

**ГОУ ВПО СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ РОСЗДРАВА**

На правах рукописи



БЕРГЕН ИРИНА ГЕНРИХОВНА

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОЙ САНАЦИИ БРЮШНОЙ
ПОЛОСТИ В КОМПЛЕКСНОМ ЛЕЧЕНИИ РАЗЛИТОГО
ГНОЙНОГО ПЕРИТОНИТА
(экспериментальное исследование)**

14.01.17 – хирургия

03.03.04 – клеточная биология, цитология, гистология

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

кандидата медицинских наук

Томск-2010

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Научные руководители:

доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАМН Дамбаев Георгий Цыренович

доктор медицинских наук, профессор Логвинов Сергей Валентинович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор Кошель Андрей Петрович

доктор медицинских наук Солонский Анатолий Владимирович

Ведущая организация: Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Новосибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита состоится 24 сентября 2010 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при ГОУ ВПО «Сибирский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» по адресу: 634005, г. Томск, Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Росздрава.

Автореферат разослан « » _____ 2010 г.

Учёный секретарь диссертационного совета

Петрова И.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Проблема лечения разлитого гнойного перитонита является одной из важнейших в клинической медицине. Актуальность данной проблемы обусловлена высокой частотой перитонита, летальность при котором в среднем составляет 20–30 %, при наиболее тяжёлых формах – 40–50 %, в терминальной стадии – 50–70 % [Корерна Т., Schulz F., 1996; Panhofer P. et al., 2000; Шуркалин Б.К., 2000; Альперович Б.И., Соловьёв М.М., 2002; Савельев В.С. и соавт., 2006; Сажин В.П. и соавт., 2007].

Причиной летальности является выраженная эндогенная интоксикация, главным источником которой служит экссудат брюшной полости, даже после устранения источника перитонита [Дамбаев Г.Ц. и соавт., 1998]. По мнению большинства авторов, основным звеном в комплексном лечении острого разлитого перитонита является санация брюшной полости. В клиническую практику внедрены различные её способы, но даже самая тщательная интраоперационная обработка не позволяет добиться полной стерильности брюшины [Шапошников В.И., 2000; Каншин Н.Н., 2007; Алиева Э.А. и соавт., 2008; Jallouli M. et al., 2009].

Для элиминации патогенной флоры в послеоперационном периоде необходимо использовать методы удаления экссудата из брюшной полости. В литературе описываются способы открытой и закрытой санации. Способ закрытой санации с пассивным оттоком патологического содержимого оправдывает себя у пациентов с местным перитонитом и в реактивной стадии разлитого перитонита [Шуркалин Б.К. и соавт., 1993; Шапошников В.И., 2000]. У больных в терминальной и токсической стадии разлитого перитонита закрытое дренирование брюшной полости неэффективно, так как не обеспечивает её адекватной санации, что способствует прогрессированию эндотоксикоза. Имеются сообщения о динамической лапароскопии и фракционном диализе в раннем послеоперационном периоде у больных с

распространённым перитонитом [Гальперин Э.И. и соавт., 1998; Бухвалов А.Г., 2000].

Способы открытой санации – лапаростомия, программированные релапаротомии, и санации брюшной полости снижают летальность до 25–29 % [Комаров Н.В. и соавт., 1998; Богомолов Н.И. и соавт., 2002; Альперович Б.И., Барабаш В.И., 2003; Малков И.С. и соавт., 2003; Wondberg D. et al., 2008]. Наряду с положительными моментами – возможность регулярной ревизии органов брюшной полости и, как следствие, снижение числа таких осложнений, как спаечная непроходимость и образование межкишечных абсцессов, – эти методы имеют ряд недостатков. К ним относится большая потеря жидкости, белков, электролитов, образование кишечных свищей, нагноение срединной раны и формирование вентральных грыж. Кроме того, при выполнении программированной релапаротомии после полного сведения краёв раны повышается внутрибрюшное давление, что приводит к парезу желудочно-кишечного тракта, а также способствует размножению и вегетированию микрофлоры.

С 60–70-х годов XX века для санации гнойно-некротических полостей применяют ультразвук [Деккер А.Ф., 1983; Исмаилов А.А., Кулиев Р.А., 1984]. Пауков В.С. с соавт. в 1984 г. для обработки воспалённой брюшины и механического удаления некротических масс используют ультразвук низкой частоты (26,5 кГц), Юдин В.А. и соавт. в 1993 г. – ультразвук средней частоты (300 кГц), озвучивание проводят в среде антисептиков. Для генерации ультраволн используют стационарные аппараты. Авторы отмечают, что применение ультразвука низко- и среднечастотного диапазона оказывает стойкое бактерицидное действие. Отрицательными моментами вышеуказанных способов озвучивания являются кратковременность воздействия, наличие постоянного источника питания, опасность повреждения подлежащих органов и тканей при контакте с волноводом и излучателем.

В литературе описывается положительное влияние озона на заживление гнойных полостей, повышение адаптационных возможностей организма. По данным Г.В. Родоман и соавт. (2000 г.), использование методов озонотерапии в условиях хирургической клиники позволяет значительно улучшить результаты лечения больных с различными формами хирургической инфекции. Озонотерапия сокращает количество осложнений, продолжительность пребывания больных в стационаре, снижает летальность. Кроме того, оптимизация антибактериальной терапии за счет использования рациональных схем лечения с включением методов озонотерапии позволяет сократить расход антибактериальных препаратов [Родоман Г.В. и соавт., 2000; Лаберко Л.А. и соавт., 2004].

Таким образом, несмотря на применение различных методов ультразвуковой санации брюшной полости при разлитом гнойном перитоните, ряд вопросов остаётся открытым. Для улучшения методики необходимо разрабатывать новые способы озвучивания брюшной полости в комплексном лечении больных перитонитом.

Цель исследования: изучить в эксперименте эффективность санации брюшной полости и корреляции морфологических изменений при разлитом гнойном перитоните с использованием автономного ультразвукового излучателя и озонированного 0,9 % раствора хлорида натрия.

Задачи исследования

1. Разработать автономный ультразвуковой излучатель для санации брюшной полости при разлитом гнойном перитоните.

2. Исследовать влияние автономного ультразвукового излучателя на микрофлору *in vitro* и при разлитом гнойном перитоните у экспериментальных животных, оценить эффект.

3. Изучить морфологические изменения органов брюшной полости на фоне воздействия ультразвукового излучателя у животных с разлитым гнойным перитонитом и у интактных животных.

4. Разработать в эксперименте способ санации брюшной полости при разлитом гнойном перитоните с использованием автономного ультразвукового излучателя и озонированного 0,9 % раствора хлорида натрия, оценить его эффективность.

Научная новизна. Разработан автономный ультразвуковой излучатель для пролонгированной санации брюшной полости при перитоните. Изучены морфологические изменения в органах брюшной полости и брюшине у интактных животных при ультразвуковом воздействии (400–500 кГц). Получены данные об отсутствии патоморфологических изменений в органах брюшной полости и брюшине у интактных животных при озвучивании, что свидетельствует о безвредности воздействия ультразвука. Изучены морфологические изменения в органах брюшной полости и брюшине у животных с моделью перитонита при использовании ультразвуковой санации полости брюшины в изотоническом и озонированном изотоническом растворе натрия хлорида с концентрацией озона 20 мкг/мл. Получены данные о более быстром купировании воспалительного процесса в брюшной полости в случае использования комбинации ультразвука и озонированного 0,9 % раствора натрия хлорида, что подтверждено морфологическим исследованием и снижением летальности на 30 %. Проведён морфоколичественный анализ клеточного состава воспалительного инфильтрата брыжейки тонкой и толстой кишки и брюшины. Получены данные об укорочении острого периода воспалительного процесса вдвое в случае использования комбинации ультразвука и озонированного 0,9 % раствора натрия хлорида по сравнению с озвучиванием в изотоническом растворе.

Практическая значимость. Методика санации брюшной полости с использованием автономного ультразвукового излучателя и озонированного изотонического раствора хлорида натрия позволяет достичь более раннего уменьшения интоксикации, купирования пареза желудочно-кишечного

тракта, очищения брюшной полости от патогенной флоры и снизить летальность экспериментальных животных.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Совместное применение ультразвука 400–500 кГц и озонированного 0,9 % раствора хлорида натрия с концентрацией озона 20 мкг/мл оказывает бактерицидное действие *in vitro* в отношении кишечной палочки, золотистого стафилококка, кандиды, протей вульгарного, синегнойной палочки с концентрацией до 10^8 м.т./мл.

2. Ультразвуковые колебания в диапазоне 400–500 кГц не вызывают патоморфологических изменений в органах брюшной полости и брюшине у экспериментальных животных.

3. Санация брюшной полости при разлитом гнойном перитоните с использованием автономного ультразвукового излучателя и озонированного 0,9 % раствора хлорида натрия позволяет в 1,5 раза быстрее очистить брюшную полость от патогенной флоры, уменьшить интоксикацию и снизить летальность экспериментальных животных на 30 %.

4. Использование ультразвуковой санации брюшной полости в среде озонированного 0,9 % раствора натрия хлорида с концентрацией озона 20 мкг/мл по сравнению с применением озвучивания в изотоническом растворе в 2 раза укорачивает острую фазу воспалительного процесса и способствует раннему наступлению фазы пролиферации.

Апробация работы. Результаты проведённых исследований доложены на научно-практической межрегиональной конференции, посвящённой 40-летию кафедры госпитальной хирургии ГОУ ВПО ТюмГМА Росздрава (г. Тюмень, 3–4 апреля 2008 г.); на II Архангельской международной медицинской конференции молодых учёных и студентов (г. Архангельск, 2009 г.); на IV региональной конференции молодых учёных-онкологов им. академика РАМН Н.В. Васильева (г. Томск, 29 апреля 2009 г.); на X конгрессе молодых учёных и специалистов (г. Томск, 28–29 мая 2009 г.); на III съезде хирургов Сибири и Дальнего Востока (г. Томск, 15–16 октября

2009 г.). Основные положения диссертации представлены в 8 печатных работах, из которых 1 – в журнале, рекомендованном ВАК. Получены 2 патента: 1 на полезную модель и 1 на способ санации при разлитом перитоните.

Объём и структура диссертации. Диссертация изложена на 126 страницах машинописного текста, состоит из введения, четырёх глав, выводов, списка литературы, включающего 132 отечественных и 84 зарубежных источника. Текст иллюстрирован 33 рисунками и 1 таблицей.

Личное участие автора. Экспериментальное исследование выполнено автором. Весь материал, представленный в диссертационном исследовании, обработан и проанализирован лично автором. Все опубликованные работы написаны автором лично. Устройство для ультразвуковой санации ЭФА-4 разработано при непосредственном участии автора.

Материал и методы исследования

Помещение ультразвукового излучателя в брюшную полость интактных животных

В группу интактных животных, которым не выполняли моделирование перитонита, вошло 10 крыс-самцов линии Wistar. После премедикации под общей анестезией животным выполняли лапаротомию, затем в брюшную полость помещали ультразвуковой излучатель, в качестве среды для озвучивания использовали изотонический раствор натрия хлорида. Продолжительность воздействия составила 7 суток. Забор материала осуществляли на 1, 3, 7, 14 и 30-е сутки после озвучивания.

Создание экспериментальной модели разлитого гнойного перитонита, осуществление ультразвуковой санации брюшной полости при перитоните

Эксперименты были выполнены на 90 крысах-самцах линии Wistar массой 250–300 г. Всем животным выполняли моделирование разлитого перитонита путём введения в брюшную полость 10 % каловой взвеси из расчёта 0,5 мл/100 г массы животного. Через 24 часа при вскрытии брюшной

полости отмечали развитие разлитого перитонита, подтверждённого бактериологическим и морфологическим исследованиями. Все животные были разделены на 3 группы. В первую группу вошло 30 крыс с моделью перитонита, которым не выполняли оперативных вмешательств, что позволило оценить эффективность созданной модели. Второй группе (30 крыс) ультразвуковую санацию брюшной полости осуществляли в среде изотонического раствора натрия хлорида с помощью ультразвукового устройства оригинальной конструкции (патент RU 76231 от 20.09.08). После выполнения лапаротомии, оценки состояния органов брюшной полости и брюшины промывали полость брюшины изотоническим раствором натрия хлорида до чистых вод. Брюшная полость заполнялась изотоническим раствором хлорида натрия, после чего в раствор по правому и левому боковым каналам помещали 2 излучателя. После выполнения санации в течение 30 мин излучатели и раствор удалялись из брюшной полости. Брюшная стенка ушивалась послойно наглухо. В третью группу вошло 30 крыс, которым ультразвуковую санацию брюшной полости проводили по вышеописанной методике в среде озонированного изотонического раствора натрия хлорида с концентрацией озона 20 мкг/мл. Воздействие осуществляли на 1, 3, 5 и 7-е сутки после создания модели перитонита. Озонированный изотонический раствор натрия хлорида получали путём барботирования 0,9 % раствора натрия хлорида с помощью озонатора «Поликор-В» (г. Красноярск). Выведение из опыта осуществляли передозировкой наркотического вещества (рометар) на 1, 3, 7, 14 и 30-е сутки после воздействия. В качестве контрольной группы использовались животные (10 особей), которым осуществлялась лапаротомия, после чего брюшная стенка ушивалась послойно наглухо. Эксперименты проводились согласно правилам гуманного обращения с животными, которые регламентированы «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», приведёнными в соответствии с приказом Минвуза СССР № 742 от 13.11.84 г. «Об утверждении Правил проведения работ с использованием

экспериментальных животных», а также на основе положений Хельсинской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации от 1964 г., дополненной в 1975, 1983 и 1989 гг.

Гистологическое исследование

Исследование материала проводили на 1, 3, 7, 14, 30-е сутки после операции. Исследовали фрагменты тканей печени, селезёнки, толстой и тонкой кишки, большого сальника, брюшины. Биопсийный (операционный) материал тотчас после взятия фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина [Меркулов Г.А., 1969]. Фиксацию проводили при комнатной температуре в течение 24 часов. Затем объекты после промывания в проточной воде подвергали обезвоживанию в спиртах восходящей концентрации. Продолжительность обезвоживания составила 4 дня. Далее кусочки помещали в смесь абсолютного спирта с О-ксилолом (в соотношении 1:1), а затем в две порции чистого ксилола. После просветления объекты переносили в расплавленную смесь О-ксилола с парафином (в соотношении 1:1) и оставляли в ней на 2,5–3 часа при температуре 36,5–37 °С (в термостате). Затем производили пропитывание в двух порциях парафина. Для приготовления срезов печени, селезёнки, толстой и тонкой кишки, большого сальника, брюшины использовали санный микротом. Толщина получаемых парафиновых срезов составляла 5–6 мкм. Далее, во избежание отклеивания, срезы на предметных стеклах просушивали при комнатной температуре в течение 24 часов, окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике [Меркулов Г.А., 1969]. Микроскопическое исследование и фотографирование препаратов печени, селезенки, сальника, тонкой и толстой кишки, брюшины проводили с помощью светового микроскопа ЛОМО Биолам АУ-12 при увеличении: ок. 5х, 10х; об. 40х, 90х; дополнительное увеличение микроскопа 1,5х.

Фотографировали срезы печени, селезенки, сальника, тонкой и толстой кишки, брюшины с помощью цифровой фотокамеры OLYMPUS C-310 ZOOM. Морфоколичественный анализ включал подсчёт числа лейкоцитов,

лимфоцитов, моноцитов, макрофагов, фибробластов и новообразованных сосудов в воспалительном инфильтрате корня брыжейки толстой и тонкой кишки и брюшины в 50 случайных полях зрения при увеличении 765х.

Статистическую обработку данных проводили при помощи компьютерной программы Statistica 6,0. Материал морфоколичественных исследований обрабатывали по правилам непараметрической статистики с использованием критерия Манна–Уитни. Подсчитывали количество клеток в 1 мм² инфильтрата ($M \pm \sigma$). Общее количество клеток принимали за 100 %. В инфильтрате определяли долю лейкоцитов, лимфоцитов, моноцитов, макрофагов, фибробластов ($M \pm m, \%$). Достоверность различий между контрольными и экспериментальными показателями принимали при $p < 0,05$. Результаты морфоколичественного анализа изображали в виде графиков.

Исследование чувствительности микроорганизмов к воздействию ультразвука и озонированного изотонического раствора

Определяли чувствительность музейных штаммов микроорганизмов (*E. coli* ATCC 25925, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* P209, *P. vulgaris* 4175, *C. Albicans*) к воздействию ультразвука средней частоты (400–500 кГц), озонированного 0,9 % раствора натрия хлорида с концентрацией озона 20 мкг\мл и комбинации ультразвука и озонированного изотонического раствора натрия хлорида.

Бактериологическое исследование экссудата брюшной полости

После выполнения лапаротомии у заражённых животных 2-й и 3-й группы в стерильные пробирки осуществляли забор экссудата из брюшной полости, а при его отсутствии забирали смывы из полости брюшины. Для этого в брюшную полость вводили стерильный изотонический раствор в количестве 10 мл. Исследование выполняли на 1, 3, 5, 7 и 9-е сутки после воздействия ультразвуком или комбинацией ультразвука и озона. У животных 1-й группы аналогичное исследование выполняли при аутопсии.

Устройство для ультразвуковой санации брюшной полости

Совместно с медико-экологическим центром «Дюны» разработано устройство для ультразвуковой санации брюшной полости при перитоните. Малогабаритное многоканальное устройство для ультразвуковой обработки брюшной полости (рисунок) состоит из блока управления устройством 1 и ультразвуковых излучателей 2 (УИ1–УИ n), выполненных в виде дисков диаметром 20 мм и толщиной 5 мм из пьезокерамики марки ЦТБС-8, которые соединяются с блоком управления с помощью электрических проводников, помещенных в силиконовый катетер 3. Блок управления устройством 1 содержит микропроцессорный блок формирования ультразвуковых сигналов в диапазоне 400–500 кГц – блок формирования несущей частоты 4. Перестройка частоты в данном диапазоне происходит с помощью блока управления сканированием 5. Усиление ультразвуковых сигналов обеспечивается усилителем мощности 6. Изменение мощности излучения осуществляется блоком управления мощностью 7. Подачу ультразвуковых сигналов к разным пьезокерамическим излучателям обеспечивает разветвитель мощности 8. Индикацию наличия ультразвукового излучения на каждом УИ обеспечивает блок индикации 9. Питание электронной части устройства осуществляется блоком питания 10 на аккумуляторных батареях типа АА емкостью не менее 1500 мА/ч. Периодическую зарядку аккумуляторов обеспечивает зарядное устройство – сетевой адаптер 11. Мощность излучения 4,7 мВт.

Результаты собственных исследований

Результаты исследования чувствительности микроорганизмов к воздействию ультразвука и озонированного изотонического раствора натрия хлорида

Результаты нашего исследования показали, что ультразвук средней частоты (400–500 кГц) обладает бактерицидным действием в отношении наиболее частых возбудителей перитонита (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *P. Vulgaris*, *C. Albicans*), за исключением *P. Aeruginosa*.

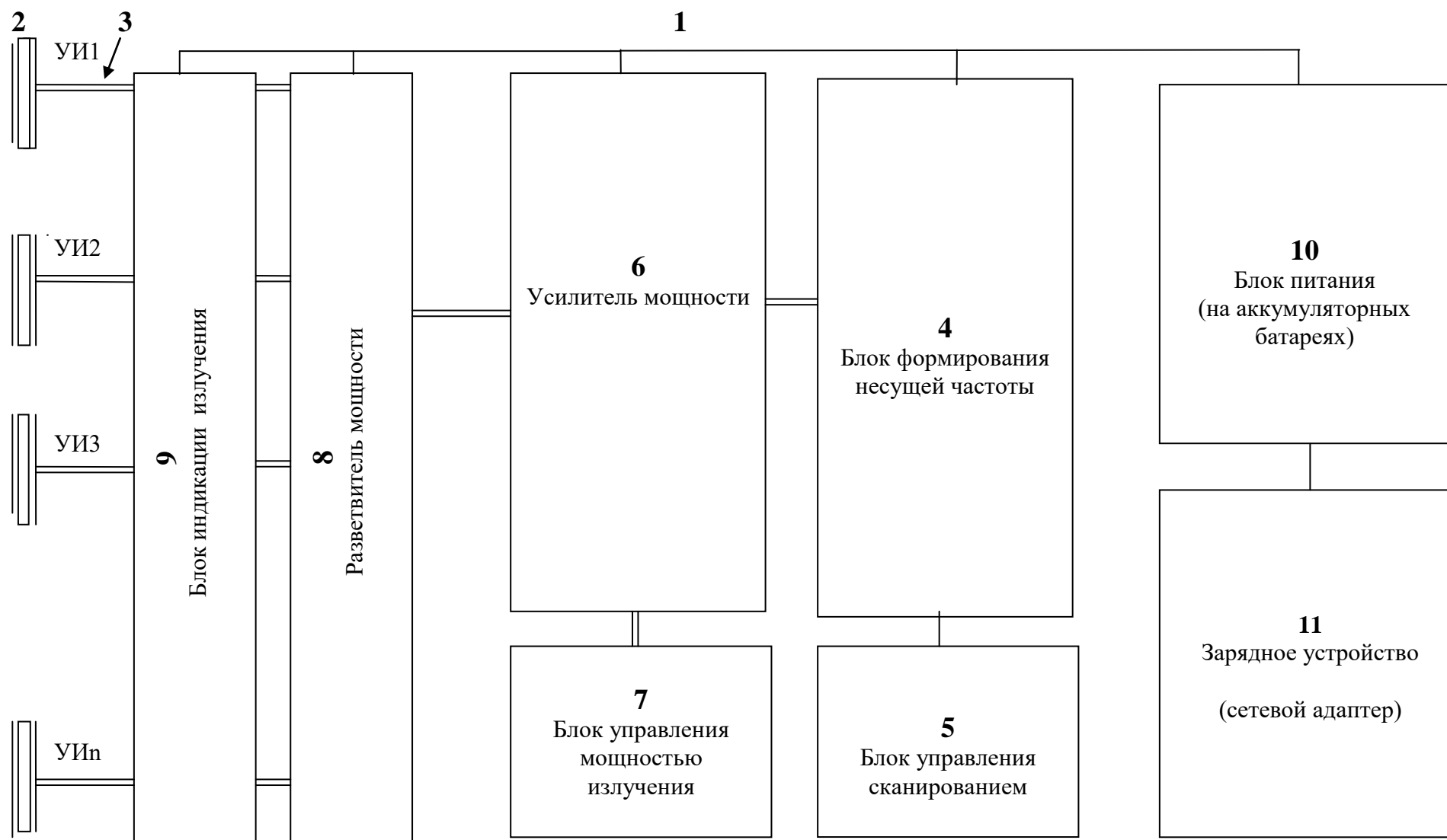


Схема устройства для ультразвуковой санации брюшной полости ЭФА-4

Данный микроорганизм в концентрации $10^6, 10^7, 10^8$ м.т./мл был устойчив к воздействию ультразвука. Озонированный (20 мкг/мл) изотонический раствор натрия хлорида оказывал бактерицидное действие на микроорганизмы, являющиеся наиболее распространенными возбудителями перитонита, с титром до 10^8 м.т./мл. При использовании ультразвука и озонированного изотонического раствора натрия хлорида рост микрофлоры *in vitro* не был отмечен ни в одном из случаев.

Результаты исследования интактных лабораторных животных после помещения в брюшную полость ультразвукового излучателя

После оперативного вмешательства, последующего помещения в полость брюшины ультразвукового излучателя и осуществления озвучивания у 100 % экспериментальных животных при макро- и микроскопическом исследовании патологических изменений со стороны органов брюшной полости и брюшины выявлено не было.

Результаты исследования лабораторных животных с моделью перитонита без выполнения оперативного вмешательства

При вскрытии брюшной полости животных, погибших от разлитого перитонита в 1, 2 и 3-и сутки заболевания, отмечали наличие мутного выпота разлитого характера с неприятным колибациллярным запахом. Брюшина была тусклая, с наличием мелкоточечных кровоизлияний на париетальном листке. Прослеживали резкое вздутие желудка и петель тонкой кишки на всём протяжении за счёт скопившегося содержимого и газов, стенка кишки была утолщена, отёчна, на серозной и слизистой оболочках имелись кровоизлияния. В 1-е сутки при микроскопическом исследовании передней брюшной стенки определяли интерстициальный межмышечный отёк и выраженное полнокровие сосудов со стазом форменных элементов крови. На поверхности брюшины отмечали наложение оксифильных масс фибрина с выраженной лимфолейкоцитарной инфильтрацией. На 3-и сутки мышцы передней брюшной стенки теряли чёткие очертания, ядра клеток пикноморфно изменялись, их содержание было невелико. Брюшина

значительно утолщалась за счёт выраженной инфильтрации с преобладанием мононуклеаров. Отмечали деструктивные изменения самой кишечной стенки с некрозом и десквамацией эпителиальной выстилки в просвет кишки. Кроме того, наблюдали выраженный отёк всех слоёв кишечной стенки, сосуды отличались резко выраженным полнокровием, стазом, сладжем эритроцитов. При бактериологическом исследовании экссудата в 1, 2 и 3-и сутки моделирования перитонита у погибших животных во всех посевах наблюдали обильный рост кишечной палочки в высоких концентрациях – 10^6 , 10^7 , 10^8 м.т./мл. После моделирования перитонита в 1-е сутки погибло 9 животных из 30. На 2-е сутки погибло ещё 10 животных. На 3-и сутки погибли оставшиеся 11 животных.

Таким образом, в группе с моделью разлитого гнойного перитонита наблюдали ухудшение общего состояния лабораторных животных, соответствующее «острому животу». Макро- и микроскопическая картина органов брюшной полости характеризовалась острыми воспалительными и деструктивными изменениями, вызванными бактериологически подтвержденным обильным ростом кишечной палочки. Летальность в данной группе животных составила 100 %.

Результаты исследования лабораторных животных с моделью перитонита на фоне ультразвуковой санации брюшной полости в среде изотонического раствора натрия хлорида

В течение 1-х суток после озвучивания у заражённых животных состояние улучшалось незначительно. В брюшной полости отмечали наличие прозрачного экссудата в умеренном количестве, без запаха, равномерно распределённого между кишечными петлями. Parietalная брюшина имела полнокровные сосуды и очаги мелкоточечных кровоизлияний, местами сливного характера. Наблюдали умеренное вздутие петель тонкой кишки на всём протяжении. Гистологическая картина брюшины характеризовалась десквамацией мезотелия практически на всём протяжении, распространёнными кровоизлияниями; подлежащие кровеносные сосуды

были резко полнокровны, с краевым стоянием лейкоцитов. На 3-и сутки после озвучивания брюшной полости состояние животных несколько улучшалось, появлялась двигательная активность. Макроскопически в брюшной полости отмечали наличие скудного количества прозрачного, без запаха экссудата, который в виде следов жидкости был равномерно распределён между кишечными петлями. Брюшина характеризовалась выраженной лейкоцитарной инфильтрацией, резким полнокровием сосудов, с краевым стоянием лейкоцитов, очаговыми кровоизлияниями. Воспалительные изменения также были выражены в брыжейке кишечника, большом сальнике, капсуле селезенки и печени. На 7-е сутки воздействия животные чувствовали себя удовлетворительно. При вскрытии брюшной полости не отмечали наличия какого-либо экссудата. Наблюдала налёт фибрина на пристеночной брюшине, рыхлые спайки между петлями кишечника и париетальной брюшиной. Гистологическое исследование выявило на поверхности брюшины, покрывающей брыжейку и петли кишечника, очаговые воспалительные клеточные инфильтраты, окруженные по периферии тонкими волокнами созревающей соединительной ткани. Начиная с 14-х суток озвучивания состояние животных не отличалось от такового у здоровых особей. Между париетальной брюшиной, сальником, петлями тонкой и толстой кишки имелись спайки в виде плотных тяжей. При гистологическом исследовании на поверхности брюшины, покрывающей переднюю брюшную стенку, кишечник, брыжейку, капсулу селезенки и печени, отмечалось разрастание рыхлой соединительной ткани, местами определяли эпителиальную выстилку, представленную одним слоем плоских клеток с гиперхромными ядрами. На 30-е сутки париетальная брюшина имела гладкую блестящую поверхность, розовый цвет. В брюшной полости наблюдали различной степени спаечный процесс. При гистологическом исследовании брюшина, покрывающая переднюю брюшную стенку, тонкую и толстую кишку, брыжейку, была выстлана однослойным плоским эпителием, на всем протяжении сохраняющим свою целостность.

При бактериологическом исследовании экссудата в 1-е и 3-и сутки после озвучивания наблюдали обильный рост кишечной палочки в концентрациях 10^6 , 10^7 , 10^8 м.т./мл. На 5-е сутки умеренный рост кишечной палочки отмечали в концентрациях 10^6 , 10^7 , 10^8 м.т./мл., на 7-е сутки скудный рост кишечной палочки определяли в концентрациях 10^3 м.т./мл. Начиная с 9-х суток посеы оставались стерильными.

Через сутки после озвучивания умерли 4 из 30 экспериментальных животных, на 2-е сутки – 3 из 26 и на 3-и – 2 из 23. Всего умерло 9 из 30 экспериментальных животных, что составило 30 %.

Таким образом, при разлитом гнойном перитоните на фоне ультразвукового воздействия положительная динамика в состоянии экспериментальных животных появлялась после 3-х суток. Гистологически в 1-е сутки определяли картину типичного воспаления в большом сальнике, в брыжейке тонкой и толстой кишки, в капсуле печени и селезёнки. Воспаление к 3-м суткам прогрессировало, на 7-е сутки локализовалось с разрастанием на периферии очага грануляционной ткани. Через 14 суток обширные участки повреждения трансформировались во множество мелких зон, которые к 30-м суткам замещались мелкими соединительнотканными рубчиками. При этом развивался периваскулярный фиброз сосудов, склерозирование капсулы печени и селезенки. Бактериологическое исследование экссудата выявило обильный рост кишечной палочки в 1-е–3-и сутки после ультразвукового воздействия, с 9-х суток посеы оставались стерильными. Летальность в данной группе составила 30 %.

Результаты исследования лабораторных животных с моделью перитонита на фоне ультразвуковой санации брюшной полости в среде озонированного изотонического раствора натрия хлорида

Через сутки общее состояние животных данной группы изменялось незначительно. В брюшной полости присутствовал прозрачный экссудат, без запаха и патологических примесей. Со стороны пристеночной брюшины и серозной оболочки кишечника отмечали воспалительные явления.

Наблюдали парез желудочно-кишечного тракта. Микроскопическая картина выявила воспалительные изменения, которые локализовались преимущественно на брюшине, в большом сальнике, характеризовались десквамацией покровного эпителия, обширным некротическим поражением жировой ткани с густой инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами. На 3-и сутки после озвучивания состояние животных улучшалось, возвращалась двигательная активность. После вскрытия брюшной полости наличие выпота не отмечали. Воспалительные изменения были наиболее выражены в области серозной оболочки толстой и тонкой кишки. Гистологическая картина характеризовалась выраженной лимфо-лейкоцитарной инфильтрацией брюшины, серозной оболочки тонкой и толстой кишки, резким полнокровием сосудов, краевым стоянием лейкоцитов в них, очаговыми кровоизлияниями. На 7-е сутки состояние животных значительно улучшилось и не отличалось от такового у здоровых особей. Свободной жидкости в брюшной полости не выявляли. Ранее описанные воспалительные явления отсутствовали. Появлялись рыхлые спайки между кишечными петлями, большим сальником и пристеночной брюшиной. Морфологическое исследование выявило поверхностные очаговые скопления фибрина в виде тонкопетливой сети на поверхности брюшины, покрывающей переднюю брюшную стенку, брыжейку и петли кишечника. На поверхности брыжейки кишечника, капсулы печени и селезенки появлялось разрастание рыхлой соединительной ткани. На 14-е сутки в брюшной полости имелся спаечный процесс различной степени выраженности. При гистологическом исследовании на поверхности брюшины передней брюшной стенки, брыжейке тонкой и толстой кишки, капсулы печени и селезенки появлялись разрастания рыхлой волокнистой соединительной ткани, за счет чего описанные структуры выглядели утолщенными. На 30-е сутки выстилка передней брюшной стенки, серозной оболочки тонкой и толстой кишки была представлена однослойным плоским эпителием. При бактериологическом исследовании экссудата и смывов из

брюшной полости в 1-е и 3-и сутки наблюдали обильный рост кишечной палочки в концентрациях 10^6 , 10^7 , 10^8 м.т./мл. На 5-е сутки отмечали скудный рост кишечной палочки -10^3 м.т./мл. Начиная с 7-х суток рост кишечной палочки отсутствовал, все посеы оставались стерильными.

Таким образом, в группе экспериментальных животных с моделью перитонита на фоне ультразвуковой санации брюшной полости в среде озонированного 0,9 % раствора натрия хлорида наблюдали более быструю динамику восстановления животных. Так, к 3-м суткам состояние животных улучшалось: возвращалась двигательная активность, появлялся аппетит, нормализовалось дыхание и частота сердечных сокращений, появлялся оформленный стул. Макро- и микроскопическая картина отличалась более быстрой динамикой реактивного воспаления: к 3-м суткам выпот в брюшной полости отсутствовал, гистологически на 7-е сутки на поверхности брыжейки кишечника, капсулы печени и селезенки появлялось разрастание грануляционной ткани. Через 14 суток на поверхности брюшины передней брюшной стенки, брыжейке тонкой и толстой кишки, капсулы печени и селезенки отмечали разрастание соединительной ткани. На 30-е сутки выстилка передней брюшной стенки, серозной оболочки тонкой и толстой кишки была представлена однослойным плоским эпителием. Бактериологическое исследование экссудата показало отсутствие роста кишечной палочки с 7-х суток. Летальность экспериментальных животных составила 0 %.

Результаты количественной оценки клеточного состава воспалительного инфильтрата брыжейки тонкой и толстой кишки и брюшины

Общее количество клеток в 1 мм^2 инфильтрата на 1-е сутки после озвучивания в изотоническом растворе натрия хлорида составило $1915,00 \pm 327,49$, а при использовании комбинации ультразвука и озонированного 0,9 % раствора хлорида натрия – $3220,00 \pm 229,98$ ($p < 0,001$). На 3-и сутки – $510,00 \pm 122,02$ и $2180,00 \pm 176,70$ соответственно ($p < 0,001$). На

7-е сутки в группе с применением ультразвука и изотонического раствора – $1005,00 \pm 206,10$, а с использованием в качестве антисептика озонированного 0,9 % раствора хлорида натрия – $1195,00 \pm 160,64$ ($p > 0,10$). На 14-е сутки – $1650,00 \pm 227,30$ и $1150,00 \pm 184,10$ соответственно ($p < 0,001$). На 30-е сутки после озвучивания в изотоническом растворе – $2075,00 \pm 645,17$; с применением ультразвука и озонированного 0,9 % раствора натрия хлорида – $875,00 \pm 147,67$ ($p < 0,001$).

Доля полиморфноядерных лейкоцитов (гранулоцитов) в воспалительном инфильтрате брыжейки тонкой и толстой кишки и брюшины у животных второй группы через сутки после озвучивания брюшной полости в изотоническом растворе натрия хлорида составила $(63,08 \pm 1,89)$ %, а в третьей группе при использовании в качестве среды для озвучивания озонированного раствора хлорида натрия – $(63,49 \pm 0,96)$ % ($p > 0,10$); через 3 суток – $(8,70 \pm 2,11)$ % и $(32,28 \pm 1,28)$ % соответственно ($p < 0,001$). Через 7 суток лечения – $(8,94 \pm 2,80)$ % у животных второй группы и $(0,74 \pm 0,50)$ % у особей третьей группы ($p < 0,005$), спустя 14 суток – $(3,44 \pm 1,07)$ % и $0,00$ % соответственно ($p < 0,025$). Спустя 30 суток после лечения ультразвуком – $(0,59 \pm 0,59)$ %, ультразвуком и озоном – $0,00$ % ($p > 0,10$).

Доля макрофагов в воспалительном инфильтрате брыжейки и брюшины у животных второй группы через сутки после озвучивания в среде изотонического раствора хлорида натрия составила $(22,09 \pm 0,84)$ %, а в третьей группе с применением ультразвука и озона – $(20,08 \pm 0,73)$ % ($p > 0,10$); через 3 суток после озвучивания в среде изотонического раствора хлорида натрия – $(50,01 \pm 6,60)$ %, а при использовании в качестве антисептика озонированного раствора натрия хлорида – $(25,96 \pm 0,05)$ % ($p < 0,001$), через 7 суток – $(50,53 \pm 3,41)$ % и $(38,01 \pm 2,18)$ % соответственно ($p < 0,005$). Через 14 суток после лечения доля макрофагов составила $(43,99 \pm 1,72)$ % у животных второй группы и $(30,89 \pm 3,34)$ % у особей в третьей группе исследования ($p < 0,025$), а спустя 30 суток – $(19,17 \pm 2,90)$ % и $(40,52 \pm 2,80)$ % соответственно ($p < 0,01$).

Доля фибробластов в воспалительном инфильтрате брюшины и брыжейки тонкой и толстой кишки во второй группе на 1-е сутки после озвучивания в изотоническом растворе натрия хлорида составила $(0,14 \pm 0,15)$ %, а в третьей группе с применением в качестве антисептика озонированного раствора – $(2,54 \pm 0,11)$ % ($p > 0,10$). На 3-и сутки после озвучивания – $(30,37 \pm 4,63)$ % у животных второй группы и $(5,03 \pm 0,72)$ % у особей третьей группы ($p < 0,001$), а на 7-е сутки лечения – $(19,95 \pm 2,43)$ % и $(30,88 \pm 3,09)$ % соответственно ($p < 0,025$). Через 14 суток доля фибробластов после озвучивания в изотоническом растворе натрия хлорида $(44,21 \pm 2,84)$ % и при использовании озонированного раствора хлорида натрия $(51,38 \pm 5,79)$ % ($p > 0,010$), а через 30 суток – $(21,01 \pm 2,93)$ % и $(44,4 \pm 0,15)$ % соответственно ($p < 0,001$).

Доля моноцитов и лимфоцитов во второй группе особей с применением ультразвуковой санации брюшной полости в среде изотонического раствора натрия хлорида через сутки после лечения составила $(14,69 \pm 0,61)$ %, а в третьей группе с использованием ультразвука и озона – $(13,89 \pm 0,52)$ % ($p > 0,10$). Через 3 суток после санации ультразвуком – $(10,91 \pm 5,05)$ % и при применении ультразвука и озона – $(36,73 \pm 1,04)$ % ($p < 0,005$), а через 7 суток лечения – $(20,58 \pm 4,03)$ % и $(30,25 \pm 3,55)$ % соответственно ($p > 0,10$). Через 14 суток после озвучивания доля моноцитов и лимфоцитов составила $(8,35 \pm 1,86)$ % у особей второй группы и $(17,72 \pm 4,22)$ % у животных третьей группы ($p > 0,10$), а через 30 суток – $(59,81 \pm 5,76)$ % и $(14,49 \pm 2,64)$ % соответственно ($p < 0,001$).

Удельный объём сосудов во второй группе животных с применением ультразвука и изотонического раствора натрия хлорида через сутки после лечения составил $0,004 \pm 0,004$, а в третьей группе с использованием ультразвука и озона – $0,001 \pm 0,002$ ($p > 0,10$). Через 3 суток после воздействия ультразвуком – $0,048 \pm 0,130$, ультразвуком и озоном – $0,008 \pm 0,008$ ($p > 0,10$), а через 7 суток после лечения – $0,110 \pm 0,014$ и $0,076 \pm 0,019$ соответственно ($p > 0,10$). Через 14 суток у второй группы особей удельный объём сосудов

составлял $0,04 \pm 0,15$, а в третьей – $0,076 \pm 0,027$ ($p > 0,10$), через 30 суток после лечения – $0,064 \pm 0,016$ и $0,048 \pm 0,012$ соответственно ($p > 0,10$).

Таким образом, нами выявлены достоверные отличия в течении воспалительного процесса при использовании ультразвука и озона по сравнению с монотерапией ультразвуком.

Выводы

1. Разработан автономный ультразвуковой излучатель ЭфА-4, позволяющий осуществлять пролонгированную санацию брюшной полости при перитоните в послеоперационном периоде (патент RU 76231 от 20.09.08).

2. Доказан бактерицидный эффект *in vitro* в отношении кишечной палочки, золотистого стафилококка, кандиды, протей вульгарного, синегнойной палочки с концентрацией до 10^8 м.т./мл при совместном применении ультразвука средней частоты (400–500 кГц) и озонированного изотонического раствора натрия хлорида с концентрацией озона 20 мкг/мл.

3. Использование ультразвуковых колебаний с частотой 400–500 кГц не вызывает патоморфологических изменений в органах брюшной полости и брюшине у экспериментальных животных. Комбинированная санация брюшной полости способствует сокращению острой фазы воспалительного процесса, что проявляется снижением содержания лейкоцитов под воздействием ультразвука и озонированного раствора к 7-м суткам, а также более раннему наступлению фазы пролиферации, что подтверждается преобладанием макрофагов и фибробластов в инфильтрате.

4. Разработан способ ультразвуковой санации брюшной полости при перитоните с использованием автономного ультразвукового излучателя ЭфА-4 и озонированного изотонического раствора хлорида натрия с концентрацией озона 20 мкг/мл (патент RU 2388505 от 10.05.10). Метод способствует очищению полости брюшины от патогенной флоры, уменьшает интоксикацию, купирует парез желудочно-кишечного тракта и снижает летальность экспериментальных животных на 30 %.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Антибактериальное действие озонированного физиологического раствора и ультразвука /соавт. Дамбаев Г.Ц., Жданова О.С., Колесникова И.В. // Медицинская наука и образование Урала. – 2008. – № 3. – С. 43–44.
2. Ультразвуковая санация брюшной полости при перитоните / соавт. Колесникова И.В., Павлов Е.А. // Бюллетень Северного государственного медицинского университета (выпуск XXII). – 2009. – № 1. – С. 93.
3. Ультразвуковая санация брюшной полости в лечении экспериментального перитонита / соавт. Дамбаев Г.Ц., Колесникова И.В., Павлов Е.А., Богоутдинова А.В. // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – Приложение № 1. – С. 29–30.
4. Определение чувствительности микроорганизмов к воздействию озонированного раствора и ультразвука / соавт. Дамбаев Г.Ц., Жданова О.С., Колесникова И.В., Богоутдинова А.В. // Сибирский онкологический журнал. – 2009. – Приложение № 1. – С. 30–31.
5. Ультразвуковая санация брюшной полости с применением озонированного физиологического раствора в лечении разлитого перитонита // Сб.: Науки о человеке: материалы 10-го конгресса молодых учёных и специалистов / под ред. Л.М. Огородовой, Л.В. Капилевича. – Томск: СибГМУ, 2009. – С. 54–55.
6. Новые технологии в лечении перитонита / Сб.: Третий съезд хирургов Сибири и Дальнего Востока: материалы съезда. – Томск: Иван Фёдоров, 2009. – С. 63–64.
7. RU 76231. Малогабаритное многоканальное устройство для ультразвуковой терапевтической обработки послеоперационных полостей: патент на полезную модель / соавт. Дирин В.Н., Ковалёв В.Н., Дамбаев Г.Ц. – Оpubл. 20.09.08.
8. RU 2388505. Способ санации брюшной полости при разлитом перитоните: патент на изобретение / соавт. Дамбаев Г.Ц., Катюха Л.В., Жданова О.В., Ковалёв В.Н., Дирин В.Н. – Оpubл. 10.05.10, Бюл. № 13.

Тираж 100 экз. Заказ 758.
Отпечатано в Томском государственном университете
систем управления и радиоэлектроники.
634050, г. Томск, пр. Ленина, 40.
Тел. (3822) 533018.