

## Функциональное состояние микроциркуляторного русла зоны кишечного анастомоза в послеоперационном периоде на фоне стимуляции его регенерации (экспериментальное исследование)

Сергей Викторович Поройский, Егор Андреевич Морозов ✉

Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия

**Аннотация.** Цель работы: в эксперименте провести сравнительную оценку функционального состояния микроциркуляторного русла зоны дигестивного анастомоза в раннем и позднем послеоперационном периоде при местном использовании аутогенных факторов роста (PRP). Эксперимент выполнен на 30 половозрелых лабораторных кроликах. Всем животным выполнялось наложение двух дигестивных тонкокишечных анастомозов «конец в конец»: контрольный – на расстоянии 15 см от илеоцекального угла и опытный – отступив на 30 см от наложенного анастомоза. Опытный анастомоз отличался от контрольного применением способа местной стимуляции его регенерации с использованием инъекционного введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами (PRP). Сравнительная оценка функционального состояния микроциркуляции зоны кишечного анастомоза проводилась на 3, 7, 14-е сутки послеоперационного периода с использованием метода лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). Полученные данные определили способность метода PRP улучшать условия течения регенеративного процесса в зоне кишечного анастомоза за счет увеличения скорости базального кровотока и перфузии тканей, показатели которых имеют максимальные значения в раннем послеоперационном периоде (3-и сутки).

**Ключевые слова:** несостоятельность анастомоза, кишечный анастомоз, микроциркуляция, регенерация, факторы роста, плазма, обогащенная тромбоцитами

ORIGINAL RESEARCHES

Original article

doi: <https://doi.org/10.19163/1994-9480-2023-20-1-88-91>

## Functional condition of microcirculation in the zone of intestinal anastomosis during postoperative period upon stimulation of its regeneration (experimental study)

Sergey V. Poroytsky, Egor A. Morozov ✉

Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia

**Abstract. Objectives:** to conduct a comparative assessment of the functional condition of microcirculation of the digestive anastomosis zone in the early and delayed postoperative period upon local usage of autogenic growth factors (PRP). The experiment was performed on 30 mature laboratory rabbits. All animals underwent the imposition of two digestive "end-to-end" intestinal anastomosis: the control one – at a distance of 15 cm from the ileocecal angle and the experimental one – retreating 30 cm from the imposed anastomosis. The experimental anastomosis differed from the control one by using a method of local stimulation of its regeneration via injecting of platelet-riched-plasm (PRP). A comparative assessment of the functional state of the microcirculation of the intestinal anastomosis zone was carried out on the 3rd, 7th, 14th days in the postoperative period using the method of laser doppler flowmetry (LDF). The obtained data determined the ability of the PRP method to improve the conditions of the regenerative process in the intestinal anastomosis zone by increasing the rate of basal blood flow and tissue perfusion, the rates of which have maximum values in the early postoperative period (3 day).

**Keywords:** anastomosis insufficiency, intestinal anastomosis, microcirculation, regeneration, growth factors, platelet-enriched plasma

### ВВЕДЕНИЕ

В современной реконструктивной хирургии желудочно-кишечного тракта проблема несостоятельности кишечных анастомозов занимает важное место и остается одним из самых тяжелых осложнений, которое встречается в 2–39 % случаев без значительной тенденции к снижению [1, 2].

В литературе описано множество причин, влияющих на развитие данного осложнения, такие как

технические погрешности формирования анастомоза, неблагоприятные факторы при формировании анастомоза, бактериальная обсемененность зоны анастомоза, нарушение кровоснабжения с ишемией сшиваемых концов кишечника, вовлечение стенок кишечника в воспалительный процесс, анемия, наличие злокачественных образований, снижение регенераторных способностей тканей области анастомоза [3, 4, 5, 6].

Проведено множество исследований, посвященных проблеме профилактики осложнений, связанных с несостоятельностью анастомоза, направленных на решение технических проблем формирования дигестивных анастомозов, улучшение их состоятельности и герметичности, с использованием различных методов укрытия и защиты анастомозов желудочно-кишечного тракта. При этом поиск новых, эффективных методов снижения вероятности несостоятельности дигестивных анастомозов до настоящего времени не теряет своей актуальности. Одним из перспективных направлений является разработка способов стимулирующего влияния на регенераторный потенциал зоны кишечного анастомоза [6, 7].

В многочисленных исследованиях доказана роль факторов роста в процессах регенерации поврежденных тканей. При этом одним из объектов исследования является обогащенная тромбоцитами аутоплазма (PRP). Она является наиболее удобным источником аутогенных факторов роста, а также содержит в себе значительное количество цито-, хемокинов, фибриногенов и других белков, которые участвуют в процессе заживления поврежденной ткани, стимулируют образование коллагена, индуцирует процессы неоангиогенеза, рост эндотелия, обладают противовоспалительным эффектом, а также уменьшают риск инфекционных осложнений [7, 8].

### ЦЕЛЬ РАБОТЫ

В эксперименте провести сравнительную оценку функционального состояния микроциркуляторного русла зоны дигестивного анастомоза в раннем и позднем послеоперационном периоде при местном использовании аутогенных факторов роста (PRP).

### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании использовали 30 половозрелых (4–5 мес.) лабораторных кроликов-самцов породы советская шиншилла (массой 2,0–2,5 кг). Все животные перед включением в эксперимент осматривались ветеринарным врачом для оценки соматического статуса. Кролики содержались в индивидуальных клетках и имели свободный доступ к воде и гранулированному корму. Все оперативные вмешательства выполнялись одним хирургом.

Для стандартизации условий эксперимента и условий течения процесса регенерации кишечного анастомоза, каждому животному выполнялось наложение двух тонкокишечных анастомозов. В асептических условиях, под общей внутривенной анестезией (золетил 100 в дозировке 0,5 мг/кг) выполнялась энтеротомия с последующим наложением тонкокишечного анастомоза «конец в конец»: контрольный – на расстоянии 15 см от илеоцекального угла, опытный – отступив на 30 см от наложенного анастомоза. Опытный анастомоз отличался от контрольного применением способа местной

стимуляции его регенерации с использованием инъекционного введения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами (PRP). При формировании «опытного» кишечного анастомоза, перед наложением кишечных швов, в мышечный слой стенки дистального и проксимального участков кишки осуществлялось введение обогащенной тромбоцитами аутоплазмы, содержащей аутогенные факторы роста (PRP). Введение PRP в стенку кишки производилось с использованием стандартного инсулинового шприца (1 мл) с инъекционной иглой (32G). При этом технической особенностью применения PRP стало ее введение со стороны раневого края кишки (исключая травматизацию серозной и слизистой оболочки). В раневые края дистального и проксимального участка кишки, в проекции 3, 9 и 12 часов условного циферблата (принимая за 6 часов брыжеечную часть раневого края кишки), осуществлялось по 3 инъекции с введением 0,5 мл обогащенной тромбоцитами аутоплазмы. После введения в раневые края дистального и проксимального участка кишки, обогащенной тромбоцитами аутоплазмы, содержащей аутогенные факторы роста, осуществляется наложение кишечных швов с окончательным формированием кишечного анастомоза. Обогащенная тромбоцитами аутоплазма, содержащая аутогенные факторы роста, изготовлялась интраоперационно, непосредственно перед ее введением в раневые края дистального и проксимального участка кишки формируемого анастомоза. При этом выполнялся забор венозной крови из краевой ушной вены кролика в объеме 6 мл.

После заполнения кровью стандартной пробирки, используемой для приготовления PRP, выполнялось ее центрифугирование в режиме 3500 оборотов в минуту в течение 5 минут. Из центрифугированной в пробирке венозной крови осуществлялся забор выделившегося слоя плазмы, обогащенной тромбоцитами, в 6 шприцев по 0,5 мл плазмы в каждый. Формируемые в эксперименте анастомозы формировались однорядным узловым серозно-мышечно-подслизистым швом, атравматическим шовным материалом VICRYL 4-0.

Сравнительная оценка функционального состояния зоны кишечного анастомоза проводилась на 3, 7, 14-е сутки, в группах по 10 кроликов методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) с использованием двуканального лазерного анализатора ЛАКК-02 (ООО НПП «ЛАЗМА») [9]. В указанные сроки, в стерильных условиях операционной, животным под наркозом выполнялись: релапаротомия, ревизия брюшной полости, выведение в рану тонкой кишки с наложенными контрольным и опытным анастомозами, ЛДФ-оценка локального кровотока в режиме двухканальной одновременной записи в течение 1 минут (первый датчик устанавливался на зону контрольного кишечного анастомоза, второй – в зону анастомоза с применением PRP). У каждого животного выполнялись две серии записи ЛДФ-граммы из разных участков исследуемых зон анастомозов. При выполнении

ЛДФ определялись: величина среднего потока перфузии крови – «М» в интервале времени регистрации в перфузионных единицах (пф. ед.), среднее колебание перфузии относительно значения М ( $\sigma$  – «Флак»), вычисляемое по формуле для среднеквадратичного отклонения (пф. ед.), коэффициент вариации –  $Kv$  ( $Kv = \sigma/M \cdot 100\%$ ).

Обработка и анализ полученных данных произведены в программе Microsoft Excel 2019 с надстройкой анализа данных, достоверность оценивалась с помощью U-критерия Манна – Уитни.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

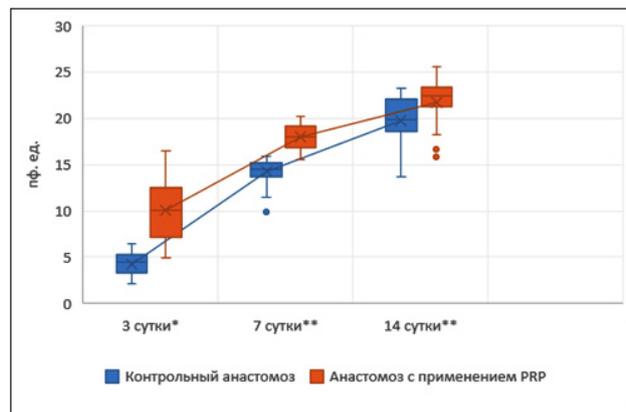
Все животные выжили до конца экспериментального исследования. Клинических признаков послеоперационных осложнений не отмечалось. Стул у всех исследуемых животных наблюдался с конца первых суток. ЛДФ-оценка и анализ полученных данных позволили получить данные о функциональном состоянии локального кровотока в режиме двухканальной одновременной записи (табл.).

#### Показатели состояния микроциркуляторного русла в области кишечного анастомоза в раннем (3-и сутки) и позднем (7-е и 14-е сутки) послеоперационном периоде

Показатели	Контрольный анастомоз			Анастомоз с применением PRP		
	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки
M, пф.ед.	4,28 ± 1,21	14,20 ± 1,52	19,75 ± 2,87	10,06 ± 3,17*	17,93 ± 1,37**	21,75 ± 2,84**
Kv	7,82 ± 1,61	6,92 ± 2,42	5,98 ± 2,93	9,19 ± 2,38**	8,82 ± 2,64***	6,08 ± 2,32
$\sigma$ , пф.ед.	0,49 ± 0,42	1,24 ± 0,60	1,18 ± 0,42	1,01 ± 0,81**	1,60 ± 0,57***	1,53 ± 0,50***

\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,05$ , достоверность оценивалась с помощью U-критерия Манна – Уитни

При этом в раннем послеоперационном периоде отмечалось значительное увеличение вариативности тканевого кровотока в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ), что свидетельствует об улучшении перфузии тканей кровью в области анастомоза (рис.). Тогда как, по данным проанализированной литературы, именно на ранних сроках отмечаются значительное снижение кровоснабжения и нарастание признаков ишемии в области кишечных анастомозов.



\* $p < 0,001$ , \*\* $p < 0,01$ , достоверность оценивалась с помощью U-критерия Манна – Уитни

Рис. Величина среднего потока перфузии крови (M) в раннем (3-и сутки) и позднем (7, 14-е сутки) послеоперационном периоде

Уровень флакса на 3-и сутки исследования в области контрольного анастомоза был в 2,1 раза меньше, чем в группе анастомозов с применением PRP, а коэффициент вариации меньше по сравнению с группой сравнения ( $9,19 \pm 2,38\%$ ), данная разли-

ца является статистически достоверной ( $p < 0,01$ ). Следует отметить увеличение величины  $Kv$  (%) в области кишечного анастомоза с применением PRP на 3-и и 7-е сутки ( $p < 0,05$ ). Наблюдаемое увеличение данного коэффициента связано с повышением среднего колебания перфузии относительно значения среднего потока перфузии крови. Это свидетельствует об увеличении вазомоторной активности сосудов за счет активации эндотелиальной секреции, миогенного и нейрогенного механизмов регуляции.

При изучении параметров базального кровотока на 7-е и 14-е сутки (в позднем послеоперационном периоде) в зонах «контрольных» и «опытных» анастомозов также была выявлена достоверная разница. Так отмечалось увеличение среднего потока перфузии крови в группе сравнения ( $p < 0,01$ ). Показатель коэффициента вариации на 7-е сутки оставался выше в группе сравнения с выравниванием значения к 14-м суткам.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные экспериментальные данные отражают способность местного применения аутоплазмы, обогащенной тромбоцитами, обеспечивать условия, снижающие риски ишемических последствий в зоне сформированного анастомоза за счет увеличения показателей базального кровотока и перфузии тканей. При этом наибольшее увеличение показателей базального кровотока и перфузии тканей области дигестивного анастомоза с применением PRP наблюдается в раннем послеоперационном периоде (3-и сутки), что является важным в предупреждении несостоятельности кишечных анастомозов в наиболее уязвимый период.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

## REFERENCES

1. Leichtle S.W., Mouawad N.J., Welch K.B. et al. Risk factors for anastomotic leakage after colectomy. *Dis Colon Rectum*. 2012;55(5):569–575.
2. Eberhardt J.M., Kiran R.P., Lavery I.C. The impact of anastomotic leak and intraabdominal abscess on cancer-related outcomes after resections for colorectal cancer: a case control study. *Dis Colon Rectum*. 2009;52:380–386.
3. Жариков А.Н., Лубянский В.Г., Кантеева Ю.Л. Влияние нарушений региональной гемодинамики и микроциркуляции кишечной стенки на возникновение острых перфораций тонкой кишки. *Вестник экспериментальной и клинической хирургии*. 2015;1:34–44. doi: 10.18499/2070-478X-2015-8-1-34-44.
4. Поройский С.В., Морозов Е.А. Исследование особенностей микроциркуляции зоны дигестивного анастомоза в раннем и позднем послеоперационном периоде как предиктора его несостоятельности. *Вестник Волгоградского государственного медицинского университета*. 2022;19(2):105–110. doi: 10.19163/1994-9480-2022-19-2-105-110.
5. Pommergaard H.C., Achiam M.P., Burcharth J., Rosenberg J. Impaired blood supply in the colonic anastomosis in mice compromises healing. *Int Surg*. 2015;100(1):70–76. doi: 10.9738/INTSURG-D-13-00191.1. PMID: 25594642.
6. Агаев Э.К., Исмаиловой З.Э., Мамедов Т.Э. Профилактика несостоятельности швов кишечных анастомозов. *Новости хирургии*. 2022;30(1):86–94. doi: 10.18484/2305-0047.2022.1.86
7. Giusto G., Vercelli C., Iussich S. et al. Comparison of the effects of platelet-rich or growth factor-rich plasma on intestinal anastomosis healing in pigs. *BMC Vet Res*. 2017;13(1):188. doi: 10.1186/s12917-017-1102-8.
8. Foster T.E., Puskas B.L., Mandelbaum B.R. et al. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med*. 2009;37(11):2259–2272. doi: 10.1177/0363546509349921. PMID: 19875361.
9. Хрипун А.И., Прямиков А.Д., Шурыгин С.Н. и др. Лазерная доплеровская флоуметрия в выборе объема резекции кишечника у больных острым артериальным нарушением мезентериального кровообращения. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова*. 2012;10:40–44.

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Информация об авторах**

*С.В. Поройский* – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой медицины катастроф, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-6990-6482>, [poroyskiy@mail.ru](mailto:poroyskiy@mail.ru)

*Е.А. Морозов* – ассистент кафедры общей хирургии с курсом урологии, Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, Россия; <https://orcid.org/0000-0001-9495-3424>, [egor050795@rambler.ru](mailto:egor050795@rambler.ru)

Статья поступила в редакцию 10.10.2022; одобрена после рецензирования 29.11.2022; принята к публикации 06.12.2022.

**Competing interests.** The authors declare that they have no competing interests.

**Information about the authors**

*Sergey V. Poroyskiy* – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Head of the Department of Emergency Medicine Chair, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-6990-6482>, [poroyskiy@mail.ru](mailto:poroyskiy@mail.ru)

*Egor A. Morozov* – Assistant of the Department of the General Surgery with the Course of Urology, Volgograd State Medical University, Volgograd, Russia; <https://orcid.org/0000-0001-9495-3424>, [egor050795@rambler.ru](mailto:egor050795@rambler.ru)

The article was submitted 10.10.2022; approved after reviewing 29.11.2022; accepted for publication 06.12.2022.