

Коллектив авторов, 2009  
УДК 616.34-007272:616- 053.2/.5

## ТЕЧЕНИЕ СПАЕЧНОГО ПРОЦЕССА БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ

С.В. Минаев, В.Ф. Доронин, А.Н. Обедин, С.В. Тимофеев  
Ставропольская государственная медицинская академия,  
Ставрополь, Российская Федерация

**Д**о настоящего времени проблема спаечной кишечной непроходимости все еще остается недо конца решенной проблемой. Создание оптимальных условий для снижения воспалительно-го и спаечных процессов – основной резерв улучшения ближайших результатов в абдоминальной хирургии [1, 6].

Спаечный процесс в брюшной полости и развивающиеся в этой связи осложнения занимают ведущее место в структуре причин заболеваемости и смертности в абдоминальной хирургии. Патогенез образования спаек – многофакторный и недостаточно изученный процесс. Любое оперативное вмешательство на органах брюшной полости сопровождается выпадением фибрина [9, 17]. Последний может приводить к развитию внутрибрюшных сращений, являясь одной из главных причин кишечной непроходимости. Несмотря на прогресс в лечении внутрибрюшных спаек, число осложнений и случаев развития кишечной непроходимости остается высоким. В литературных источниках практически отсутствуют работы по изучению факторов ангиогенеза в возникновении интраабдоминального спаечного процесса [7, 18]. Вместе с этим исследование данного процесса является очень важным для решения вопросов лечения и профилактики спаек после хирургического вмешательства.

Целью исследования было изучение патогенеза спаечного процесса в брюшной полости и проведение мероприятий, направленных на снижение фиброзного процесса в абдоминальной хирургии.

**Материал и методы.** Клиническую часть исследования осуществляли на клинической базе хирургических отделений краевой детской клинической больницы г. Ставрополя. Под нашим наблюдением находилось 126 детей с кишечной непроходимостью, которые ранее были оперированы по поводу: острого аппендицита - 86 (68,3%), тупой травмы живота – 11 (8,7%), инвагинации кишечника – 27 (21,4%), синдрома Пейтц-Еггерса – 2 (1,6%). Все больные были разделены на 2 группы - основная (57 пациентов) и контрольная (69 пациентов). Соотношение мальчиков и девочек было примерно одинаковым и составляло 1,2:1. Средний возраст больных был 7,6±0,6 лет. В послеоперационном периоде дети, наряду со стандартным лечением, получали противоспаечную терапию: в контрольной группе в виде моноферментной физиотерапии (элек-

трофорез с гиалуронидазой 64 ЕД в течение 10 суток), в основной - полиферментную терапию препаратом Вобэнзим (Германия) в течение 4 недель по 1 драже на 6 кг массы тела 3 раза в сутки.

Эффективность лечения основывалась на следующих критериях: динамика общих и местных симптомов, длительность лечения в стационаре; лабораторные данные (общий анализ крови и мочи, биохимическое исследование, С- реактивный белок), а также исследование качества жизни.

Экспериментальную часть исследования проводили на 70 крысах с массой 150-180 г. Моделирование спаечного процесса в брюшной полости осуществляли под кислородно-эфирной смесью, после выполнения срединной лапаротомии производили десерозирование стенки толстой кишки и брюшины передней брюшной стенки 75° этиловым спиртом. Животные были разделены на две равные группы по 35 крыс в каждой. В опытной группе проводилось зондовое введение полиферментного препарата Вобэнзим, растворенного в 2 мл стерильного физиологического раствора. Полиэнзимный препарат вводили при помощи шприца через металлический зонд в желудок за 30 минут до приема пищи 2 раза в сутки в течение 21 дня в дозе 100 мг/кг в сутки. В состав Вобэнзима входили: Панкреатин 345 P.E.P.-U (100 мг), Трипсин 360 F.I.P.-U (24 мг), Химотрипсин 300 F.I.P.-U (1 мг), Амилаза 50 F.I.P.-U (10 мг), Липаза 34 F.I.P.-U (10 мг), Папаин 90 F.I.P.-U (60 мг), Бромелаин 225 F.I.P.-U (45 мг), Рутин (50 мг). В контрольной группе животным проводили зондовое введение физиологического раствора. Животные выводились из эксперимента на 1, 3, 7, 21, 28 и 90 сутки послеоперационного периода. После секционного оперирования степени развития спаечного процесса выполняли забор париетальной и висцеральной брюшины с последующим изготовлением срезов толщиной 8-10 микрон, которые окрашивали гематоксилином и эозином; и пикрофуксином по Ван-Гизону.

Иммуногистохимическое исследование проводили на операционном материале на депарафинированных срезах толщиной 4-5мкм, расположенных на предметных стеклах, покрытых L-полилизинном. Использовали моноклональные антитела к белку базальной мембраны - Ламинину (Laminin  $\gamma$ 1, R&D Systems, Inc.), к факторам ангиогенеза: к васкулоэндотелиальному фактору (VEGF, R&D Systems, Inc.) и к основному фактору роста

фибробластов (bFGF, R&D Systems, Inc.). Контрольная реакция проводилась без использования первичных специфических антител (негативный контроль).

Результаты окрашиваний оценивались для VEGF и bFGF. положительной реакцией считали окрашивание клеточной мембраны или/и цитоплазмы эндотелиоцита сосуда в желто-коричневый цвет. Было исследовано не менее 5 полей зрения в случайном порядке под световым микроскопом на увеличении  $\times 400$ , число клеток накапливающих фактор ангиогенеза подсчитывали в 500 эндотелиоцитах. Регистрация результата проводилась по следующим критериям [2]: 0%-25% - отрицательный результат (-); 26%-50% - слабо положительный (+); 51%-75% - умеренно положительный (++) ; 76%-100% - резко положительный результат (+++).

Исследование Ламинина осуществляли следующим образом: резко положительный результат (+++) – Ламинин в виде выраженной темно-коричневой жирной линии по базальной мембране капилляра; умеренно положительный результат (++) – выраженная коричневая прерывистая жирная линия по базальной мембране капилляра; слабо положительный результат (+) – Ламинин в виде поверхностного фрагмента коричневого окрашивания по базальной мембране капилляра и отрицательный результат (-) – отсутствие Ламинина [2].

Статистический анализ осуществлялся методами вариационной статистики с использованием Хи-квадрат-теста, критерия Вилкоксона и критерия Стьюдента.

**Результаты и обсуждение.** Всем пациентам с явлениями ранней спаечной кишечной непроходимости лечение начинали с проведения комплекса консервативных мероприятий (постановка назогастрального зонда, инфузионная терапия, антихолинэстеразные средства, очистительная или гипертоническая клизма). Отсутствие эффекта от проводимого лечения являлось показанием к проведению лапаротомии с висцеролизом и устранением причины непроходимости.

Длительность послеоперационного периода в стационаре в основной группе была короче ( $17,9 \pm 3,7$  суток), чем в контрольной ( $19,4 \pm 1,4$  суток). Время заживления операционной раны было короче в основной группе ( $10,2 \pm 1,3$  суток), чем в контрольной группе ( $12,1 \pm 0,9$  суток). Наряду с локальным снижением активности воспалительного процесса, в основной группе к 2-4 суткам происходила нормализация температуры тела, а в контрольной группе лихорадка держалась на протяжении 3-6 суток. Болевой синдром купировался в основной группе достоверно раньше - к  $3 \pm 0,3$  суткам ( $p < 0,05$ ) после оперативного вмешательства.

У 5-х больных контрольной группы, которым проводилось комплексное лечение с включением моноферментной терапии, развилась: ранняя (у 1 ребенка) и поздняя (у 3 детей) спаечная кишечная непроходимость, нагноение послеоперационной раны-1, расхождение ее краев-1. В основной группе отмечался 1 случай поздней спаечной кишечной непроходимости.

Применение в комплексном лечении полиферментной терапии у пациентов со спаечной кишечной непроходимостью позволило уменьшить длительность послеоперационного периода и количество послеоперационных осложнений.

Изучение патогенеза спаечного процесса в экспериментальных условиях выявило, что в контрольной группе распространенность спаечного процесса была значительно более выражена по сравнению с опытной группой. Количество животных с отсутствием спаек в опытной группе было достоверно больше, чем в конт-

рольной группе ( $\chi^2=23,1$ ,  $df = 2$ ,  $p = 0.001$ ).

Оперативное вмешательство в исследуемых группах приводило к выпадению фибрина в брюшной полости. При этом до 3-х суток после начала эксперимента на большей части висцеральной брюшины отмечали десквамацию и разрушение эпителиальных клеток в обеих группах животных. Подлежащая соединительнотканная строма была отечна и разрыхлена с выраженными сосудистыми нарушениями (гиперемия сосудов, стазы, тромбоз и кровоизлияния). В контрольной группе сохранялись отек и гиперемия сосудов, кровоизлияние, диффузная инфильтрация серозной оболочки полиморфноядерными лейкоцитами, также имелась эозинофильная инфильтрация. В опытной группе в подлежащей строме брюшины отмечалось уменьшение отека при сохраняющихся сосудистых нарушениях.

Иммуногистохимическое исследование также выявило снижение спаечного процесса в брюшной полости в опытной группе. Сравнение двух групп показало, что выраженность накопления VEGF в опытной группе была меньше, чем в контрольной группе. Вместе с этим, высокая концентрация bFGF в эндотелиоцитах и Ламинина в базальной мембране отмечалась в контрольной группе. Следует отметить, что в опытной группе концентрация bFGF и Ламинина была максимальной к 7-м суткам, а в контрольной группе - к 21-м суткам.

Факторы ангиогенеза активируют или ускоряют развитие кровеносных капилляров, из которых VEGF и bFGF представляют собой два вида различных по действию факторов. VEGF является основным фактором ангиогенеза, который непосредственно влияет на развитие кровеносных сосудов, а выраженность его накопления в тканях тесно связана с плотностью капилляров и видом новообразованных сосудов [14, 16].

FGF является стимулятором ангиогенеза, который поддерживает и стимулирует дифференцировку клеток различных нейрональных типов *in vivo* и *in vitro*. Помимо основной и кислой форм FGF, семейство включает фактор роста кератиноцитов и фактор роста эндотелия сосудов [2, 9, 11].

Внеклеточный матрикс (ВКМ)- это вещество, окружающее подлежащую соединительную ткань эпителиальных и эндотелиальных клеток, которое обеспечивает механическую поддержку для целостности всего организма. Образование ВКМ является одним из неотъемлемых условий для васкуляризации. На ранних этапах заживления тканей образующаяся базальная мембрана состоит в основном из сети Ламинина и не содержит коллагена типа IV. Ламинин, адгезивный гликопротеин, который выступает в роли основного цементирующего субстрата в процессе ангиогенеза [10, 13].

Ангиогенез является неотъемлемым этапом при формировании спаек, патологический ангиогенез в случае, если эффект стимулирующих факторов превосходит эффект ингибирующих. Кроме того, следует отметить, что эндотелиоциты делятся и внедряются в базальную мембрану, а затем подвергаются дифференцировке и участвуют в формировании капилляров [4, 15]. Этот процесс контролируется ангиогенными молекулами, а также другими факторами, такими, как распавшиеся ферменты, которые опосредуют вышеуказанный процесс. Прием смеси ферментов, содержащей бромелаин, трипсин, химотрипсин и папаин, стимулирует клеточную экспрессию факторов роста, VEGF, bFGF, PDGF-BB и TIMP-1. Проведенное исследование показало [3], что полиферментный препарат Вобэнзим увеличивает уровень ингибитора ангиогенеза.

неза (TIMP-1) и снижает уровень стимуляторов ангиогенеза в крови (VEGF и bFGF).

Основным звеном физиологической профилактики спайкообразования является целостность брюшины. Последняя отвечает за выработку плазминогена-активирующего фактора, способствующего лизису фибрина. Наиболее активно процесс фибринолиза происходит в первые 3-4 суток после выпадения фибрина в очаге воспаления. Если же фибринолитическая активность не восстанавливается (из-за деструкции мезотелия), то продолжающееся снижение уровня плазминогена-активирующего фактора на поверхности брюшины приводит к организации фибрина и образованию коллагеновой ткани [5, 19].

Гидролитические ферменты широко применяются в медицинской практике путем приема per os при различных заболеваниях. Комплексные ферментативные препараты оказывают лучший эффект, чем моноферментные препараты. Известно, что бромелаин, папаин и амилаза, которые являются типичными протеазами, стимулируют выделение цитокинов in vitro мононуклеарными клетками периферической крови. Кроме этого, бромелаин расщепляет CD44 и усиливает ответную реакцию на трипсин. Как следствие этих процессов активируются Т-лимфоциты и макрофаги, которые снижают воспалительную реакцию [8, 12].

Проведенное нами клинико-экспериментальное исследование показало, что образование спаек в брюшной полости связано с процессом формирования внеклеточного матрикса (Ламинин) и факторов ангиогенеза (васкулоэндотелиального фактора и фактора роста фибробластов). Одновременное повышение концентрации данных факторов в раннем послеоперационном периоде предотвращает развитие спаечного процесса в брюшной полости. Поздняя активация развития внеклеточного матрикса на фоне высоких значений факторов ангиогенеза приводит к развитию осложнений после интраабдоминального вмешательства. Благодаря полученным данным появляется возможность целенаправленного проведения лечебных и профилактических мероприятий.

Развитие спаечного процесса в брюшной полости зависит от ряда причин как со стороны органов, вовлеченных в патологический процесс, так и от внеорганных изменений [5]. Можно выделить 3 группы причин, влияющих на развитие интраабдоминального фиброза: 1) состояние и патоморфологические процессы, происходящие в области оперируемых органов (воспаление тканей; технические погрешности в виде чрезмерной мобилизации стенки органа и грубого наложения швов; внутрисстеночное и общее нарушение кровообращения; повышение внутрикишечного давления; гипопроотеинемия; локальное инфицирование и др.); 2) неблагоприятные интраоперационные и послеоперационные факторы; 3) анатомо-физиологические особенности ребенка.

Для профилактики образования спаек в брюшной полости всем детям в нашей работе применяли комплекс мероприятий, включавший в себя: минимальную травматизацию брюшины во время операции; ушивание десерозированных участков кишки; профилактику фибринообразования (интраоперационный лаваж), воспалительной реакции брюшины (антибиотики, противовоспалительные средства) и тканевой ишемии (новокаиновая блокада, инфузия дезагрегантов и др.). Патогенетическое применение ферментов в послеоперационном периоде обосновывалось протеолитическим и противовоспалительным действием энзимов, что позволило уменьшить воспаление и отек в области проведенного оперативного вмешательства

с одновременным сокращением длительности болевого синдрома.

**Заключение.** Таким образом, использование в послеоперационном периоде полиферментной терапии позволяет добиться уменьшения длительности послеоперационного периода, а также снизить количество гнойно-воспалительных и фиброзных осложнений у детей с острой хирургической патологией органов брюшной полости. Профилактика развития спаечного процесса в брюшной полости после оперативного вмешательства обеспечивается благодаря синхронному формированию базальной мембраны брюшины (Ламинин) и экспрессии факторов ангиогенеза (VEGF и bFGF).

**Финансовая поддержка: Грант Президента Российской Федерации для государственной поддержки молодых российских ученых докторов наук МД-84.2008.7**

## Литература

- Исаков, Ю.Ф. Абдоминальная хирургия у детей / Ю.Ф. Исаков, Э.А. Степанов, Т.В. Красовская/. Руководство. - М.: Медицина, 1988. - 416 с.
- Куюн, Я.О. Снижение фиброгенеза: иммуногистохимическое исследование парной биопсии клеток печени после проведения терапии ламивудином у пациентов с хроническим гепатитом В./ Я.О. Куюн, З.Д. Гудман, Ж.Л. Диегнаст и др. // Journal of Haepathology. -2001. - Т. 35. - №9. - С. 749-755.
- Минаев, С.В. Полиферментные препараты в профилактике спаечного процесса в брюшной полости у детей. / С.В. Минаев, Т.К. Немилова, Г.Ю. Кнорринг // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. - 2006.- Т. 165. - №1. - С. 49-54.
- Харин, Г.М. Иммуногистохимический анализ динамики заживления кожных ран. / Г.М. Харин, Ю.А. Челышев, Т.Р. Джорджия и др. // Российский биомедицинский журнал. - 2003. - Т. 4. - №1. - С. 93-94.
- Шуркалин, Б.К. Актуальные вопросы хирургии. Проблема надежности кишечного шва. / Б.К. Шуркалин, В.А. Горский, И.В. Леоненко // Consilium Medicum.- 2004.- Том 6, №6. - С. 35-39.
- Beck, D.E. Incidence of small-bowel obstruction and adhesiolysis after open colorectal and general surgery. / D.E. Beck, F.G. Opelka, H.R. Bailey et al.// Dis Colon Rectum.- 1999. - Vol. 42. - P. 241-248.
- Bulbulla, N. Can angiotensin converting enzyme inhibitors prevent postoperative adhesions? / N. Bulbulla, Y.S. Ilhan, C. Kirkil et al. // J Surg Res. - 2005. - Vol. 125. - P. 94-97.
- Carmeliet, P. Angiogenesis in health and disease. / P. Carmeliet // Nature Medicine. -2003. - Vol. 9. - №8. - P. 653 - 660.
- Diegelmann, R.F. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. / R.F. Diegelmann, M.C. Evans // Front. Biosci. - 2004. - Vol. 9. - №1. - P. 283-289.
- Haas, T.L. Matrix metalloproteinase activity is required for activity-induced angiogenesis in rat skeletal muscle. / T.L. Haas, M. Milkiewicz, S.J. Davis, A.L. Zhou, S. Egginton et al. // Am J Physiol Heart Circ Physiol.- 2000. - Vol. 279. - H1540-H1547.
- Kohyama, T. IL-4 and IL-13 induce chemotaxis of human foreskin fibroblasts, but not human fetal lung fibroblasts. / T. Kohyama, X. Liu, F.Q. Wen et al. // Inflammation. - 2004. - Vol. 28. - №1. - P. 33-37.
- Manhart, N. Administration of proteolytic enzymes bromelain and trypsin diminish the number of CD4+ cells and the interferon- $\gamma$  response in Peyer's patches and spleen in endotoxemic balb/c mice. / N. Manhart, R. Akomeah, H. Bergmeister et al.// Cell. Immunology. - 2002. - Vol. 215. - №2. - P. 113-119.
- Mirastschijski, U. Effect of a matrix metalloproteinase activity and TNF-alpha converting enzyme inhibitor on intra-abdominal adhesions. / U. Mirastschijski, K. Johannesson, B.

- Jeppsson et al. // Eur Surg Res.- 2005. - Vol. 37.- P. 68-75.
14. Molinas, C.R. Role of vascular endothelial growth factor and placental growth factor in basal adhesion formation and in carbon dioxide pneumoperitoneum-enhanced adhesion formation after laparoscopic surgery in transgenic mice. / C.R. Molinas, R. Campo, M. Dewerchin et al. // Fertil Steril.- 2003.- Vol. 80 Suppl 2.- P. 803-811.
  15. Oettgen, P. Transcriptional regulation of vascular development. / P. Oettgen // Circ. Res.- 2001. - Vol. 89. - №4. - P. 380-388.
  16. Pugh, C.W Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. / C.W. Pugh, P.J. Ratcliffe // Nat. Med.- 2003.

- Vol. 9. - №10. - P. 677- 684.
17. Schuster, T.G. Postoperative ileus after abdominal surgery. / T.G. Schuster, J.E. Montie // Urology.- 2002.- Vol. 59. - №4.- P. 465-471.
  18. Wagoner, L.E. Angiogenesis Protein Therapy with Human Fibroblast Growth Factor (FGF-1): Results of a Phase I Open Label. / L.E. Wagoner, W. Merrill, J. Jacobs et al.// Circulation 2007. - Vol. 116. - №6. - P. 443-446.
  19. Williams, R.S. Effect of transforming growth factor beta on postoperative adhesion formation and intact peritoneum. / R.S. Williams, A.M. Rossi, N. Chegini et al. // J Surg Res.- 1992.- Vol. 52.- P. 65-70.

## ТЕЧЕНИЕ СПАЕЧНОГО ПРОЦЕССА БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ В ДЕТСКОМ ВОЗРАСТЕ

С.В. МИНАЕВ, В.Ф. ДОРОНИН,  
А.Н. ОБЕДИН, С.В. ТИМОФЕЕВ

Спаечный процесс в брюшной полости и развивающиеся в этой связи осложнения занимают ведущее место в структуре причин заболеваемости и смертности в абдоминальной хирургии. Под нашим наблюдением находилось 126 детей с кишечной непроходимостью. Все больные были разделены на 2 группы - основная (57 пациента) и контрольная (69 пациентов). У 5-х больных в контрольной группе развилась спаечная кишечная непроходимость - у 4 детей, нагноение послеоперационной раны - 1, расхождение ее краев - 1. В основной группе, в которой проводилось комплексное лечение с включением полиферментной терапии, отмечался 1 случай поздней спаечной кишечной непроходимости. Экспериментальное исследование по моделированию спаечного процесса в брюшной полости проводилось у 70 крыс. В основной группе (35 животных) проводилось зондовое введение полиферментного препарата Вобэнзим. В контрольной группе распространенность спаечного процесса была достоверно более выражена по сравнению с опытной группой. Выраженность накопления VEGF при иммуногистохимическом исследовании в основной группе была меньше, чем в контрольной группе. В контрольной группе отмечалась высокая концентрация bFGF в эндотелиоцитах и Ламинина в базальной мембране. Концентрация bFGF и Ламинина в основной группе были максимальными к 7-м суткам, а в контрольной группе - к 21-м суткам. Таким образом, образование спаек в брюшной полости связано с синхронностью формирования внеклеточного матрикса (ламнинин) и экспрессией факторов ангиогенеза (васкулоэндотелиального фактора и фактора роста фибробластов). Гидролитические ферменты позволяют синхронизировать процесс заживления брюшины и уменьшают спаечный процесс.

**Ключевые слова:** кишечная непроходимость, ангиогенез, спайки, дети

## THE PERITONEAL ADHESIONS IN CHILDREN

MINAEV S.V., DORONIN V.F.,  
OBEDIN A.N., TIMOFEEV S.V.

Intraperitoneal adhesions remain a common problem after abdominal surgery. Postoperative adhesions can result in serious complications, including intestinal obstruction, infertility and pain. The underlying etiology of adhesion formation is not fully understood. The clinical investigation included 126 patients with acute adhesive intestinal obstruction. All patients were divided into two groups: polyenzyme group and monoenzyme group. In the polyenzyme group was 1 case of intestinal obstruction. In monoenzyme group there were 4 children of intestinal obstruction. The experiment was conducted with 70 adult rats which it divided into two equal groups: the main and the control group. In study was to investigate the role of factors of angiogenesis (VEGF, bFGF) and extracellular matrix (Laminin) in abdominal fibrosis in rats with cecal abrasion model. In the main group animals received a polyenzyme preparation. The proteolytic enzymes induce cells to express, de novo, the vascular endothelial growth factor, fibroblast growth factor and Laminin. As a consequence of these effects activation of T-lymphocytes and macrophages, which mediate the inflammatory response, will be down-regulated. Our study has found that level of VEGF, bFGF and Laminin in abdominal cavity which we detected by Immunohistochemistry were different between groups which have high level and absent of peritoneal adhesions. Also the level of factors of angiogenesis was normalized rapidly through the polyenzyme therapy.

**Key words:** intestinal obstruction, angiogenesis, peritoneal adhesions, children