 1. – С. 10-15.
17. Гостишев В.К., Косинец В.А. Коррекция изменений липид-транспортной системы при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии.** – 2012. – № 2. – С. 245-251.
18. Косинец А.Н., Окулич В.К., Косинец В.А., Федянин С.Д., Плотников Ф.В., Шилин В.Е., Мацкевич Е.Л., Чередняк А.Н., Погочкий А.К. Комплексная автоматизированная система диагностики наиболее значимых возбудителей хирургической инфекции // **Хирургия Восточная Европа.** – 2012. – № 3. – С. 298-299.
19. Косинец В.А. Изменения в системе иммунитета при распространенном гнойном перитоните и возможности их коррекции // **Новости хирургии.** –

2012. – № 3. – С. 36-42.

20. Косинец В.А. Иммунокоррекция в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита // Хирургия Восточная Европа. – 2012. – № 3. – С. 81-82.
21. Косинец В.А., Самсонова И.В., Рыжковская Е.Л. Структурные изменения в сердце при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2012. – № 3. – С.69-73.
22. Гостищев В.К., Косинец В.А. Влияние «Омегавена» на структурные изменения внутренних органов при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2012. – № 4. – С. 621-627.
23. Косинец В.А. Идентификация и определение чувствительности к антибактериальным препаратам основных возбудителей распространенного гнойного перитонита // Новости хирургии. – 2012. – № 5. – С. -62-69.
24. Косинец В.А. Влияние новой патогенетически обоснованной схемы комплексного лечения распространенного гнойного перитонита на течение воспалительного процесса // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2012. – № 8. – С. 69-73.
25. Косинец В.А. Коррекция биоэнергетических процессов в тонкой кишке при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – № 8. – С. 39-43.
26. Косинец В.А., Яроцкая Н.Н. Свободнорадикальное окисление в печени при экспериментальном распространенном гнойном перитоните // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2012. – № 10. – С. 37-41.
27. Косинец В.А. Иммунокорректирующая терапия в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. – 2012. – № 4. – С. 46-49.
28. Косинец В.А. Состояние липид-транспортной системы и возможности ее коррекции при распространенном гнойном перитоните // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности

**в чрезвычайных ситуациях.** – 2012. – № 4. – С. 81-86.

29. Косинец В.А. Чувствительность к антимикробным препаратам основных возбудителей распространенного гнойного перитонита // материалы II съезда общероссийской общественной организации «Российской общество хирургов гастроэнтерологов». – Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2012. – С. 97.
30. Косинец А.Н., Косинец В.А., Стручков Ю.В. Инфекция в хирургии. – Минск: Белорусская энциклопедия им. П. Бровки, 2012. – 496 с.
31. Косинец В.А. Комплексное лечение распространенного гнойного перитонита // материалы VII Всероссийской конференции общих хирургов с международным участием совместно с Пленумом проблемных комиссий «Неотложная хирургия» и «Инфекция в хирургии» Межведомственного научного совета по хирургии РАМН и Минсоцразвития Российской Федерации. – Красноярск: Версо, 2012. – С. 688-690.
32. Косинец В.А. Оценка эффективности внутрикожного пути введения препарата «Ронколейкин» при распространенном гнойном перитоните // Сборник материалов XIX Российского национального конгресса «Человек и лекарство». – Москва, 2012. – С. 337.
33. Окулич В.К., Косинец А.Н., Косинец В.А., Шилин В.Е., Чердняк А.Н. Тест-системы для автоматической идентификации и определения чувствительности к антибиотикам основных возбудителей бактериальных инфекций // Россия-Беларусь-Сколково: единое инновационное пространство: тезисы международной научной конференции. – Минск. – 2012. – С. 112-113.
34. Федотов Д.Н., Косинец В.А. Становление компонентов надпочечников у человека и животных (гистофизиологические, фундаментальные и экспериментальные аспекты). – Витебск: ВГМУ, 2012. – 129 с.

Подписано в печать 10.01.13 Формат 64x84 1/16.  
Бумага офсетная. Усл. печ. л. 2,79. Тираж 100 экз.  
Заказ № 1724-3

Отпечатано с оригинала-макета заказчика  
в унитарном полиграфическом предприятии  
«Витебская областная типография».  
ЛП 02330/0494165 от 03.04.2009.  
Ул. Щербакова-Набережная, 4, 210015, г. Витебск.