

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕХНОЛОГИЯ ГЕРМЕТИЗАЦИИ ТОНКОКИШЕЧНОГО АНАСТОМОЗА ПРИ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОМ ПЕРИТОНИТЕ ПРЕПАРАТАМИ КРОВИ, ОБРАЗУЮЩИМИ ФИБРИН

[В. Г. Лубянский¹, А. Н. Жариков¹, А. П. Момот², Г. А. Арутюнян¹](#)

¹ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России
(г. Барнаул)

²ФБГУ «Гематологический научный центр» Минздрава России (г. Барнаул)

В экспериментальном исследовании на модели послеоперационного распространенного перитонита разработан способ биологической герметизации межкишечных анастомозов с использованием сухого лиофилизированного криопреципитата и раствора тромбина. Дана сравнительная оценка однорядных межкишечных энтероэнтероанастомозов, наложенных по типу «конец в конец» с укреплением искусственно сформированной фибриновой пленкой (основной) и без укрепления (контрольный). Установлено, что в условиях перитонита аппликация полученного фибринового клея повышает герметичность применяемого соустья по сравнению с анастомозами, использующимися без дополнительной защиты.

Ключевые слова: послеоперационный перитонит, анастомоз, криопреципитат, фибрин.

Лубянский Владимир Григорьевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (3852) 68-96-74, e-mail: lvg51@mail.ru

Жариков Андрей Николаевич — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры госпитальной хирургии ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (3852) 68-95-74, e-mail: zhar67@mail.ru

Момот Андрей Павлович — доктор медицинских наук, профессор, директор Алтайского филиала ФБГУ «Гематологический научный центр», рабочий телефон: 8 (3852) 68-98-80, e-mail: xyzan@yandex.ru

Арутюнян Генри Александрович — аспирант кафедры госпитальной хирургии ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», рабочий телефон: 8 (3852) 68-95-74, e-mail: genriaurum@yandex.ru

Введение. Несмотря на все достижения хирургии, несостоятельность швов полых органов и образование несформированных кишечных свищей являются причиной ранней релапаротомии и непосредственной причиной смерти 50–86 % больных после операций на органах брюшной полости [4, 8]. В условиях перитонита и программированных санаций брюшной полости происходит уменьшение количества фибрина в зоне кишечного шва с последующим ослаблением процессов регенерации и биологической герметичности [7]. Этим обуславливается высокая частота несостоятельности швов межкишечных анастомозов. В хирургии известны различные методы укрепления кишечных швов: клеевая композиция «Сульфакрилат» [2], различные фибриновые клеи [1, 6, 9], экстраперитонизация межкишечного соустья [3], использование консервированных аллотрансплантатов [5], фибрин-коллагеновой субстанции «Тахокомб» [7]. Однако, они наряду с известными достоинствами имеют ряд недостатков, например, использование химических препаратов в составе клея с возможным местным токсическим действием на стенку кишки («Сульфакрилат»), медленная полимеризация фибриновых клеев и трудоемкость приготовления («Тиссукол-Кит»), высокая стоимость («Тахокомб») и т. д.

Таким образом, разработка новых биологических компонентов для укрепления кишечных швов в условиях послеоперационного перитонита представляется актуальной.

Материалы и методы исследования. Нами проведены эксперименты на 15-ти животных (беспородные собаки весом от 20 до 28 кг) с моделированием послеоперационного распространенного перитонита (разрешение этического комитета № 3 от 11.03.2012). Все операции выполнялись на кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии АГМУ в условиях операционной и проводились под внутривенным наркозом (тиопентал натрия) с добавлением в/м раствора кетамина и сибазона. Содержание и использование лабораторных животных соответствовало морально-этическим принципам проведения биомедицинских экспериментов на животных, сформулированным Международным советом медицинских научных обществ (CIOMS) в Этическом кодексе, 1985 (раздел «Международные рекомендации по проведению медико-биологических исследований с использованием животных»); Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (2000); правилах, принятым в АГМУ.

Для создания фибриновой пломбировки в зоне кишечного шва в эксперименте использовался сухой лиофилизированный криопреципитат. Он представляет собой смесь высокомолекулярных белков, осажденных из свежзамороженной плазмы. В нем содержится фибриноген, антитромбин III, фактор XIII, фактор VIII и фибронектин. Для получения стабильного фибрина и фиксации этой композиции в месте анастомоза в сухой криопреципитат добавлялся раствор тромбина, являющийся ферментом системы свертывания крови человека, животных, участвующий на конечном этапе свертывания крови и остановки кровотечений. Продукт является белковым препаратом, полученным из карантинизированной плазмы крови человека, выпускаемым ООО фирма «Технология-Стандарт», г. Барнаул. Исследованиями, проведенными в Алтайском филиале ФБГУ «Гематологический научный центр» Минздрава России, установлено, что при взаимодействии сухого криопреципитата с раствором тромбина быстро формируется фибриновая пленка с высоким уровнем адгезии к биологическим тканям (Момот А. П.).

Животным выполнялось моделирование суточного перитонита путем вскрытия просвета подвздошной кишки и подшивания слизистой оболочки к париетальной брюшине, а также перевязкой и пересечением сегментарных сосудов брыжейки тонкой кишки. Через 24 часа

выполнялась программированная релапаротомия. После санации брюшной полости производилась резекция пораженного участка тонкой кишки с наложением однорядного межкишечного энтероэнтероанастомоза по типу «конец в конец» с использованием атравматической нити «Моносин» 4,0. Для контроля выше первого анастомоза на 20 см после предварительного пересечения тонкой кишки накладывался второй межкишечный энтероэнтероанастомоз «конец в конец» с использованием также атравматического материала. Перед погружением в брюшную полость и зашиванием срединной раны на серозный покров тонкой кишки по всей окружности одного из анастомозов (основной) делалась аппликация 30–40 г сухого лиофилизированного криопреципитата. Для получения стабильного фибрина и фиксации его по всей окружности анастомоза в сухой криопреципитат по каплям из шприца добавляли 4–5 мл стерильного тромбина 150 ед. NIH/мл, растворенного в 5 % растворе аминокaproновой кислоты. Через 20–30 с после добавления второго раствора в области межкишечного анастомоза начинали активизироваться процессы образования гелеобразной фибриновой пленки, адгезивные свойства которой постепенно увеличивались и достигали максимума к 5-й минуте (рис. 1).

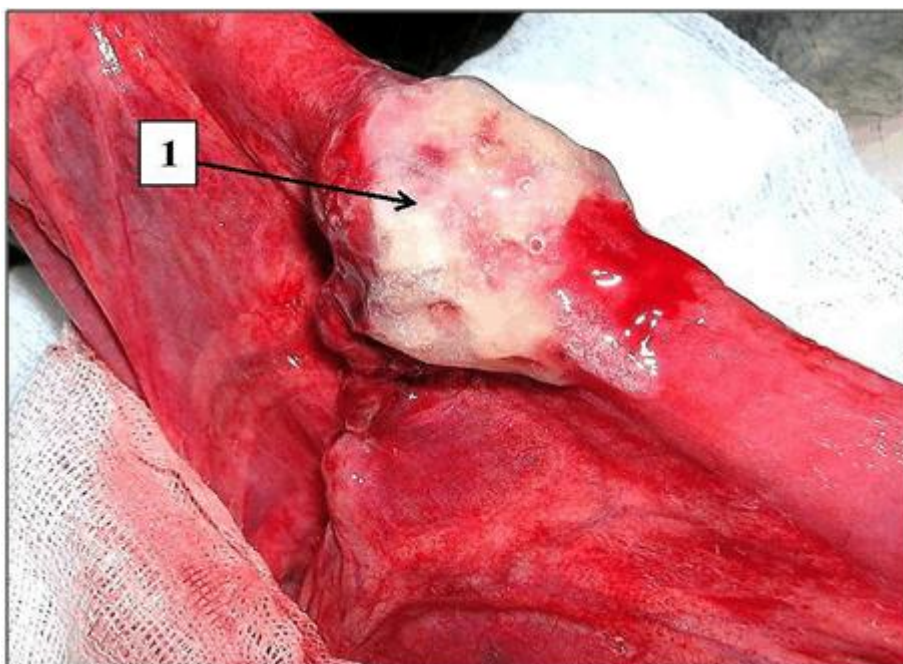


Рис. 1. Экспериментальное исследование: 1 — формирование фибриновой пленки в области энтероэнтероанастомоза с использованием сухого криопреципитата и раствора тромбина

Через 60 с в зоне анастомоза осуществлялась повторная аппликация двухкомпонентного состава (манипуляции с последовательным нанесением сухого криопреципитата и раствора тромбина) с формированием плотного фибринового сгустка в виде герметизирующей швы гелеобразной пленки. С анастомозом, послужившим контролем, никаких манипуляций не проводили. В дальнейшем тонкая кишка с основным и контрольным анастомозами погружалась в брюшную полость, и срединная рана зашивалась наглухо. На 3-и сутки послеоперационного периода животным под тиопенталовым внутриплевральным наркозом в стерильных условиях производили релапаротомию, во время которой оценивали визуальное состояние наложенных анастомозов. Учитывалась механическая прочность, соприкосновение слизистых оболочек сшиваемых сегментов кишки, проходимость соустья, интенсивность воспалительного инфильтрата в зоне шва, возникновение несостоятельности, выраженность воспалительного и спаечного процессов.

Результаты и обсуждение. Во время программированной релапаротомии признаков несостоятельности обоих анастомозов не выявлено. При визуальном осмотре было установлено, что в зоне швов основного анастомоза имелаась плотно фиксированная циркулярная фибриновая пленка белого цвета. Шовный материал под пленкой практически не виден. При попытке разделения она не отделялась или удалялась с трудом. При вскрытии просвета кишки анастомоз был свободно проходим и герметичен, воспалительные изменения выражены незначительно. Швы на контрольном анастомозе также были состоятельны, однако к области незакрытых лигатур часто фиксировалась прядь сальника или петля тонкой кишки. По линии соустья в области соприкосновения слизистых оболочек были видны кровоизлияния (рис. 2).

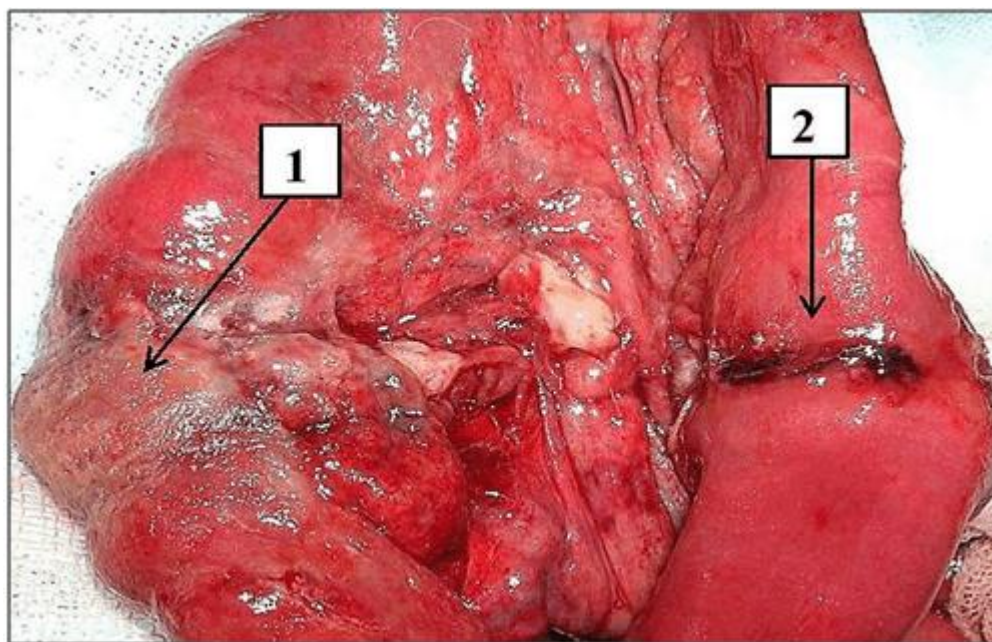


Рис. 2. Экспериментальное исследование. Релапаротомия через 48 часов: 1 — основной межкишечный анастомоз покрыт плотным фибриновым сгустком, 2 — на контрольном межкишечном анастомозе фибрина нет

В конце релапаротомии выполнялась резекция всей тонкокишечной петли с двумя анастомозами для проведения пробы на герметичность и морфологическое исследование, и накладывалось окончательное межкишечное соустье по типу «конец в конец». Материал фиксировали в 10 % нейтральном формалине. Для проверки герметичности основного и контрольного анастомозов была использована проба на гидропроницаемость. Предварительно на одинаковые резецированные концы кишки с анастомозами накладывались зажимы. Через отверстие в одном конце кишки большим шприцом подавалась вода, а через другой конец кишки через трубку удалялся воздух. После полного удаления воздуха выпускной конец кишки перекрывался. В момент, когда линия анастомоза начинала пропускать жидкость, прекращалась подача воды, и фиксировалось ее количество, потраченное для появления признаков несостоятельности. Было отмечено, что при нагнетании 60 мл жидкости происходило просачивание жидкости через швы контрольного анастомоза, тогда как в основном анастомозе это проявлялось при введении более 120 мл.

При морфологическом исследовании учитывался характер воспалительной реакции и сосудистых изменений в области швов и в искусственно созданной фибриновой пленке. Оценивались характер фибробластической реакции, регенерация слизистой оболочки. Световую микроскопию с увеличением от 10×4 до 10×100 проводили на парафиновых

срезах (8–10 мнк) с окраской препаратов по гематоксилин-эозин, Пикро-Маллори 2 (рис. 3).

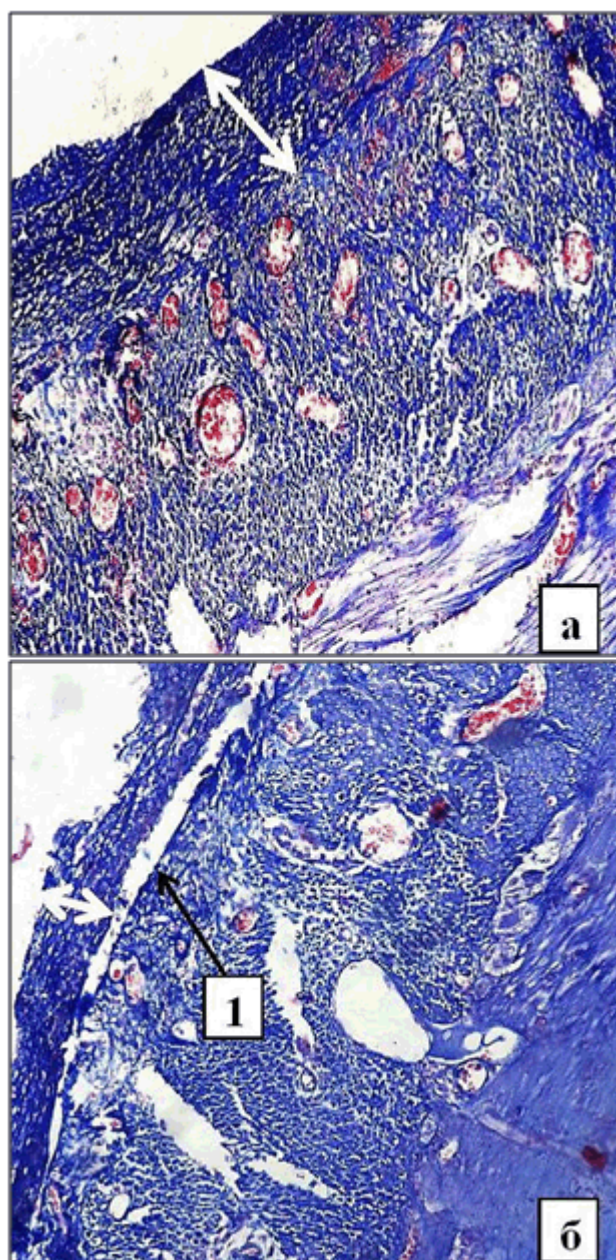


Рис. 3. Экспериментальное исследование. Морфологическое исследование основного (а) и контрольного (б) межкишечных анастомозов. Двойная стрелка — толщина фибрина, 1 — отслоение фибрина на фоне отека. Окраска Пикро-Маллори 2, увеличение $\times 10$

При гистологическом исследовании основного анастомоза с герметизацией швов отмечено наличие на серозной оболочке плотных слоев фибрина, равномерно фиксированных на поверхности с большим количеством сосудов в подлежащих тканях. На серозной оболочке анастомоза без укрепления кишечных швов (контрольный) также имелись фибриновые наложения, однако толщина их была значительно меньше по сравнению с основным соустьем, кроме того вследствие отека они были отслоены от серозной оболочки и имели разорванный вид. Созданная искусственная фибриновая пленка основного анастомоза в глубоких слоях имела ячеистую структуру с незначительной лейкоцитарной инфильтрацией в ней и в серозной оболочке (рис. 4а).

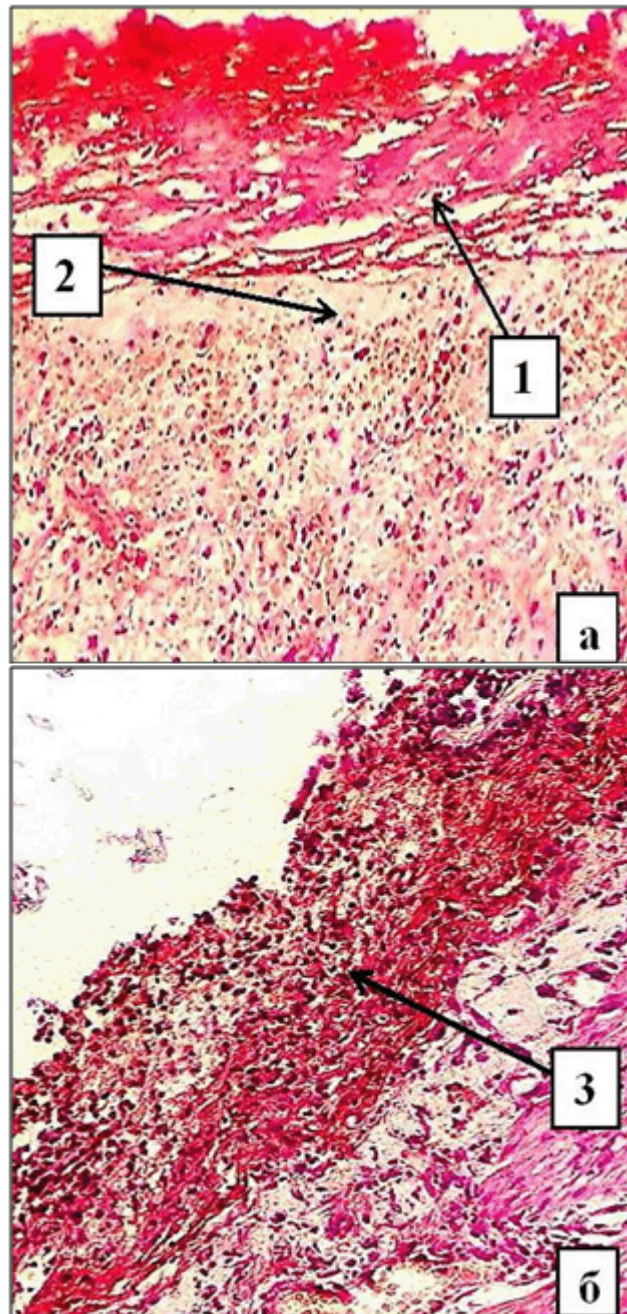


Рис. 4. Экспериментальное исследование. Морфологическое исследование основного (а) и контрольного (б) межкишечных анастомозов. Фибриновая пленка (1) покрывает серозную оболочку кишки (2). Лейкоцитарная инфильтрация (3). Окраска гематоксилин-эозин, увеличение $\times 200$

При морфологическом исследовании контрольного анастомоза самостоятельно образовавшиеся фибриновые наложения на серозной оболочке были плотные с более выраженной в них лейкоцитарной инфильтрацией.

В последующем в хирургической клинике метод герметизации кишечных швов с использованием криопреципитата и тромбина был применен у 21-го пациента с послеоперационным перитонитом (патент № 2464942 от 27.10.2012). В основной группе после выполнения резекции кишки при плановых санациях брюшной полости проводилось отсроченное межкишечное анастомозирование. В контрольной группе выполнялось традиционное хирургическое лечение, включающее первичное

анастомозирование без дополнительного укрепления кишечных швов. Наиболее частыми заболеваниями в структуре причин послеоперационного перитонита явились острая спаечная кишечная непроходимость (20,3 %), мезентериальный тромбоз (17,4 %), острые перфорации тонкой кишки на фоне болезни Крона или ангиодисплазии (13,8 %), травмы органов брюшной полости (11,7 %). Особенно тяжело послеоперационный перитонит протекал у 10-ти (21,7 %) больных с некрозом тонкой кишки на фоне мезентериального тромбоза, который в ряде случаев сочетался и с некрозом правой половины ободочной кишки. Всего было прооперировано 30 больных с энтероэнтероанастомозом (65,2 %) и 16 больных с энтеротрансверзоанастомозом (34,8 %). Группы были сопоставимы по полу, возрасту, тяжести состояния (APACHE II — баллы), количеству реопераций до наложения анастомоза (см. табл.).

Результаты лечения больных послеоперационным перитонитом с укреплением и без укрепления межкишечного анастомоза препаратами, образующими фибрин

Показатели	Группы больных	
	1 группа (n = 21)	2 группа (n = 25)
APACHE II (баллы)	14,7 ± 0,7	15,9 ± 0,2
Количество реопераций до наложения анастомоза	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,3
Количество реопераций после наложения анастомоза	1,5 ± 0,2*	3,2 ± 0,3*
Несостоятельность применяемых анастомозов	2 ± 0,3*	7 ± 0,2*
Летальность, %	3 (15 %)*	8 (32 %)*

Примечание: * — значимость различий в группах, $p < 0,05$

В послеоперационном периоде было установлено, что в основной группе с отсроченным анастомозированием и укреплением анастомозов с использованием сухого криопреципитата и раствора тромбина имело место более значимое снижение количества плановых санаций брюшной полости, случаев несостоятельности соустья и летальности.

Выводы

1. Применяемый состав препаратов для повышения герметизации межкишечных анастомозов, состоящий из сухого лиофилизированного криопреципитата и раствора тромбина, обладает способностью к быстрому образованию фибриновой пленки, гомологичностью и безопасностью по отношению к тканям человека, хорошо проникает в зону шва и заполняет отверстия от вколов иглы, позволяет равномерно закрыть анастомоз по окружности.
2. При нанесении на раневую поверхность тонкой кишки биологического состава препаратов в зоне кишечных швов образуется фиксированная фибриновая пленка, которая к четвертым суткам послеоперационного периода сохраняет хороший адгезивный эффект.
3. Проведение проб на гидропроницаемость, морфологических исследований основного и контрольного соустья показало более надежную герметизацию анастомоза, в укреплении которого использовались препараты, образующие фибрин.

Список литературы

1. Применение биологического клея «Биоклей-ЛАБ» для профилактики несостоятельности анастомозов на органах желудочно-кишечного тракта / М. Д. Дибиров, Б. С. Брискин, В. С. Акопян [и др.] // *Анналы хирургии*. — 2008. — № 2. — С. 31–34.
2. Марченко В. Т. Изучение свойств биологического клея «Сульфакрилат» на кишечную стенку в эксперименте / В. Т. Марченко, Н. Ю. Изупова, А. В. Марченко // *Материалы XII науч.-практич. конф. «Актуальные вопросы современной медицины»*. — Новосибирск, 2002. — С. 112.
3. Оценка способов профилактики третичного перитонита путем оментизации и экстраперитонизации стенки тонкой кишки со швами при фибринозно-гнойном перитоните в эксперименте / Д. В. Морозов, В. В. Атаманов, К. В. Атаманов [и др.] // *Сиб. мед. обозрение*. — Новосибирск. — 2011. — № 1. — С. 89–91.
4. Прудков М. И. Хирургическое лечение распространенного перитонита / М. И. Прудков, О. В. Киршина, А. В. Токарев // *Материалы 11 съезда хирургов Российской Федерации*. — Волгоград, 2011. — С. 548.
5. Хайдарова Д. К. Обоснование выбора метода укрепления межкишечных анастомозов аллотрансплантатами, консервированными в смеси альдегидов и флавоноидов : дис. ... канд. мед. наук : 14.00.27 / Д. К. Хайдарова. — Душанбе, 2000. — 158 с.
6. Черноусов А. Ф. Опыт применения фибринового клея для лечения несформированных свищей желудочно-кишечного тракта / А. Ф. Черноусов, Т. В. Хоробрых, О. В. Ищенко // *Хирургия*. — 2006. — № 9. — С. 21–24.
7. Шуркалин Б. К. Проблема надежности кишечного шва / Б. К. Шуркалин, В. А. Горский, И. В. Леоненко // *Consilium medicum*. — 2004. — Т. 6, № 6. — С. 17–25.
8. A multivariate analysis of factors contributing to leakage of intestinal anastomoses / R. Golub, R. W. Golub, R. Jr. Cantu, H. D. Stein // *J. Am. Coll. Surg.* — 1997. — Vol. 184, N 4. — P. 364–372.
9. Fibrin sealant: clinical use and the development of the University of Virginia Tissue Adhesive Center / P. D. Mintz. [et al.] // *Ann. Clin. Lab. Sci.* — 2001. — Vol. 31, N 1. — P. 108–118.

EXPERIMENTAL TECHNOLOGY OF SEALING ENTERIC ANASTOMOSIS AT POSTOPERATIVE PERITONITIS THE BLOOD PREPARATIONS FORMING FIBRIN

V. G. Lubyansky¹, A. N. Zharikov¹, A. P. Momot², G. A. Arutyunyan¹

¹*SBEI HPE «Altai State Medical University of Ministry of Health» (Barnaul c.)*

²*Altai branch FSBE «Hematological center of science» Minhealthsocdevelopment (Barnaul c.)*

A way of biological sealing of interintestinal anastomoses with dry lyophilized cryoprecipitate and thrombinum solution is developed in an experimental study on model of postoperative

widespread peritonitis. The comparative assessment of one-row interintestinal enteroenteroanastomoses, imposed on the «extremity in the extremity» type with strengthening by artificially created fibrinous Membranula (main) and without strengthening (control) is given. It is established that the application of received fibrinous glue increases tightness of an applied anastomosis in comparison with the anastomoses which are used without additional protection in the conditions of peritonitis.

Keywords: postoperative peritonitis, anastomosis, cryoprecipitate, fibrin.

About authors:

Lubyansky Vladimir Grigoryevich — doctor of medical sciences, professor, head of hospital surgery chair at SBEI HPE «Altai State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (3852) 68-96-74, e-mail: lvg51@mail.ru

Zharikov Andrey Nikolaevich — candidate of medical sciences, assistant of hospital surgery chair at SBEI HPE «Altai State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (3852) 68-95-74, e-mail: zhar67@mail.ru

Momot Andrey Pavlovich — doctor of medical sciences, professor, director of Altai branch FSBE «Hematological center of science» Minhealthsocdevelopment, office phone: 8(3852) 689-800, e-mail: xyzan@yandex.ru

Arutyunyan Henry Aleksandrovich — post-graduate student of hospital surgery chair at SBEI HPE «Altai State Medical University of Ministry of Health», office phone: 8 (3852) 68-95-74, e-mail: genriaurum@yandex.ru

List of the Literature:

1. Application of biological glue called Bioglue-LAB for prophylaxis of incompetence of anastomoses on organs of gastrointestinal tract / M. D. Dibirov, B. S. Briskin, V. S. Akopyan [etc.] // Surgery Annals. — 2008 . — № 2. — P. 31-34.
2. Marchenko V. T. Studying of properties of biological Sulfakrilat glue on intestinal wall in experiment / V. T. Marchenko, N. Y. Izupova, A. V. Marchenko // Materials XII scient. — practic. conf. «Topical issues of modern medicine». — Novosibirsk, 2002. — P. 112.
3. Assessment of ways of prophylaxis concerning tertiary peritonitis by omentization and extraperitonization of wall of small bowel with raphe at fibrinopurulent peritonitis in experiment / D. V. Morozov, V. V. Atamanov, K. V. Atamanov [etc.] // Sib. medical review. — Novosibirsk. — 2011 . — № 1. — P. 89-91.
4. Prudkov M. I. Surgical treatment of widespread peritonitis / M. I. Prudkov, O. V. Kirshina, A. V. Tokarev // Materials 11 of congress of surgeons of the Russian Federation. — Volgograd, 2011. — P. 548.
5. Khaydarova D. K. Justification of choice concerning method of strengthening of interintestinal anastomoses by the allotransplants preserved in admixture of aldehydes and flavonoids: dis. ... cand. medical sciences: 14.00.27 / D. K. Khaydarova. — Dushanbe, 2000. — 158 P.
6. Chernousov A. F. Experience of application of fibrinous glue for treatment of unformed fistulas of gastrointestinal tract / A. F. Chernousov, T. V. Khorobrykh, O. V. Ishchenko // Surgery. — 2006 . — № 9. — P. 21-24.

7. Shurkalin B. K. Problem of reliability of intestinal raphe / B. K. Shurkalin, V. A. Gorsky, I. V. Leonenko // *Consilium medicum*. — 2004 . — V. 6, № 6. — P. 17-25.
8. A multivariate analysis of factors contributing to leakage of intestinal anastomoses / R. Golub, R. W. Golub, R. Jr. Cantu, H. D. Stein // *J. Am. Coll. Surg.* — 1997. — Vol. 184, N 4. — P. 364–372.
9. Fibrin sealant: clinical use and the development of the University of Virginia Tissue Adhesive Center / P. D. Mintz. [et al.] // *Ann. Clin. Lab. Sci.* — 2001. — Vol. 31, N 1. — P. 108–118.