

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ



УДК 616.361–002.3–007.272–085:615.835

КЛИНИКО—ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ ОЗОНОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ ГНОЙНОГО ХОЛАНГИТА И ОБТУРАЦИОННОЙ ЖЕЛТУХИ

Т. А. Аллазов, Э. А. Алиева

Научный центр хирургии имени акад. М. А. Топчибашева, г. Баку, Республика Азербайджан

CLINIC—EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF OZONOTHERAPY APPLICATION IN THE TREATMENT OF PURULENT CHOLANGITIS AND OBTURATION JAUNDICE

T. A. Allazov, E. A. Aliyeva

Одной из сложных проблем urgentной хирургии является лечение больных по поводу нарушения желчеоттока различной этиологии. Основным признаком таких заболеваний является обтурационная желтуха (ОЖ), обусловленная обструкцией желчных протоков [1 — 3].

Наиболее частыми причинами ее возникновения являются холедохолитиаз, ГХ, стеноз желчных протоков и др. [4]. Применение миниинвазивных методов декомпрессии желчевыводящих путей у больных при ОЖ обеспечивает временное улучшение [5]. Такие пациенты представляют наиболее тяжелую в лечебном, диагностическом, социальном и экономическом плане группу [1, 3]. Летальность в мире при желчнокаменной болезни (ЖКБ) без дифференциации ее многообразных форм и стадий составляет 15—56% [6, 7].

Основными направлениями в лечении холедохолитиаза и ГХ являются декомпрессия желчевыводящих путей, антибактериальная терапия и адекватная дезинтоксикационная инфузионная терапия.

Даже правильно выполненная операция, декомпрессия желчевыводящих путей при холедохолитиазе без инфицирования желчи и ГХ не являются гарантией благополуч-

Реферат

Изучена эффективность применения озонотерапии как важного компонента комплексного лечения при гнойном холангите (ГХ). При холедохолитиазе (без инфицирования желчи) озонотерапию можно назначать как дополнительный компонент комплексного лечения. При ГХ применение озонотерапии способствовало улучшению лабораторных показателей в 6,6 раза по сравнению с таковыми после базисной терапии.

Ключевые слова: холедохолитиаз; гнойный холангит; озонотерапия; базисная терапия; эксперимент.

Abstract

Efficacy of the ozonotherapy application as an important component of complex treatment in purulent cholangitis (PCH) was studied. In choledocholithiasis (without infection of bile) ozonotherapy may be prescribed as additional component of complex treatment. In PCH ozonotherapy application have promoted the improvement of laboratory indices in 6.6 times, comparing with such, occurring after basic therapy.

Key words: choledocholithiasis; purulent cholangitis; ozonotherapy; basic therapy; experiment.

ного исхода, поскольку при присоединении инфекции значительно ухудшается прогноз заболевания, в 1,5 — 2 раза увеличивается летальность [3, 8]. Поэтому совершенствование комплексного лечения больных является жизненной необходимостью как сегодня, так и в ближайшем будущем [9, 10].

Эмпирическое назначение антибиотиков широкого спектра действия без выявления микрофлоры, установления ее чувствительности, учета индивидуальной переносимости не гарантирует эффективность антибактериальной терапии до операции и в раннем послеоперационном периоде [8].

В последнее время исследователи и клиницисты широко изучают эффективный миниинвазивный метод — озонотерапию [10, 11]. Лечебные свойства озонотерапии успешно используют в комплексе лечения различных хирургических заболеваний, поскольку она оказывает губительное действие как на аэробные, так и анаэробные микроорганизмы. Озон обуславливает повреждение ферментных, транспортных и рецепторных систем, обеспечивающих жизнедеятельность бактерий, что способствует их гибели вследствие повреждения дыхания и повышения проницаемости цитоплазматической мембраны, связанного с

окислением фосфолипидов и липопротеидов биологических мембран, нарушением целостности оболочек микробных клеток [6].

Усовершенствование методов лечения и разработка способов озонотерапии в комплексе лечения при ОЖ имеет важное научное и практическое значение. Не изучены вопросы применения озонотерапии как дополнительного или важного основного компонента в комплексе лечения холедохолитиаза (без инфицирования желчи) и ГХ.

Цель исследования: лечение ГХ с применением озонотерапии в качестве основного стандартного компонента комплекса лечения. При холедохолитиазе (без инфицирования желчи) озонотерапия может быть применена в дополнение к комплексу лечения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проанализированы результаты лечения 51 беспородной собаки, масса тела 12 — 14 кг. Из них у 24 (I группа) моделировали холедохолитиаз без инфицирования желчи, у 27 (II группа) — ГХ. Каждая группа разделена на две подгруппы. У 26 собак (1—я подгруппа) проводили озонотерапию, у 25 (2—я подгруппа) — стандартную терапию.

На основании разработанного алгоритма проводили сравнительную оценку полученных результатов в группах.

Экспериментальный ГХ моделировали путем перевязки общего желчного протока (ОЖП) во время выполнения холецистэктомии. Через микроиригатор, введенный в культю пузырного протока, в ОЖП вводили приготовленную в лабораторных условиях смешанную микрокультуру: *Candida albicans* 10^3 в 1 л, *Staphylococcus aureus* 10^3 в 1 л, *Esherichia coli* 10^3 в 1 л. Перевязанный микродренаж выводили на переднюю брюшную стенку через отдельный прокол и фиксировали к коже.

Экспериментальный холедохолитиаз моделировали путем перевязки ОЖП без введения микрокультуры. Конец микродренажа выводили на переднюю брюшную стенку и фиксировали к коже.

Животных вводили в наркоз путем внутривенного введения тиопентал—натрия 5% 25 мг/кг массы тела. Операционное поле дважды обрабатывали 10% раствором йода. Осуществляли разрез длиной 10 — 12 см по средней линии передней брюшной стенки. Желчь направляли для бактериологического исследования на 3, 5, 9—е и 12—е сутки, определяли чувствительность микрофлоры к антибиотикам.

При взятии желчи использовали метод В. Ш. Кочеровец, материал засеяли на чашки. Петри с селективными питательными средами. Из оставшегося материала изготавливали мазки и окрашивали по Граму в модификации Копылова. После операции в основных подгруппах при ОЖ (холедохолитиаз, ГХ) после удаления лигатуры с раннее перевязанного ОЖП через микроиригатор вводили озонированный изотонический раствор натрия хлорида из расчета 0,4 мл в 20 мл, одновременно внутривенно вводили такой же раствор из расчета 0,4 мл в 200 мл. Раствор вводили в ОЖП ежедневно в течение 5 сут, внутривенно — в течение 3 сут. В последующем процедуру проводили через день. Оптимальное действие препарата 10 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Эффективность озонотерапии как основного компонента в комплексе лечения при ОЖ оценивали по результатам исследований: бактериального инфицирования желчи; морфологического изучения ткани печени и стенки ОЖП; биохимического анализа крови; иммунного статуса; активности антиоксидантной системы и по клиническим данным.

У животных до моделирования ГХ желчь, взятая во время операции, была условно чистой.

На 5—е сутки степень бактериохоллии в обеих подгруппах существенно не различалась. В динамике лечения на 12—е сутки частота выявления высоковирулентных возбудителей *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, *Esherichia coli* уменьшалась. В 1—й подгруппе на 12—е сутки концентрация *Candida albicans* уменьшилась до $(0,86 \pm 0,34)$

колониобразующих единиц — КОЕ/мл ($p < 0,001$), во 2—й подгруппе — до $(5,20 \pm 0,37)$ КОЕ/мл ($p < 0,001$), то есть соответственно на 94,9 и 70,79%. Это убедительно доказывает эффективность озонотерапии при ГХ вследствие, с одной стороны, активации перекисного окисления липидов, с другой стороны, стимуляции внутриклеточного синтеза антиоксидантов, что способствует повреждению ферментных транспортных и рецепторных систем, обеспечивающих жизнедеятельность бактериальных клеток, их гибели и уменьшению выраженности воспалительного процесса в ОЖП и печени.

Результаты наших наблюдений в обеих подгруппах при ГХ подтверждают взаимосвязь между изменениями биохимических, клинических, иммунологических, антиоксидантных показателей. У всех животных отмечена значительная гипербилирубинемия.

На 12—е сутки лечения в 1—й подгруппе уровень общего, прямого, непрямого билирубина уменьшился соответственно на 37,6, 11 и 47,6% по сравнению с таковым во 2—й подгруппе, а по сравнению с нормой был больше в 2,9 раза; во II группе — в 4,6 раза.

Активность трансаминазы, отражавшая процесс цитолиза гепатоцитов, АЛТ и АСТ в обеих подгруппах при ГХ на 5—е сутки увеличилась соответственно на 15,1, 14,6 и 19,8%; в 1—й подгруппе на 12—е сутки активность АЛТ составляла 43,4%, АСТ — 19,5%. Во 2—й подгруппе, несмотря на снижение этих показателей в 4,6 раза, она была выше нормы.

Важное значение при ГХ имеет активность щелочной фосфатазы (ЩФ). В обеих подгруппах при моделировании ГХ она повысилась на 11,1% и составляла соответственно $(2022,5 \pm 99,7)$ и $(2102 \pm 124,5)$ Ед/л, в норме — $(182,0 \pm 13,6)$ Ед/л ($p < 0,001$). На 12—е сутки в 1—й подгруппе активность ЩФ уменьшилась до $(758,6 \pm 73,5)$ Ед/л ($p < 0,001$), то есть в 4,2 раза, и оставалась больше нормы.

Во 2—й подгруппе активность ЩФ уменьшилась до $(11,99 \pm 102,9)$ Ед/л ($p < 0,001$). Несмотря на ее

уменьшение в 6,6 раза, она превышала таковую в норме.

По сравнению с 2-й подгруппой, уменьшение показателя в 1-й подгруппе было в 1,6 раза больше. Это свидетельствовало об эффективности озонотерапии и целесообразности продолжения ее применения при ГХ.

Немаловажную роль при ОЖ играют процессы пероксидации. В эксперименте при ГХ на 5-е сутки уровень малонового диальдегида (МДА) повысился в обеих подгруппах соответственно до $(2,269 \pm 0,209)$ и $(2,774 \pm 0,163)$ моль/л, в норме — $(0,386 \pm 0,015)$ моль/л ($p < 0,001$); диеновых конъюгат (ДК) — до $(0,888 \pm 0,083)$ и $(0,656 \pm 0,061)$ ед. ($p < 0,001$), в норме — $(0,266 \pm 0,022)$ ед.; активность антиоксидантной системы (АОС) снизилась до $(0,45 \pm 0,06)$ и $(0,48 \pm 0,06)$ ед. ($p < 0,001$), в норме — $(1,55 \pm 0,07)$ ед.

Под влиянием озонотерапии активность АОС в 1-й подгруппе достоверно повышалась в 3,5 раза по сравнению с таковой во 2-й подгруппе.

Применение озонотерапии способствовало уменьшению содержания МДА и ДК в 4,4 раза, повышению активности АОС в 3,5 раза по сравнению с таковыми при проведении базисной терапии, это убедительно свидетельствовало о преимуществах и важности озонотерапии в комплексе лечения ГХ.

Учитывая первостепенную роль иммунной защиты в течении ГХ и ОЖ, мы проводили иммунологический мониторинг в обеих подгруппах. По данным лабораторных исследований, до моделирования ГХ в обеих подгруппах иммунный статус был в норме. После возникновения ГХ на 5-е сутки в обеих подгруппах отмечено уменьшение абсолютного и относительного количества CD3 — соответственно $(47,0 \pm 0,8)$ и $(47,6 \pm 0,8)\%$, исходное — $(55,3 \pm 0,6)\%$; CD4 — до $(23,4 \pm 0,5)$ и $(23,4 \pm 0,4)\%$, исходное — $(32,8 \pm 0,7)\%$; что обусловило снижение индекса CD4/CD8 — до $1,00 \pm 0,04$ и $0,98 \pm 0,04$, исходный $1,46 \pm 0,07$ ($p < 0,001$).

Абсолютное количество В-лимфоцитов (CD19) было увеличено до $(16,3 \pm 0,4)$ и $(16,2 \pm 0,4)\%$, исходное

— $(12,6 \pm 0,4)\%$ ($p < 0,01$). Из показателей гуморального звена иммунитета обращали внимание на повышение уровня в сыворотке крови в обеих подгруппах IgM — до $(1,98 \pm 0,06)$ и $(1,97 \pm 0,05)$ г/л, исходный — $(0,90 \pm 0,08)$ г/л ($p < 0,01$). Показатели стимулированного фагоцитоза и фагоцитарное число были меньше и составляли в обеих подгруппах $30,2 \pm 0,6$ и $29,8 \pm 0,8$, исходное — $36,0 \pm 0,7$.

Концентрация основных иммуноглобулинов в сыворотке крови, кроме IgM, была меньше нормы. Содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в плазме, хотя увеличилось, но оставалось в пределах дискретных величин — $(100,8 \pm 5,1)$ и $(101,4 \pm 5,7)$ ед., исходное — $(62,2 \pm 2,9)$ ед. ($p < 0,001$). В динамике лечения на 12-е сутки в 1-й подгруппе наблюдали улучшение показателей как гуморального, так и клеточного иммунитета. Так, абсолютное количество CD3 составляло $(53,7 \pm 0,6)\%$, исходное — $(55,3 \pm 0,6)\%$; CD4 — $(32,7 \pm 0,4)\%$, исходное $(32,8 \pm 0,7)\%$. Во 2-й подгруппе эти показатели, несмотря на их увеличение, были ниже нормы: CD3 — $(52,7 \pm 0,9)\%$, CD4 — $(30,7 \pm 0,6)\%$.

В 1-й подгруппе фагоцитарная активность увеличилась почти до нормы и составляла $(34,5 \pm 0,4)$ ед., исходная — $(36,0 \pm 0,7)$ ед. ($p < 0,01$).

Количество CD19 в 1,2 раза ($p < 0,001$) увеличилось относительно нормы. Также наблюдали увеличение уровня иммуноглобулинов к 12-м суткам: IgG в 1,4 раза ($p < 0,001$), IgA — в 1,1 раза; IgM — в 1,6 раза ($p < 0,001$).

Уровень ЦИК значительно уменьшился, почти до нормы. Все это свидетельствовало о прекращении аутоиммунных реакций вследствие положительного воздействия озонотерапии на иммунный статус.

Проведена сравнительная оценка эффективности озонотерапии у экспериментальных животных при холедохолитиазе без инфицирования желчи.

У 14 собак (1-я подгруппа) проводили озонотерапию, у 13 (2-я подгруппа) — базисную терапию.

При холедохолитиазе желчь, взятая во время операции, была услов-

но чистой в обеих подгруппах. На 5-е сутки во время релапаротомии удалена лигатура с ОЖП для моделирования холедохолитиаза. По данным бактериологического исследования желчь была стерильной в обеих подгруппах.

В обеих подгруппах у собак при холедохолитиазе отмечали значительно выраженную гипербилирубинемия. Уровень общего билирубина составлял $(130,20 \pm 17,8)$ мкмоль/л, исходный — $15,22$ мкмоль/л, то есть в 8,7 раза больше нормы; уровень прямого билирубина повысился примерно в 62,9 раза.

При ОЖ и прогрессировании холестаза активность фракций печени уменьшается. При этом гепатоциты теряют способность захвата свободного билирубина, содержащегося в крови. Наряду с фракцией свободного билирубина, увеличивается содержание прямого билирубина в 2,2 раза по сравнению с нормой.

В динамике лечения на 12-е сутки в 1-й подгруппе уровень общего билирубина составлял $(47,3 \pm 5,3)$ мкмоль/л ($p < 0,001$); во 2-й подгруппе — $(47,6 \pm 5,5)$ мкмоль/л, исходный $(15,2 \pm 2,0)$ мкмоль/л, то есть в обеих подгруппах уровень общего билирубина в 3,1 раза превышал таковой в норме. Уменьшение концентрации свободного билирубина в 1-й подгруппе составляло 29,7%, во 2-й подгруппе — 29,6%, различия недостоверны.

Активность АЛТ и АСТ на 5-е сутки в обеих подгруппах повысилась соответственно в 15,7 и 15,8 раза по отношению к норме.

На 12-е сутки в 1-й подгруппе активность АЛТ уменьшилась до $(68,8 \pm 7,4)$ q/l, исходная — $(23,4 \pm 3,8)$ q/l, во 2-й подгруппе — до $(64,8 \pm 8,8)$ q/l, то есть в 1-й подгруппе уменьшение было больше, чем во 2-й. Активность АСТ уменьшилась в 1,1 раза в 1-й подгруппе, различия недостоверны.

Активность ЩФ в крови при холедохолитиазе (без инфицирования желчи) в обеих подгруппах по сравнению с таковой в норме на 5-е сутки повысилась в 12,1 и 12,0 раза — соответственно на 85,8 и 72,5%. В динамике лечения на 12-е

сутки в 1-й подгруппе она уменьшилась на 4,5%, во 2-й подгруппе — на 4,2%, различия недостоверны.

На 5-е сутки уровень ДК в эритроцитах в 1-й подгруппе повысился в 6,6 раза, во 2-й — в 6,7 раза по сравнению с нормой. На 12-е сутки в обеих подгруппах наблюдали уменьшение содержания ДК, однако оно в 2,2 раза превышало таковое в норме.

Несмотря на устранение обтурации ОЖП и проведение базисной терапии, содержание ДК в эритроцитах в обеих подгруппах уменьшалось недостоверно.

В обеих подгруппах при холедохолитиазе на 5-е сутки содержание в крови МДА составляло соответственно $(2,756 \pm 0,178)$ и $(2,760 \pm 0,91)$ моль/л, исходное — $(0,386 \pm 0,015)$ моль/л, то есть в 3,8 раза ($p < 0,001$) больше нормы. На 12-е сутки наблюдали его уменьшение в обеих подгруппах, в 1-й подгруппе — до $(1,461 \pm 0,130)$ моль/л ($p < 0,001$), во 2-й подгруппе — до $(1,457 \pm 0,125)$ моль/л ($p < 0,001$).

На 12-е сутки снижение уровня МДА в обеих подгруппах было одинаковым, разница составляла 0,3%. Также в динамике лечения наблюдали повышение активности АОС в крови, почти одинаковое в обеих подгруппах.

На 5-е сутки лечения при холедохолитиазе, осложнившимся ОЖ, в обеих подгруппах отмечено уменьшение количества CD3 — соответственно до $(48,0 \pm 0,7)\%$ ($p < 0,001$) и

$(47,6 \pm 0,8)\%$ ($p < 0,001$), исходное — $(55,3 \pm 0,6)\%$; CD4 — до $(23,5 \pm 0,4)$ и $(23,4 \pm 0,4)\%$ ($p < 0,001$), в норме — $(32,8 \pm 0,7)\%$. Недостоверное изменение количества CD8 обусловило изменение соотношения CD4/CD8 — до $0,97 \pm 0,04$ ($p < 0,001$) и $0,98 \pm 0,04$ ($p < 0,001$), в норме — $1,46 \pm 0,07$.

Фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов снижалась до $(30,2 \pm 0,6)$ ед. ($p < 0,001$) и $(29,8 \pm 0,8)$ ед., в норме — $(36,0 \pm 0,7)$ ед. Уменьшение субпопуляции Т-лимфоцитов CD3 выявило некоторую тенденцию к напряжению в В-звене иммунитета. Количество CD19 в обеих подгруппах увеличилось — соответственно до $(16,3 \pm 0,4)\%$ и $(16,2 \pm 0,4)\%$, исходное — $(12,6 \pm 0,4)\%$.

В обеих подгруппах при холедохолитиазе отмечено выраженное изменение уровня иммуноглобулинов, что проявлялось достоверным снижением уровня IgG и IgA и повышением — IgM, различия в подгруппах недостоверны.

На 12-е сутки в обеих подгруппах количество Т-лимфоцитов (CD3) в 1-й подгруппе увеличилось до $(54,0 \pm 0,7)\%$; во 2-й подгруппе — до $(53 \pm 0,6)\%$ ($p < 0,001$), исходное — $(55,3 \pm 0,6)\%$. Несмотря на медленное увеличение показателя во 2-й подгруппе, улучшение составило 98,5%, различия в подгруппах недостоверны.

Положительные результаты отмечены также в Т-системе иммуни-

тета, однако различия недостоверны.

Количество В-лимфоцитов (CD19) увеличилось в 1,1 раза ($p < 0,001$); уровень IgG — в 1,4 раза ($p < 0,001$); IgA — в 1,1 раза ($p < 0,001$); IgM — в 1,6 раза ($p < 0,001$) по отношению к исходному. Уровень ЦИК значительно уменьшился, почти до нормы, что свидетельствовало о прекращении аутоиммунных реакций.

Таким образом, анализ данных лабораторных исследований при холедохолитиазе (без инфицирования желчи) у экспериментальных животных показал, что, независимо от вида лечения (озонотерапия, базисная терапия), положительные результаты в обеих подгруппах не различались.

Это свидетельствовало, что после устранения холестаза у экспериментальных животных при холедохолитиазе (без инфицирования желчи), улучшался отток желчи, нормализовались лабораторные показатели. Различия составляли всего 0,1%, следовательно озонотерапию в комплексе лечения можно назначать как дополнительный компонент.

Применение озонотерапии в комплексе лечения ГХ позволило улучшить лабораторные показатели в 6,6 раза, что свидетельствует о целесообразности применения озонотерапии в качестве основного компонента в комплексе его лечения.

ЛИТЕРАТУРА

- Аллазов Т. А. Влияние озонотерапии на морфофункциональное состояние холедоха и печени при механической желтухе и гнойном холангите / Т. А. Аллазов // Вестн. АГИУВ. — 2010. — № 2(10). — С. 50 — 52.
- Корабельников А. И. Влияние озона на динамику реологических показателей крови / Т. А. Аллазов // Озон и методы эффективной терапии в медицине: тез. докл. IV Всерос. науч.—практ. конф. — Н. Новгород, 2000. — С. 75 — 76.
- Аллазов Т. А. О бактериологических критериях оценки эффективности лечения холангита применением озонотерапии (экспериментальное исследование) / Т. А. Аллазов // Вестн. хирургии Казахстана. — 2009. — № 2(18). — С. 20 — 22.
- Аллазов Т. А. Эффективность озонотерапии в комплексном лечении больных с воспалительными заболеваниями желчных путей / Т. А. Аллазов // Cerrahiye. J. — 2009. — N 4(20). — С. 79 — 82.
- Яковлев Е. И. Влияние озонированного физиологического раствора на ультраструктуру неокортекса и печени / Е. И. Яковлев // Нижегород. мед. журн. — 2003. — Приложение "Озонотерапия". — С. 16.
- Аллазов Т. А. Лечебные возможности озонотерапии в послеоперационном лечении механической желтухи и гнойного холангита / Т. А. Аллазов // Материалы Междунар. науч. конф., посвящ. 80-летию Азерб. мед. ун-та. — Баку, 2010. — С. 100 — 101.
- Юдин А. А. Функционально—морфологические нарушения почек при остром обтурационном холестазах и их коррекция: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. А. Юдин. — Саранск, 2010. — 21 с.
- Беляев А. Н. Новые технологии внутривенных инфузий в хирургии и интенсивной терапии / А. Н. Беляев // Общ. реаниматология. — 2006. — Т. 2, № 4/1. — С. 655 — 657.
- Аллазов Т. А. Клинико—экспериментальное обоснование применения озонотерапии в лечении механической желтухи, осложненной гнойным холангитом / Т. А. Аллазов // Aztrb. Onkol. Hematol. J. — 2009. — N 1. — С. 117 — 121.
- Шабунин А. В. Пути повышения эффективности декомпрессии желчевыводящих путей при механической желтухе неопухолевого генеза: автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. В. Шабунин. — М., 1997. — 16 с.
- Гаджиев Н. Д. Системная и местная озонотерапия в комплексном лечении острого калькулезного холецистита / Н. Д. Гаджиев // Анналы хирург. гепатологии. — 2008. — Т. 13, № 3. — С. 221.