

На правах рукописи

Вайнер Юрий Сергеевич

ТОНКОКИШЕЧНЫЙ АНАСТОМОЗ В УСЛОВИЯХ ПЕРИТОНИТА
(экспериментально-анатомическое исследование)

14.01.17 – хирургия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2018

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

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, доцент

Атаманов Константин Викторович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор

Баранов Андрей Игоревич

(Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей – филиал федерального государственного бюджетного образовательного учреждения дополнительного профессионального образования «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Министерства здравоохранения Российской Федерации, заведующий кафедрой хирургии, урологии, эндоскопии и детской хирургии)

доктор медицинских наук, доцент

Жариков Андрей Николаевич

(Алтайский государственный медицинский университет, профессор кафедры факультетской хирургии имени профессора И. И. Неймарка, госпитальной хирургии с курсом хирургии ДПО, г. Барнаул)

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2018 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.062.03 на базе Новосибирского государственного медицинского университета (630091, Новосибирск, Красный проспект, д. 52; тел.: (383) 229-10-83)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, д. 52; <http://ngmu.ru/dissertation/430>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2018 г.

Учёный секретарь

диссертационного совета

М. Н. Чеканов

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы. Распространенный перитонит до настоящего времени является актуальной проблемой абдоминальной хирургии. Несмотря на широкое клиническое внедрение современных методов санации брюшной полости, тактики рациональной антибактериальной терапии, экстракорпоральной детоксикации и т. д., летальность при заболевании достигает 50 % и более [Lin W. T. et al., 2013; Yildirim D. et al., 2017]. Сепсис развивается в 40–78 % случаев острого перитонита, при этом летальность, обусловленная развитием полиорганной недостаточности, возрастает до 60 % и более [Чернядьев С. А. с соавт., 2016.]. Несостоятельность анастомозов, сформированных на органах желудочно-кишечного тракта, является причиной послеоперационного перитонита у 38–40 % больных и в 40–60 % случаев приводит к смерти [Зубрицкий В. Ф. с соавт., 2010]. У пациентов с послеоперационным перитонитом происходит значимая редукция кровотока в кишечной стенке, что часто приводит к перфорациям кишечной стенки, резко усугубляющим тяжесть состояния больных [Жариков А. Н. с соавт., 2015].

В реактивной фазе развития перитонита наблюдается значительное сужение капилляров микроциркуляторного русла с запустеванием просветов сосудов, в которых обнаруживается в небольшом количестве клеточные элементы крови [Ашрафов Р. А. с соавт., 2012]. Для морфофункциональных нарушений микроциркуляторного русла кишки при перитоните характерен артериоспазм, деструкция эндотелия, приводящие к гипоксии кишечной стенки. Это проявляется расширением капилляров и венул, замедлением в них кровотока и сбросом артериальной крови в венозную систему через артериоло-венулярные шунты. При этом скорость кровотока в тканях замедляется, в просвете мелких сосудов имеется агрегация форменных элементов с пристеночным отложением фибрина, отмечается стаз и гемолиз эритроцитов. В последующем в сосудах слизистой и подслизистой оболочки формируются фибриновые тромбы [Жариков А. Н. с соавт., 2012]. На фоне прогрессирования перитонита наблюдается усугубление нарушений

микроциркуляции, подтверждаемое данными лазерной доплеровской флоуметрии [Баранов А. И., 2011; Мельников А. С., 2012].

Несоответствие спланхического кровотока потребностям кишечной стенки приводит к утрате слизистой оболочкой барьерных функций. Развивающаяся транслокация внутрипросветной микрофлоры поддерживает активность воспаления [Goulet O., 2015]. Частота несостоятельности тонкокишечных анастомозов достигает 19 % случаев [Cha J. et al., 2015]. Ее последствия продолжают вносить свой вклад в послеоперационную летальность. В первую очередь, это обусловлено неутешительными результатами хирургического лечения, сохраняющейся высокой вероятностью развития несформированных кишечных свищей. Постоянно проводятся исследования различных способов формирования кишечного шва, призванных снизить вероятность его несостоятельности в условиях перитонита, однако значимого прогресса по решению этой проблемы пока не достигнуто.

В последнее десятилетие отмечено широкое развитие фотодинамической терапии (ФДТ) и успешное внедрение её в клиническую практику лечения доброкачественных и злокачественных новообразований различных локализаций и воспалительных процессов, также обнаружено бактерицидное действие ФДТ [Дешук А. Н. с соавт., 2012; Толстых П. И. с соавт., 2014].

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о высокой эффективности метода фотодинамической терапии для санации брюшины, который способствует сокращению острой фазы воспалительного процесса в брюшной полости, снижению бактериальной обсемененности брюшины [Тихов Г. В., 2014; Мустафаев Р. Д. с соавт., 2016]. Для улучшения репарации в сформированном толстокишечном анастомозе была применена ФДТ на зону локализации соустья [Кумова И. В., 2007].

Степень разработанности темы диссертации. В настоящее время имеется большое количество методов, призванных предотвратить несостоятельность швов тонкой кишки в условиях перитонита [Зубрицкий В. Ф., 2010]. Применяются многочисленные покрытия для

кишечного шва, способствующие его скорейшей регенерации [Compton R., 1996]. Одним из вариантов профилактики несостоятельности является формирование однорядного кишечного шва, что снижает ишемию в зоне регенерации [Лубянский В. Г., 2012]. Также разрабатываются новые модификации механических сшивающих аппаратов, построенных по принципу степплеров и компрессионных устройств [Nasiri S., 2017]. Наконец, предлагается экстраперитонизировать сформированное соустье, производить протекцию анастомоза У-образной стомой либо вообще отказаться от формирования тонкокишечного анастомоза в условиях перитонита [Нестеров А. О., 2013]. Однако результаты хирургических операций продолжают оставаться малоутешительными [Koyluoglu G., 2008], что обуславливает необходимость дальнейшего поиска способов профилактики несостоятельности тонкокишечных анастомозов.

Цель исследования. Улучшить результаты тонкокишечных анастомозов в условиях распространенного гнойного перитонита в эксперименте.

Задачи исследования

1. Разработать методику, способствующую повышению репаративных процессов в зоне кишечного соустья при формировании тонкокишечных анастомозов «конец в конец» в условиях распространенного гнойного перитонита.

2. Морфологически изучить артериальное и венозное русло в стенке трупной тонкой кишки человека при её пересечении под углами 60° и 90° в условиях распространенного гнойного перитонита.

3. Изучить степень деформации в зоне тонкокишечного анастомоза, сформированного с пересечением кишечной стенки под углами 45°, 60° и 75°.

4. Изучить морфологические изменения, происходящие в париетальной брюшине и в зоне тонкокишечного анастомоза «конец в конец», сформированного с пересечением сегментов кишки под углом 60° с применением фотодинамической терапии в условиях экспериментального распространенного гнойного перитонита 24-часовой давности в

послеоперационном периоде на 7-е сутки.

Научная новизна. Впервые разработан и использован в эксперименте оригинальный способ формирования тонкокишечного анастомоза в условиях перитонита – состоит в том, что приводящий и отводящий сегменты тонкой кишки пересекают в поперечном направлении под углом 60° к продольной оси кишки таким образом, чтобы линия анастомоза получала кровоснабжение от наибольшего количества артерий, и формируют анастомоз по типу «конец в конец» с углом 120° между продольными осями сшиваемых сегментов кишки. Для уменьшения воспалительных явлений после наложения анастомоза выполняется фотодинамическая терапия (ФДТ) линии анастомоза (патент РФ № 2636875 от 28 ноября 2017 «Способ формирования тонкокишечного анастомоза в условиях перитонита»).

Впервые в эксперименте изучены морфологические изменения, происходящие на 7-е сутки в послеоперационном периоде в зоне тонкокишечного анастомоза, сформированного «конец в конец» с пересечением сегментов кишки под углом 60° с применением ФДТ в условиях распространенного гнойного перитонита 24-часовой давности.

Впервые проведено морфологическое обоснование улучшения артериального и венозного кровоснабжения тканей в зоне тонкокишечного анастомоза при формировании его «конец в конец» с пересечением сегментов кишки под углом 60° в условиях распространенного гнойного перитонита.

Теоретическая и практическая значимость работы. Проведенные анатомо-экспериментальные исследования позволили разработать методику формирования тонкокишечного анастомоза «конец в конец», способствующую снижению частоты несостоятельности кишечных швов, сформированных в условиях распространенного гнойного перитонита. Полученные в ходе исследования результаты могут использоваться в преподавательской деятельности.

Методология и методы диссертационного исследования. Для достижения поставленной цели выполнены анатомическое и

экспериментальное исследования. Объектом исследования были препараты тонкой кишки 20 пациентов, умерших от перитонита, и 100 экспериментальных животных – крыс линии Вистар. Предметом исследования стала оценка кровеносного русла тонкой кишки человека и изучение спектра послеоперационных осложнений у экспериментальных животных с морфологическим обоснованием полученных результатов. Исследование выполнено с учетом принципов доказательной медицины. Полученные данные обработаны с использованием стандартных методов статистики.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Данные микроанатомии стенки тонкой кишки человека и морфометрическая характеристика особенностей ее кровоснабжения, изученные в условиях распространенного гнойного перитонита, определяют целесообразность и обосновывают возможность применения тонкокишечного анастомоза «конец-в-конец» с пересечением сегментов кишки под углом 60^0 с целью улучшения кровоснабжения зоны анастомоза.

2. Формирование тонкокишечного анастомоза «конец-в-конец» с пересечением сегментов кишки под углом 60^0 в условиях экспериментальной модели распространенного гнойного перитонита способствует повышению репаративных процессов в зоне анастомоза и снижению частоты несостоятельности кишечных швов.

3. Проведение фотодинамической терапии на тонкокишечный анастомоз при аппликационной фотосенсибилизации метиленовой синью способствует снижению частоты формирования абдоминальных абсцессов в области анастомоза в послеоперационном периоде, уменьшает выраженность воспалительных изменений в зоне анастомоза у животных в условиях экспериментальной модели распространенного гнойного перитонита.

Степень достоверности. Достоверность результатов диссертации основывается на исследовании препаратов тонкой кишки 20 пациентов с перитонитом, о чем свидетельствует список пациентов, представленный на проверку первичной документации. Также проводились операции на

100 экспериментальных животных, о чем имеются записи в журнале эксперимента.

Достоверность различий по качественным признакам определяли с использованием критерия Фишера. Количественные результаты были проверены при помощи U-критерия Манна – Уитни. Нормальность распределения признаков проверялась с использованием критериев Шапиро – Уилка. Критический уровень достоверности нулевой статистической гипотезы принят равным 0,05.

Апробация результатов. Результаты исследования доложены и прошли обсуждение на заседании кафедры факультетской хирургии педиатрического факультета Новосибирского государственного медицинского университета (Новосибирск, 2016), на 8-й Российской (итоговой) научно-практической конференции с Международным участием студентов и молодых ученых «Авиценна-2017», посвященной 120-летию профессора В. М. Константинова (Новосибирск, 2017), на 5-м съезде хирургов Юга России (Ростов-на-Дону, 2017), на 6-м съезде хирургов Сибири и Дальнего Востока (Иркутск, 2017).

Диссертационная работа апробирована на заседании проблемной комиссии «Актуальные проблемы хирургических методов лечения заболеваний» Новосибирского государственного медицинского университета (Новосибирск, 2018). Диссертация выполнена в соответствии с темой научно-исследовательской работы Новосибирского государственного медицинского университета, номер государственной регистрации АААА-А15-115120910167-4.

Внедрение результатов исследования. Информация, полученная при использовании методики формирования тонкокишечного анастомоза в условиях экспериментального перитонита с пересечением стенки кишки под углом 60° и проведением ФДТ анастомоза, используется в учебном процессе на кафедре факультетской хирургии Новосибирского государственного медицинского университета.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 6 научных работ, в том числе 1 патент на изобретение и 4 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов для публикаций материалов диссертации, из них 1 статья в журнале, входящем в международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 138 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложений. Список литературы представлен 212 источниками, из которых 78 – в зарубежных изданиях. Полученные результаты проиллюстрированы с помощью 14 таблиц и 40 рисунков.

Личный вклад автора. Автор выполнил экспериментальные операции у 100 животных и исследовал их результаты, статистически обработал результаты морфологического исследования. Участвовал в заборе анатомического материала – фрагментов тонкой кишки человека, самостоятельно выполнил анатомическое исследование по изучению деформации тонкокишечного анастомоза. Обработал и резюмировал 100 % анатомического и экспериментального материала. Все исследования были выполнены исходя из этических принципов проведения научных медицинских исследований с участием экспериментальных животных, освещенных в Хельсинкской Декларации Всемирной медицинской ассоциации с учетом дополнений от 2013 г., с соблюдением правил, описанных в приказе № 755 от 12 августа 1977 г. Министерства здравоохранения СССР «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», в соответствии с Европейской Конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18 марта 1986 г.).

Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Городской клинической больницы № 1 (протокол №183 от 28.07.2016) и

комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета (протокол № 101 от 19.10.2017).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн исследования. Исследование проводили в два этапа – анатомо-морфологический и экспериментальный (рисунок 1).

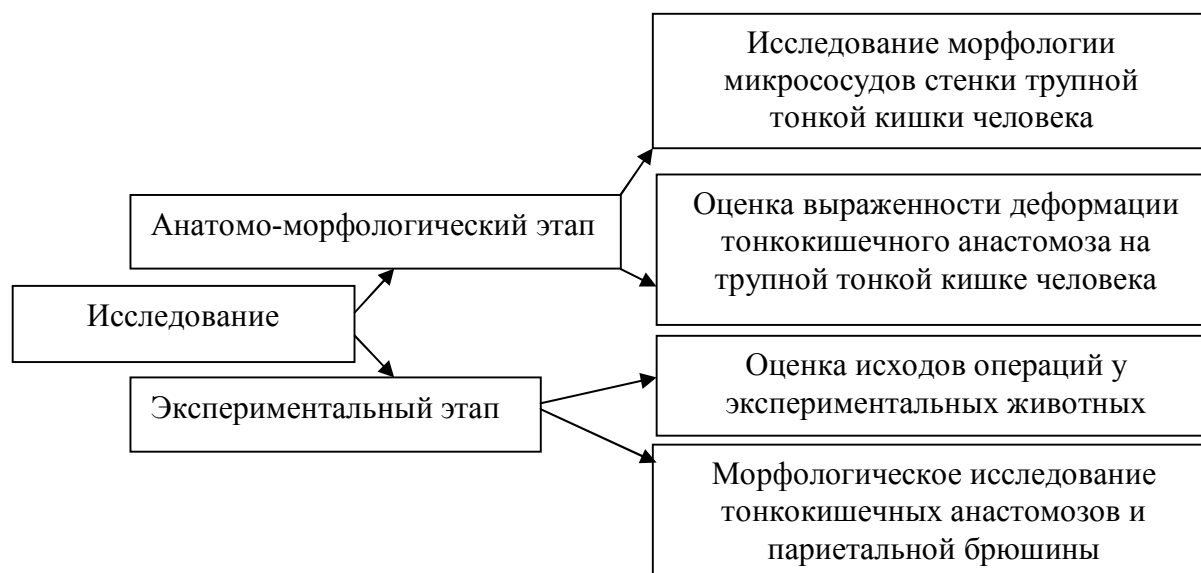
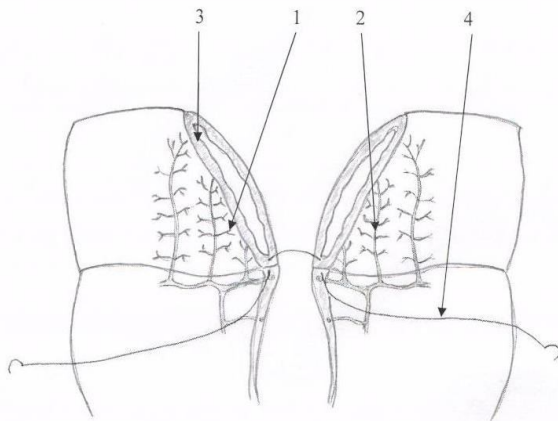


Рисунок 1 – Схема, отражающая дизайн исследования

Материал и методы анатомо-морфологического этапа исследования.

Данный этап включал изучение возможности применения модифицированного анастомоза «конец-в-конец» по авторской методике. Сущность предложенного способа – анастомозируемые петли кишки пересекаются косо, под углом 60° . Способ осуществляют следующим образом: приводящий и отводящий сегменты кишки в области анастомоза пересекают в поперечном направлении под углом 60° к продольной оси кишки, при этом линия анастомоза кишечной стенки получает питание не только от боковых ветвей интрамуральных артерий, но и от основных стволов интрамуральных артерий, что обеспечивает лучшее питание анастомоза. В результате каждая сторона линии анастомоза получает питание от нескольких основных стволов интрамуральных артерий. После этого между приводящей и отводящей петлями накладывали анастомоз

«конец-в-конец», располагающийся под углом 120° к оси кишки [рисунок 2]. Такой угол анастомоза вызывает незначительную деформацию оси кишки и не влияет отрицательно на пассаж химуса.



Примечания: 1 — ветви прямых сосудов, 2 — прямой сосуд, 3 — линия пересечения кишечной стенки, 4 — шовная нить.

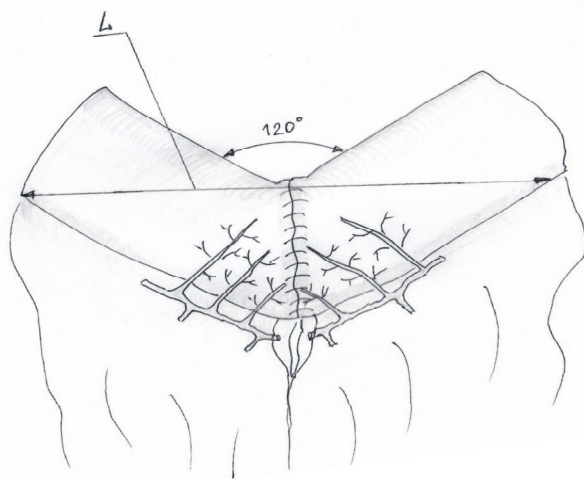
Рисунок 2 — формируемый анастомоз с пересечением петель кишки под углом 60°

Исследовали 40 образцов тонкой кишки, взятой от трупов 20 пациентов, умерших от перитонита. У одного и того же трупа проводили забор двух образцов: фрагменты с пересечением на 90° (далее — прямой срез) и на 60° (далее — косой срез) к оси кишки. Сформировано две группы препаратов — 1 группа (исследуемая) — 20 препаратов кишки, пересеченной под углом 60° , 2 группа (группа сравнения) — 20 фрагментов кишки, пересеченной под углом 90° . В дальнейшем производили иммуногистохимическое исследование среза кишечной стенки с антителами к антигену CD-34, применяющимися для идентификации эндотелия сосудов. Далее срезы изучали при увеличении $\times 400$ на световом микроскопе «Карл Цейс». Определяли суммарную площадь и количество артериальных и венозных сосудов на 1 мм^2 площади среза в

подслизистом и мышечном слоях кишечной стенки

Исследование степени деформации формируемого анастомоза. На втором этапе анатомического исследования изучали степень деформации анастомоза, сформированного при пересечении кишечной стенки под различными углами. Для этого выполняли забор фрагментов тонкой кишки от трупов тех же 20 пациентов. Забирали по 2 фрагмента тонкой кишки 10–15 см от одного трупа.

Данные фрагменты кишки анастомозировали по методике «конец-в-конец» с предварительным косым пересечением кишечной стенки под углами 45^0 , 60^0 , 75^0 (всего 60 анастомозов). Степень деформации анастомоза оценивали по расстоянию (измеренному в мм) между брыжеечными краями анастомозированных кишечных петель по линии (L), проведенной через противобрыжеечный край анастомоза (рисунок 3). Чем меньше было данное расстояние, тем большая деформация оси кишки имела по линии анастомоза.



Примечание. L – условная линия, по которой проводили замер.

Рисунок 3 – Схема измерения степени деформации анастомоза

Материал и методы экспериментального этапа исследования. Для эксперимента были взяты 100 крыс линии Вистар, самки, возрастом

4–6 месяцев, весом 200–300 г. Методом минимизации сформировано три группы: 2 исследуемых (первая – 29 животных, вторая – 30 животных) и контрольная (41 животное). Во всех группах под эфирным наркозом моделировали перитонит путем лапаротомии и пересечения стенки тонкой кишки в 4–6 см от илеоцекального угла на $\frac{1}{4}$ диаметра по противобрыжеечному краю. Через 24 часа проводили релапаротомию. Циркулярно иссекали участок тонкой кишки с захватом ранее произведенной перфорации с отступом на 10 мм в обе стороны от нее. Также забирали фрагмент париетальной брюшины в левой мезогастральной области для гистологического исследования с целью оценки выраженности перитонита. В первой исследуемой группе ($n = 29$) анастомоз «конец-в-конец» формировали с косым пересечением краев кишки под углом 60° . Перед выполнением анастомоза кишка со стороны серозной оболочки подвергалась аппликационной фотосенсибилизации раствором метиленового синего 0,3 % – 1 мл. После завершения шва осуществляли лазерную ФДТ сформированного анастомоза. Для этого выполняли его обработку энергией полупроводникового лазера Лахта Милон длиной волны 662 нм при выходной мощности 200 мВт для достижения плотности дозы энергии 20–25 Дж/см². Во второй исследуемой группе ($n = 30$) анастомоз выполняли также с косым пересечением краев кишки под углом 60° , но без ФДТ. В контрольной группе ($n = 41$) накладывали тонкокишечный анастомоз «конец-в-конец» с пересечением кишки под углом 90° . Кишечный шов выполняли однорядным непрерывным полипропиленовым швом нитью 8/0 на колющей игле без использования специальной оптики. Лапаротомную рану ушивали наглухо. На 7-е сутки после моделирования перитонита (на 6-е после формирования анастомоза) доживших животных выводили из эксперимента. Численность групп, вошедших в морфологическое исследование (т. е. доживших до 7-х суток после моделирования перитонита): первая исследуемая – 24, вторая исследуемая – 25, контрольная – 25 животных. Проводили морфологическое исследование зоны кишечного шва и париетальной брюшины при увеличении светового микроскопа $\times 400$.

Статистическая обработка. Качественные показатели оценивали с использованием двустороннего точного критерия Фишера. При изучении количественных данных по результатам морфологического исследования брюшины и кишечных анастомозов оценивали их соответствие закону нормального распределения методом Шапиро - Уилка. Количественные данные описаны в формате медиана и интерквартильный размах – Me (LQ; UQ). При изучении количественных данных по результатам морфологического исследования сравнение двух независимых групп проводили при помощи теста Манна – Уитни. Обработка проводилась с использованием программы STATISTICA 6.0 (StatSoft, USA). Результаты считали статистически значимыми, если интервал p был меньше 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Микроморфометрия сосудов стенки тонкой кишки. Количество артерий на мм^2 площади среза при использовании среза кишки под углом 60° в подслизистом слое больше на 56 %, а в мышечном слое больше на 48 %, чем в группе сравнения ($p < 0,01$), где использовали пересечение кишки под углом 90° . Также в исследуемой группе число вен мышечного слоя на 88,8 %, подслизистого слоя на 40,9 % больше, чем в группе сравнения. Площадь артерий на мм^2 площади среза в подслизистом слое кишки в исследуемой группе больше в 4,2 (424 %) раза, а в мышечном слое в 4,4 (441 %) раза больше, чем в группе сравнения ($p < 0,01$). Площадь вен подслизистого слоя в группе исследования в 2,7 (276 %) раза, а в мышечном слое в 2,2 (226 %) раза больше, чем в группе сравнения.

Исследование деформации анастомоза при различных углах пересечения кишечной стенки. Сводные данные по измерениям деформации оси кишки при различных углах ее пересечения представлены в таблице 1.

Формирование анастомоза с пересечением кишечной стенки под углом 75° вызывает минимальную деформацию анастомоза, но при этом отсутствует улучшение кровообращения по линии кишечного шва, так как она кровоснабжается ветвями лишь одной прямой артерии с каждой стороны.

Таблица 1 – Расстояние между брыжеечными краями анастомозируемых петель кишки, измеренное по линии, проведенной через середину анастомоза, в мм

Угол среза кишечной стенки при формировании анастомоза	45 ⁰	60 ⁰	75 ⁰
Расстояние в мм Me (LQ; UQ)	63,5 (56; 66)	76 (72; 83,5)	111 (106; 113)
Статистическая значимость различий p	p1-2 < 0,01	p2-3 < 0,01	p1-3 < 0,01

Пересечение кишечной стенки под углом 60⁰ приводит к более значительной деформации анастомоза, но пассаж химуса при этом не нарушается, что доказано результатами экспериментальных исследований, приведенными далее. Линия кишечного шва в данной ситуации обеспечивается кровотоком из ветвей двух прямых артерий с каждой стороны. Анастомоз, выполненный с пересечением кишечной стенки под углом 45⁰, приводит к выраженной деформации оси кишки, что может приводить к нарушению пассажа химуса. При этом линия шва так же, как и при срезе под углом 60⁰, кровоснабжается ветвями двух прямых сосудов, то есть отсутствует эффект улучшения кровоснабжения в сравнении с углом пересечения 60⁰. Это делает формирование такого анастомоза нецелесообразным.

Расстояние между брыжеечными краями анастомозируемых петель тонкой кишки, измеренное по линии, проведенной через середину анастомоза при угле среза кишки в 45⁰, было на 16,5 % меньше, чем при пересечении под углом 60⁰. Это свидетельствует о нежелательной степени деформации оси тонкой кишки.

Исходы операций у экспериментальных животных. Статистически значимых различий между группами по количеству животных, умерших в 1-е–2-е сутки после операции, не выявлено, точный критерий Фишера при сравнении был равен 1. Таким образом, эффект ФДТ и косо́го пересечения кишечной стенки не успевает проявиться в ранние сроки после операции по ликвидации источника перитонита.

В каждой из исследуемых групп было по 2 случая несостоятельности анастомоза (таблица 2), составивших 6,9 % в первой и 6,6 % во второй исследуемой группах. В контрольной группе это число достигло 12–30,7 %. Различие по частоте несостоятельств между исследуемыми группами отсутствует (точный критерий Фишера = 1). При этом отличия исследуемых групп от контрольной группы статистически значимы, точный критерий Фишера равен 0,029. Это свидетельствует о том, что ФДТ не вносит значимого вклада в профилактику несостоятельности тонкокишечного анастомоза, а основной эффект принадлежит факту улучшения кровоснабжения шовной полосы при проведении косого среза кишечной стенки.

Таблица 2 – Сравнительная оценка результатов по числу несостоятельств анастомоза

Группа	Несостоятельность кишечного шва	
	есть	нет
Первая исследуемая группа (n = 26)	2	24
Вторая исследуемая группа (n = 26)	2	24
Двусторонний точный критерий Фишера, $p_{1-2} = 1$		
Группа	Несостоятельность кишечного шва	
	есть	нет
Первая исследуемая группа (n = 26)	2	24
Контрольная группа (n = 37)	12	25
Двусторонний точный критерий Фишера, $p_{1-3} = 0,029$		
Группа	Несостоятельность кишечного шва	
	есть	нет
Вторая исследуемая группа (n = 26)	2	24
Контрольная группа (n = 37)	12	25
Двусторонний точный критерий Фишера, $p_{2-3} = 0,029$		

Однако у животных, которым проводилось ФДТ, отмечалось отсутствие абдоминальных абсцессов, в то время как во второй исследуемой группе, где применялся только косой срез кишки, абсцессы выявлены у 7 из 24 выживших

животных (29,1 %), а в контрольной группе они развились у 20 из 25 выживших животных (80 %). Точный критерий Фишера по группам $p_{1-2} = 0,047$, $p_{1-3} < 0,0001$, $p_{2-3} = 0,0005$ (таблица 3). Таким образом, впервые в условиях модели 24-часового гнойного перитонита экспериментально подтверждена высокая бактерицидная и противовоспалительная эффективность ФДТ в зоне тонкокишечного анастомоза, что ведет к снижению вероятности дальнейшего прогрессирования перитонита за счет перфорации данных абсцессов.

Таблица 3– Сравнительная оценка результатов по случаям продолжающегося перитонита (включены животные, дожившие до 7 суток после моделирования перитонита, признаком продолжающегося перитонита считались выявленные абдоминальные абсцессы)

Группа	Абдоминальные абсцессы	
	есть	нет
Первая исследуемая группа (n = 24)	0	24
Вторая исследуемая группа (n = 24)	7	17
Двусторонний точный критерий Фишера, $p_{1-2} = 0,047$		
Группа	Абдоминальные абсцессы	
	есть	нет
Первая исследуемая группа (n = 24)	0	24
Контрольная группа (n = 25)	20	5
Двусторонний точный критерий Фишера, $p_{1-3} < 0,0001$		
Группа	Абдоминальные абсцессы	
	есть	нет
Вторая исследуемая группа (n = 24)	7	17
Контрольная группа (n = 25)	20	5
Двусторонний точный критерий Фишера, $p_{2-3} = 0,0005$		

Морфологические исследования тонкокишечных анастомозов. При исследовании неоангиогенеза в зоне шовной полосы выявлено, что удельная площадь лимфатических сосудов подслизистого слоя на срезе у животных первой группы составила на 20,7 % больше, чем в контрольной группе, во

второй группе площадь лимфатических сосудов была на 12,5 % больше, чем в контрольной ($p < 0,01$). В мышечном слое у животных первой группы данный показатель был больше, чем в контрольной группе на 41,3 %, во второй группе на 56,7 % ($p < 0,01$). Между первой и второй группами статистически значимых различий по площади лимфатических сосудов не выявлено ($p > 0,05$).

Показатели площади кровеносных сосудов имели аналогичное распределение. Удельная площадь кровеносных сосудов подслизистого слоя на срезе у животных первой группы составила на 10,2 % больше, чем в контрольной группе, во второй группе площадь кровеносных сосудов была на 10,7 % больше, чем в контрольной ($p < 0,01$). В мышечном слое у животных первой группы данный показатель был больше, чем в контрольной группе на 35,9 %, во второй группе на 34 % ($p < 0,01$). Между первой и второй группами статистически значимых различий по площади кровеносных сосудов не выявлено ($p > 0,05$).

Вышеприведенные данные доказывают, что проведение косого среза кишки значительно повышает площадь попадающих в срез лимфатических сосудов, различия между исследуемыми группами и контрольной группой статистически значимы ($p < 0,01$). В то же время проведение ФДТ не вызывает значимого усиления ангиогенеза в кишечной стенке, различий между двумя исследуемыми группами не выявлено ($p > 0,05$).

Число фибробластов в подслизистом слое у животных первой исследуемой группы было максимальным – на 74,6 % больше, чем в контрольной группе, и на 54,4 % больше, чем во второй исследуемой группе. В мышечном слое стенки тонкой кишки в зоне анастомоза у животных первой группы уровень фибробластов повысился на 19 % в сравнении с контрольной группой и на 8,6 % по сравнению со второй группой. Различия между всеми изученными группами статистически значимы ($p < 0,01$). Таким образом – учитывая, что проведение косого среза кишечной стенки увеличивает кровоснабжение шовной полосы – за счет этого повышается регенеративный потенциал в зоне формирования рубца. Данный факт подтверждается

статистически значимым увеличением числа фибробластов в зоне анастомоза, что благоприятно сказывается на его надежности за счет усиления прочности рубца. Дополнительное проведение ФДТ на шовную полосу еще более повышает уровень фибробластов по линии тонкокишечного соустья.

Уровень нейтрофилов в подслизистом слое кишечной стенки в зоне анастомоза был наименьшим в первой группе, где применялся косой срез кишечной стенки и ФДТ. Во второй исследуемой группе уровень нейтрофилов был больше на 16,4 %, а в контрольной группе – на 21,6 %. Между всеми группами различия статистически значимы. Число нейтрофилов мышечного слоя в контрольной и второй исследуемой группах было примерно одинаковым и оказалось на 59 % выше ($p < 0,01$), чем в первой исследуемой группе (таблица 4).

Таблица 4 – Сравнительная оценка показателей численной плотности нейтрофильных лейкоцитов (на 10^5 мкм² площади среза) в подслизистой и мышечной оболочках кишечной стенки в контрольной и исследуемых группах

Группы	Me, (LQ; UQ)	Количество нейтрофилов подслизистого слоя	Количество нейтрофилов мышечного слоя
1 – Первая исследуемая группа, n = 24	Me, (LQ; UQ)	40,7 (34,5; 46,1)	27,85 (23,65; 33,25)
2 – Вторая исследуемая группа, n = 24	Me, (LQ; UQ)	47,4 (45,85; 48,9)	44,3 (42,15; 46,75)
3 – Контрольная группа, n = 25	Me, (LQ; UQ)	49,5 (46,55; 54,25)	44,4 (41,9; 50,1)
Статистическая значимость различий p		P1–3 < 0,01	P1–3 < 0,01
		P1–2 < 0,01	P1-2 < 0,01
		P2–3 < 0,05	P2–3 > 0,05

Несколько иным было распределение макрофагов. Статистически значимых различий между исследуемыми группами по их уровню в подслизистом слое не было, но в контрольной группе их число было больше,

чем в первой группе на 12,6 % и на 8 % больше, чем во второй ($p < 0,01$). В мышечной оболочке, соответственно, макрофагов в контрольной группе было больше на 44,7 %, чем в первой группе, и на 28,1 %, чем во второй ($p < 0,01$).

При отдельном сравнении двух исследуемых групп по уровню макрофагов выявлено, что в мышечной оболочке животных второй группы их было на 13 % больше, чем в первой ($p < 0,01$). В подслизистом слое значимых различий не отмечено ($p > 0,05$).

Нейтрофильные лейкоциты и макрофаги являются клетками-эффекторами воспаления. Более низкий уровень исследованных морфологических форм лейкоцитов свидетельствует о снижении выраженности воспаления в зоне кишечного шва, причем этот эффект преимущественно выражен в группах, подвергавшихся воздействию ФДТ.

Таким образом, получены данные, что выполнение косого среза кишечной стенки в большей степени улучшает кровоснабжение шовной полосы анастомоза, а проведение ФДТ способствует снижению выраженности воспалительной реакции в этой зоне и повышению биологической герметичности анастомоза.

Морфологическое исследование париетальной брюшины. Статистически значимых различий в уровне эффекторных клеток воспаления в париетальной брюшине на 2-е сутки во всех группах выявлено не было. Это объясняется тем, что условия создания модели перитонита были одинаковыми во всех группах. При дальнейшем исследовании на 7-е сутки статистически значимых различий по количеству нейтрофилов и макрофагов между группами также не выявлено.

Известно, что зона бактерицидного действия ФДТ ограничивается полем лазерного облучения на фотосенсибилизированную ткань. Во время проведения ФДТ обработке фотосенсибилизатором и последующей засветке низкоинтенсивным лазерным излучением подвергался только сам сформированный анастомоз. Соответственно, все эффекты ФДТ в виде снижения уровня воспалительной реакции реализовывались только в нем. Так

как ФДТ всей париетальной брюшины не производилось – этим и объясняется отсутствие различий в показателях уровня лейкоцитов в париетальной брюшине на 7-е сутки. Таким образом, проведение ФДТ исключительно на зону тонкокишечного анастомоза не влияет на выраженность воспаления париетальной брюшины.

ВЫВОДЫ

1. Способ формирования тонкокишечного анастомоза «конец-в-конец» с пересечением сегментов кишки под углом 60° и проведением ФДТ на анастомоз снижает частоту несостоятельности кишечного шва в условиях распространенного гнойного перитонита до 6,9 % против 30,7 % в контрольной группе.

2. Пересечение стенки тонкой кишки под углом 60° перед формированием анастомоза на фоне распространенного гнойного перитонита способствует повышению числа и удельной площади сосудистых структур по линии шва, при этом площадь артерий возросла в 4,2–4,4 раза, площадь вен в 2,2–2,7 раза.

3. Формирование анастомоза «конец-в-конец» с предварительным пересечением кишечной стенки под углом 60° вызывает допустимую деформацию оси кишки при значимом улучшении кровоснабжения.

4. В зоне тонкокишечного анастомоза «конец-в-конец», сформированного с пересечением кишечной стенки под углом 60° с применением фотодинамической терапии, на 6-е сутки существенно увеличивается количество фибробластов (на 19–74,6 %), сосудистых структур (на 10,7–41,3 %) и уменьшается число клеток лейкоцитарного ряда (на 21–59 %). Различия в уровне эффекторных клеток воспаления в париетальной брюшине между экспериментальными группами не обнаружено, из чего следует, что фотодинамическая терапия сформированного тонкокишечного анастомоза не влияет на выраженность воспаления париетальной брюшины, вследствие локального действия лазерного излучения.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

При проведении операций на тонкой кишке у экспериментальных животных на фоне распространенного гнойного перитонита давностью 24 часа:

- целесообразно перед формированием анастомоза пересекать кишечную стенку под углом 60^0 , затем кишку со стороны серозной оболочки обрабатывать фотосенсибилизатором метиленовым синим;
- формировать анастомоз «конец-в-конец», после чего производить его фотодинамическую обработку.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Вайнер, Ю. С.** Особенности ангиоархитектоники тонкой кишки при различных способах пересечения ее стенки / **Ю. С. Вайнер**, К. В. Атаманов, Я. А. Верятин // **Сибирское медицинское обозрение.** – 2017. – №3. – С. 56–60.
2. **Вайнер, Ю. С.** Регуляция воспалительного ответа в тонкокишечном анастомозе / **Ю. С. Вайнер**, К. В. Атаманов, Я. А. Верятин // **Вопросы реконструктивной и пластической хирургии.** – 2017. – № 3 (62) – С. 27–32.
3. **Вайнер, Ю. С.** Профилактика несостоятельности тонкокишечного анастомоза в условиях перитонита (экспериментальное исследование) / **Ю. С. Вайнер**, К. В. Атаманов, Е. В. Шидловская // **Acta Biomedica Scientifica.** – 2017. – Т. 2. – № 6. – С. 198–203.
4. **Вайнер, Ю. С.** Оценка эффективности интраоперационной лазерной фотодинамической терапии тонкокишечного анастомоза в условиях экспериментального перитонита / **Ю. С. Вайнер**, С. Д. Никонов, К. В. Атаманов // **Biomedical Photonics.** – 2017. – № S1. – С. 24.
5. **Пат. 2636875** Российская Федерация, МПК (2006.01) A61B 17/11, A61B 18/00. Способ формирования тонкокишечного анастомоза в условиях перитонита / К. В. Атаманов, С. Д. Никонов, **Ю. С. Вайнер**, Я. А. Верятин /; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО НГМУ Минздрава России. – № 2016142410 ; заявл. 27.10.2016 ; опубл. 28.11.2017, Бюл. № 34. – 2 с.
6. Модификация способа формирования тонкокишечного анастомоза (тезисы) / **Ю. С. Вайнер**, К. В. Атаманов, Я. А. Верятин // **Медицинский вестник юга России.** – 2017. – Приложение 2. – С. 444–445.