

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Klinichna khirurgiia. 2018 June;85(6):63-66
DOI: 10.26779/2522-1396.2018.06.63

Исследование гематологических показателей при экспериментальном перитоните

И. В. Савицкий¹, С. В. Циповяз¹, О. В. Белаш¹, Р. С. Вастьянов¹, С. Г. Знамеровский²,
Р. Г. Леник¹, П. Е. Григорьев³, И. В. Мясковская¹

¹Одесский национальный медицинский университет,

²Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта, г. Одесса,

³Тюменский государственный университет, Россия

Investigation of hematological indices in experimental peritonitis

I. V. Savytskyi¹, S. V. Tshipoviaz¹, O. V. Belash¹, R. S. Vastyanov¹, S. G. Znamerovskiy²,
R. G. Lenik¹, P. E. Grigoryev³, I. V. Miastkivskaya¹

¹Odessa National Medical University,

²Ukrainian Scientific-Research Institute of the Transport Medicine, Odessa,

³Tyumen State University, Russia

Реферат

Цель. Исследовать гематологические показатели на 1, 3-и и 7-е сутки развития экспериментального перитонита.

Материалы и методы. Исследование проведено на 180 крысах линии Вистар массой тела 180 – 200 г. Животные были разделены на четыре группы: группа 1 – 20 intactных животных; группа 2 – 80 животных, которым моделировали желчный перитонит (ЖП) без дальнейшей коррекции; группа 3 – 40 животных, которым смоделированный ЖП коррегировали с помощью санации брюшной полости раствором хлоргексидина с дальнейшим применением стандартной антибиотикотерапии; группа 4 – 40 животных, которым смоделированный ЖП коррегировали по комбинированной схеме детоксикации.

Результаты. При исследовании гематологических маркеров у животных группы 4, которым применяли комплексное лечение, положительную динамику показателей количества эритроцитов, концентрации гемоглобина, гематокрита и СОЭ наблюдали на 3-и сут, и она сохранялась к 7-м сут. Показатели количества лейкоцитов более выражено нормализовались на 1-е и 3-и сут. Лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) снижался на 3-и сут. Наиболее выраженную положительную динамику активности аспартатаминотрансферазы (АСТ) наблюдали на 7-е сут, аланинаминотрансферазы (АЛТ) – на 3-и. На 1-е и 3-и сут эксперимента отмечали наименее выраженное снижение концентрации общего белка, на 7-е сут – его повышение. Концентрация общего билирубина максимально приближалась к показателям у intactных животных на 3-и сутки.

Выводы. Исследование гематологических маркеров доказало эффективность предложенного нами способа санации брюшной полости.

Ключевые слова: перитонит; экспериментальная модель; санация брюшной полости; декаметоксин; натрия гиалуронат.

Abstract

Objective. To investigate hematological indices on the first, third and seventh day of the experimental peritonitis development.

Materials and methods. The investigation was conducted on 180 Wistar line rats with a body mass 180 – 200 g. The animals were divided into four Groups: Group I – 20 intact animals; Group II – 80 animals, in whom a biliary peritonitis was simulated without further correction; Group III – 40 animals, in whom the biliary peritonitis simulated was corrected, using abdominal cavity sanitation with chlorhexidine solution and further application of standard antibioticotherapy; Group IV – 40 animals, in whom a simulated biliary peritonitis was corrected in accordance to combined scheme of detoxication.

Results. While investigation of hematological markers in animals of Group IV, to whom complex treatment was applied, a positive dynamics of indices of the erythrocytes quantity, hemoglobin concentration, hematocrit and ERS were observed on the third day and preserved up to the seventh day. The indices of the leucocytes quantity more significantly had normalized on the first and third days. The leucocytic index of intoxication had lowered on the third day. Most pronounced positive dynamics of the AST activity was observed on the seventh day, and of the ALT – on the third. On the first and third day of experiment the least pronounced lowering of the general protein concentration was noted, and on the seventh day – its raise. Concentration of general bilirubin maximally approached the indices of intact animals on the third day.

Conclusion. Investigation of hematological markers have proved the efficacy of our proposed method of the abdominal cavity sanitation.

Keywords: peritonitis; experimental model; sanitation of abdominal cavity; decametoxin; sodium hyaluronate.

Лечение перитонита до настоящего времени остается одной из наиболее актуальных проблем абдоминальной хирургии. Перитонит сопровождается высокой летальностью, ко-

торая по данным различных авторов составляют 17 – 36%, а при тяжелых формах с развитием инфекционно-токсического шока и полиорганной недостаточности – 76 – 90% [1, 2].

Эффективен в лечении перитонита метод непрямого окисления с использованием натрия гипохлорида, применение которого позволяет воспроизводить детоксикационную функцию цитохрома P-450 гепатоцитов печени и бактерицидную функцию фермента миелопероксидазы нейтрофильных гранулоцитов [3]. Декаметоксин также зарекомендовал себя как эффективное средство при детоксикационной терапии [4]. Доказан терапевтический эффект гиалуроновой кислоты для профилактики спаечной болезни [5].

Известно, что повреждение клеточных мембран – это определяющий фактор в развитии эндогенной интоксикации, являющейся одним из основных патологических звеньев перитонита [6]. Для изучения состояния цитоплазматических мембран оптимально исследовать функциональную активность эритроцитарного звена в силу его наибольшей чувствительности к токсинам [7]. Системная воспалительная реакция при этом играет ключевую роль пускового механизма развития перитонита [8], чем обусловлена актуальность исследования лейкоцитарного звена при анализе эффективности новых способов коррекции данного заболевания. ЛИИ является маркером эндогенной интоксикации организма и тканевой деградациии [9]. Исследование АСТ и АЛТ важно в контексте анализа адаптационных механизмов и обеспечения поддержки метаболических показателей. Динамика АСТ отражает катаболическую, АЛТ – анаболическую направленность метаболизма [10].

Изменение концентрации белков крови при токсическом поражении печени – одно из проявлений эндогенной интоксикации. При исследовании функционального состояния печени на фоне ЖП и его влияния на организм в целом необходим анализ динамики концентрации общего билирубина [11].

Цель исследования: изучить гематологические показатели на 1, 3–и и 7–е сутки развития экспериментального перитонита.

Материалы и методы исследования

Опыты проведены согласно Правилам исполнения работ с использованием экспериментальных животных, утвержденным Приказом Министерства здравоохранения Украины № 249 от 01.03.2012 г., Закону Украины № 3447–IV «О защите животных от жестокого обращения» (с изменениями от 15.12.2009 г. и 16.10.2012 г.) на 180 крысах линии Вистар массой 180 – 200 г. Животные были разделены на четыре группы: группа 1 – 20 интактных животных; группа 2 – 80 животных, которым моделировали ЖП без дальнейшей коррекции; группа 3 – 40 животных, которым смоделированный ЖП регистрировали с помощью санации брюшной полости раствором хлоргексидина с дальнейшим применением стандартной антибиотикотерапии; группа 4 – 40 животных, которым смоделированный ЖП регистрировали по комбинированной схеме детоксикации (первое санирование 0,04% раствором натрия гипохлорида через 12 ч после второго введения желчи [12], второе санирование смесью, в состав которой входит комбинация декаметоксина (10 мг в 50 мл раствора), натрия гиалуроната (250 мг в 50 мл раствора)

и сукцинатного буфера, через 6 ч после первой санации).

ЖП моделировали по такой схеме [13]: животным внутримышечно вводили стерильный 10% раствор кальция хлорида (1 мг на 100 г массы тела), создавая очаг асептического воспаления, далее через 72 ч двукратно вводили внутривнутрибрюшинно желчь по 0,33 мл на 100 г массы тела с интервалом в 12 ч.

Кровь из хвостовой вены забирали на 1, 3–и и 7–е сутки воспроизведения ЖП.

При проведении общего анализа крови определяли количество лейкоцитов, эритроцитов, концентрацию гемоглобина, гематокрит и СОЭ с помощью автоматизированного гематологического анализатора BC-2800Vet (КНР) с использованием реактивов фирмы MINDRAY (Южная Корея). ЛИИ определяли по методике Я. Я. Кальфа–Калифа (1941); активность ферментов АСТ и АЛТ – с помощью реактивов фирмы «Сорма» (Польша), концентрацию общего белка – унифицированным методом биуретовой реакции, используя стандартизованные наборы Total Protein«FL–E» (Vital Diagnostics СПб, Россия), общего билирубина – с диазониевой солью сульфаниловой кислоты.

В качестве математико–статистических методов представления и обработки результатов использовали пакет статистического анализа SPSS 19.0. Применяли параметрические критерии Шапиро–Уилка (Shapiro–Wilk's W–test) и Стьюдента с поправкой Бонферрони [14, 15].

Результаты

На 1–е сутки исследования выраженная интоксикация организма животных подтверждена развитием анемии, снижением гематокрита, лейкоцитозом, гипоальбуминемией – исследуемые показатели значительно отличались от соответствующих показателей у интактных животных ($p < 0,001$) и не отвечали положительной динамикой на примененные способы фармакологической коррекции ($p < 0,001$).

В результате примененной нами комплексной терапии интоксикационного синдрома при экспериментальном ЖП снижение исследуемых показателей на 3–и сут течения патологического состояния стало менее выраженным, однако они продолжали существенно отличаться от показателей у интактных животных ($p < 0,001$).

Все животные с ЖП без коррекции не дожили до 7–х сут. Исследуемые показатели крови под влиянием фармакологической коррекции в эти сроки исследования были сопоставимы с таковыми у интактных животных ($p > 0,05$). Показатели ЛИИ и активности трансаминаз оставались выше нормы ($p < 0,05$), однако в результате коррекции по комбинированной схеме отмечали их нормализацию ($p > 0,05$; см. таблицу).

Обсуждение

Предложенный метод комплексной терапии оказался более эффективным по сравнению со стандартным лечением. Положительную динамику количества эритроцитов наблюдали уже на 3–и сут, и она сохранялась к 7–м сут. Концентрация гемоглобина и гематокрит в группе 4 очень значимо улучшились по сравнению с результатами в группе 3 и приблизились к нормальным значениям.

Динамика измененных клинико-биохимических показателей на этапах исследования ($\bar{x} \pm m$)

Показатели	Группа животных	Этапы исследования, сутки		
		1-е	3-и	7-е
Количество эритроцитов, $\times 10^{12}$ в 1 л	1	3,38 \pm 0,30	3,48 \pm 0,42	3,70 \pm 0,51
	2	2,33 \pm 0,36	2,90 \pm 0,30	нет выживших
	3	2,81 \pm 0,25	3,15 \pm 0,10	4,01 \pm 0,09
	4	3,10 \pm 0,17	3,5 \pm 0,40	3,60 \pm 0,90
Концентрация гемоглобина, мг/мл	1	148,0 \pm 6,0	151 \pm 7,0	154 \pm 3,1
	2	117,0 \pm 6,3	115 \pm 4,2	нет выживших
	3	126,0 \pm 4,1	131 \pm 5,1	138 \pm 4,0
	4	131,0 \pm 2,9	148 \pm 3,3	151 \pm 4,1
Гематокрит	1	47,1 \pm 1,4	49 \pm 1,2	50,3 \pm 0,9
	2	32,8 \pm 1,9	36,0 \pm 1,1	нет выживших
	3	33,6 \pm 3,7	38,0 \pm 1,0	47,1 \pm 2,8
	4	36,8 \pm 2,0	43,0 \pm 0,4	50,2 \pm 0,6
Количество лейкоцитов, $\times 10^9$ в 1 л	1	5,4 \pm 0,5	6,0 \pm 0,2	6,1 \pm 0,9
	2	12,1 \pm 0,4	11,8 \pm 0,71	нет выживших
	3	9,5 \pm 0,25	9,1 \pm 0,3	5,1 \pm 0,6
	4	8,8 \pm 0,33	7,4 \pm 0,6	5,0 \pm 0,3
ЛИИ	1	1,40 \pm 0,21	1,67 \pm 0,60	1,70 \pm 0,82
	2	4,54 \pm 0,30	4,70 \pm 0,34	нет выживших
	3	3,81 \pm 0,34	3,03 \pm 0,28	1,41 \pm 0,06
	4	3,08 \pm 0,23	2,11 \pm 0,20	1,03 \pm 0,09
Концентрация общего белка, мг/кг	1	74,5 \pm 2,8	71,0 \pm 1,8	68,0 \pm 1,4
	2	51,3 \pm 0,7	53,4 \pm 0,8	нет выживших
	3	58,7 \pm 0,4	60,5 \pm 0,6	65,9 \pm 0,15
	4	61,5 \pm 0,3	67,3 \pm 0,9	69,4 \pm 1,0
Активность АСТ, ед./л	1	58,0 \pm 3,1	74,0 \pm 1,1	70,3 \pm 1,6
	2	394,0 \pm 3,7	356,1 \pm 4,1	нет выживших
	3	320,8 \pm 7,1	265,0 \pm 4,7	148,0 \pm 3,9
	4	283,9 \pm 8,3	134,0 \pm 7,5	94,8 \pm 6,1
Активность АЛТ, ед./л	1	49,0 \pm 0,8	55,0 \pm 0,28	50,0 \pm 0,6
	2	130,6 \pm 3,1	119,8 \pm 2,3	нет выживших
	3	93,1 \pm 2,6	84,6 \pm 1,8	73,1 \pm 5,8
	4	86,5 \pm 0,4	72,2 \pm 0,9	68,4 \pm 3,1
Концентрация общего билирубина, мкмоль/л	1	24,1 \pm 0,9	27,3 \pm 0,6	30,3 \pm 0,1
	2	123,0 \pm 0,7	105,0 \pm 0,5	нет выживших
	3	98,0 \pm 0,6	75,0 \pm 0,8	43,0 \pm 0,4
	4	78,4 \pm 0,5	48,0 \pm 0,4	50,2 \pm 0,6
СОЭ, мм/ч	1	1,6 \pm 0,2	1,5 \pm 0,1	1,4 \pm 0,1
	2	18,1 \pm 0,4	14,9 \pm 1,3	нет выживших
	3	9,5 \pm 0,8	7,3 \pm 0,5	8,6 \pm 0,4
	4	8,8 \pm 0,3	4,21 \pm 0,3	5,1 \pm 0,7

В группе 4 на 3-и и 7-е сут значительно улучшились показатели СОЭ. Отмечали более выраженную коррекцию количества лейкоцитов на 1-е и 3-и сут. На 7-е сут количество лейкоцитов снизилось и стало ниже нормы. ЛИИ на 1-е и 3-и сут повышался на фоне экспериментального перитонита. Результаты, полученные в группе 4, свидетельствовали о снижении данного показателя под влиянием предложенной терапии. На 7-е сут ЛИИ снижался в группах 3 и 4 ниже нормы.

Наиболее выраженную положительную динамику активности АСТ наблюдали на 7-е сут, АЛТ – на 3-и. У животных с ЖП без коррекции снижалась концентрация общего белка. На фоне санирования брюшной полости

это снижение было выражено в меньшей мере. На 1-е и 3-и сут эксперимента наименее выраженное снижение концентрации общего белка наблюдали в группе 4, на 7-е сут этот показатель был даже несколько выше, чем у интактных животных. Показатели концентрации общего билирубина характеризовались положительной динамикой также в группе 4, максимально она проявилась на 3-и сутки эксперимента.

Выводы

1. Исследование гематологических маркеров доказало эффективность предложенного нами способа санации брюшной полости с помощью комплексного приме-

нения натрия гипохлорида и смеси, состоящей из декаметоксина, натрия гиалуроната и сукцинатного буфера.

2. На 1–е сут эксперимента наиболее приближались к показателям у интактных животных количество лейкоцитов, ЛИИ и концентрация общего белка у животных группы 4.

3. На 3–и сут отмечали наибольшую нормализацию количества эритроцитов, СОЭ, концентрации общего билирубина, гемоглобина, АЛТ и гематокрита у животных группы 4. Данная положительная тенденция сохранялась и на 7–е сут.

4. На 7–е сут в группе 4 наиболее значимо повышалась концентрация общего белка и выраженно нормализовалась активность АСТ.

References

1. Izmajlov SG, Rjabkov MG, Shhukin AJu. Lechenie rasprostrannogo peritonita apparatnym sposobom jetapnyh sanacij brjushnoj polosti. *Analiz hirurgii*. 2010;2:37–41. [In Russian].
2. Kostjuchenko KV. Prognozirovanie ishodov hirurgicheskogo lechenija rasprostrannogo peritonita [dissertation]: Jaroslavl; 2009.226 p. [In Russian].
3. Petrosjan JeA, Sergienko VI, Suhinin AA, Zaharchenko IS, Ogenesjan SS. Vlijanie kompleksnogo primenenija natrija gipohlorita i al'fa-tokoferola na sostojanie pro- i antioksidantnoj sistem krovi pri jeksperimental'nom zhelchnom peritonite. *Bjulleten' jeksperimental'noj biologii i mediciny*. 2005;139(4):391–4. [In Russian].
4. Hadzhibaev AM, Asomov HX, Riskiev UR, Muhamedzhanova NN, Sigalov DO. Programmirovannaja sanacija brjushnoj polosti pri peritonite. *Ukraïnskiy himioterapevtichnij zhurnal*. 2012;3(26):244–6. [In Russian].
5. Dronov AI, Zadorozhnaja KO, Dronova VL, Nastashenko MI. Patogenez, oslozhenija i kontrol spaecnogo processa v ginekologii i hirurgii. *Khirurgiya. Vostochnaya Evropa*. 2015;2(14):124–9. [In Russian].
6. Kapoor S, Nundy S. Bile Duct Leaks from the Intrahepatic Biliary Tree: A Review of Its Etiology, Incidence, and Management. *HPB Surg* [Internet]. 2012 May; 2012:9p. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/hpb/2012/752932/> doi: 10.1155/2012/752932.
7. Kupreeva MS, Petrosjan JeA, Suhinin AA, Tereshhenko OA. Ocenka sostojanija krasnoj krovi pri zhelchnom peritonite. *Bjulleten' Volgogradskogo nauchnogo centra RAMN*. 2008;2:49–51. [In Russian].
8. Sergienko VI, Petrosjan JeA, Botashev AA, Tereshhenko OA, Pomeschik JuV. Rol' sistemnoj vospalitel'noj reakcii i jendotelial'noj disfunkcii v patogeneze zhelchnogo peritonita. *Vestnik VolgGMU*. 2011;2(38):60–3. [In Russian].
9. Speranskij II, Samojlenko GE, Lobacheva MV. Obshhij analiz krovi – vse li ego vozmozhnosti ischerpany? Integral'nye indeksy intoksikacii kak kriterii ocenki tjazhesti techenija jendogennoj intoksikacii, ee oslozhenij i jeffektivnosti provodimogo lechenija. *Hostri ta nevidkladni stani u praktiki likarja*. 2009;6(19):27–36. [In Russian].
10. Kupreeva MS, Petrosjan JeA, Suhinin AA. Ocenka fermentemii pri zhelchnom peritonite s pozicij izmenenij metabolizma organizma. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2009;5(110):64–7. [In Russian].
11. Tereshhenko OA, Petrosjan JeA, Suhinin AA, Kupreeva MS. Ocenka narushenij belkovogo metabolizma pri zhelchnom peritonite. *Kubanskij nauchnyj medicinskij vestnik*. 2008;1–2:89–91. [In Russian].
12. Tereshhenko OA. Kompleksnaja ocenka jeffekta okislitel'noj detoksikacii pri lechenii zhelchnogo peritonita (jeksperimental'noe issledovanie) [thesis]. Krasnodar: GOUVPO Kubanskij gosudarstvennyj medicinskij universitet; 2008. 21 p. [In Russian].
13. Petrosjan JeA, Sergienko VI, Kade AH, Petrovskij AN, Ljubavin AN, Gorbov LV, Pogosjan AJe, Babaeva GA, izobretateli; Petrosjan JeA, patentoobladatel'. Sposob modelirovanija zhelchnogo peritonita Patent RF №2175784. 2001 Noja 10. [In Russian].
14. Shapiro SS, Wilk MB. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*. 1965;52 (3–4):591–611.
15. Shaffer JP. Multiple hypothesis testing. *annual review of psychology*. 1995;46:561–84. doi:10.1146/annurev.ps.46.020195.003021.