

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ОБРАЗОВАНИЕ СПАЕК ПРИ ЛАПАРОСКОПИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЯХ

**Н.С. МАЙЛОВА¹, А.А. ОСИПОВА¹
Р. КОРОНА², М. БИНДА²
Ф. КОНИНКС², Л.В. АДАМЯН¹**

*¹⁾ Московский государственный
медико-стоматологический
университет*

*²⁾ Католический университет Ле-
вена, кафедра акушерства
и гинекологии, Левен, Бельгия*

e-mail: rukarina@yandex.ru

Представленные данные демонстрируют высокую способность крови вызывать спаечный процесс и противоспаечный эффект газовых смесей, содержащих вместо чистого CO₂, CO₂ с добавлением 10% N₂O или 4% кислорода. Данные результаты расширяют концепцию о значимой роли острого воспаления всей брюшной полости в формировании спаек, обозначают основными в профилактике формирования спаек качество проводимого оперативного вмешательства с минимальным кровотечением и кондиционирование брюшной полости.

Ключевые слова: спайки, кровь, лапароскопия, модель на мышах, пневмоперитонеум.

Введение. Сегодня спайкообразованию придается огромное клиническое значение, так как у 60-90% пациентов, перенесших объемные гинекологические операции, образуются послеоперационные спайки [1, 2]. Достаточно часто спайки приводят к серьезным краткосрочным и долгосрочным осложнениям, таким как бесплодие [3, 4, 5], риск развития обструкции тонкого кишечника, с сопутствующей морбидностью, расходами на лечение и повышением риска смертности. Спайкообразование также осложняет проведение повторных оперативных вмешательств [6].

Патофизиология формирования спаек традиционно рассматривается как локальный процесс, развивающийся вследствие хирургической травмы перитонеальных поверхностей, включающих как мезотелиальные клетки так и базальную мембрану и субэндотелиальную соединительную ткань. Данные процессы приводят к воспалительной реакции, экссудации [7], отложению фибрина и росту капилляров в очагах повреждения. Степень спайкообразования зависит от баланса естественных механизмов заживления и необходимостью регулирования процесса фибринолиза [8, 9]. Расщепление фибрина происходит при фибринолизе параллельно с процессами заживления брюшины [11, 12].

Вышеописанные процессы в очаге повреждения модулируются факторами брюшной полости. Спайкообразование в очагах повреждения дозозависимо усиливается при пневмоперитонеуме с использованием чистого CO₂ [12, 13], десикации [14, 15] и травмы при манипуляции кишечника вне зоны оперативного вмешательства [16]. Мы считаем, что основополагающими механизмами формирования спаек являются мезотелиальная гипоксия, мезотелиальная гипероксия и реактивные формы кислорода, десикация и хирургическая травма [17, 18, 19]. Травма, возникающая вследствие хирургического повреждения и влияния перитонеальных факторов, приводит к острой воспалительной реакции всей брюшной полости, провоцирующей процесс спайкообразования [20].

На основании общеизвестных классических механизмов формирования спаек с участием фибрина считается, что основной мерой профилактики спаек является предупреждение кровотечения и проведение тщательного гемостаза. Несмотря на общепринятость используемой в клинической практике концепции, основанной на применении некоторых антикоагулянтов в профилактике спаек [21], следует отметить, что она недостаточно подтверждена фундаментальными, экспериментальными исследованиями и основывается на медицинских наблюдениях и косвенных данных об их эффективности.

Цель исследования. Изучить степень образования послеоперационных спаек при кровотечении и эффективность кондиционирования пневмоперитонеума в профилактике спаек при лапароскопии.



Материалы и методы. Исследование является проспективным рандомизированным контролируемым. В исследовании использовались мыши породы BALB/cOlaHsd, самки 9-10 недель, весом 18-20 грамм. Эксперимент проводился с использованием стандартной модели лапароскопии на мышах. Анестезию животным проводили пентобарбиталом (Нембутал, Sanofi Sante Animale, Brussels, Belgium), доза которого составила 0,08 мг/г. Вентиляцию проводили с помощью механического вентилятора для мышей (MiniVent, тип 845, Hugo Sachs Electronik-Harvard Apparatus GmbH, March-Hugstetten, Германия). Для инсуффляции газа в брюшную полость вводили 2 мм эндоскоп с внешним диаметром 3,3 мм (Karl Storz, Tuttlingen, Германия). Для наложения пневмоперитонеума использовали Thermoflator Plus (Karl Storz, Tuttlingen, Германия), который позволяет добавлять кислород к углекислому газу в необходимых концентрациях, для увлажнения газа использовали прибор Storz 204320 33 (Karl Storz, Tuttlingen, Германия). Животные и оборудование помещались в камеру при температуре 37°C. Длительность пневмоперитонеума (ПП) составляла 60 минут. С помощью биполярной коагуляции (20 Ватт, стандартный коагуляционный режим Autocon 350, Karl Storz, Tuttlingen, Германия) наносили стандартизированные повреждения (10 мм × 1,6 мм) по антимезентериальным границам каждой из маточных труб и по правой и левой стенке таза. Во всех экспериментах влияние крови, эритроцитов и плазмы путем интраперитонеальной инъекции после индукции спаек было стандартизировано.

Забор крови у мышей проводился с помощью пипетки Пастера из сфеноидальной вены и при пункции сердца перед началом каждого эксперимента под анестезией. Кровь помещали в пробирку с гепарином и центрифугировали 10 минут со скоростью 1000 оборотов в минуту при 4°C для разделения плазмы и эритроцитов. Осадок, содержащий эритроциты, растворяли в 1 мл физиологического раствора. Кровь, плазму или эритроциты, полученные из 1 мл крови, инъецировали интраперитонеально. Кровь хранилась при температуре 4°C. Степень спаечного процесса оценивалась на 7 сутки количественным методом (пропорция – соотношение площади спаечного процесса к площади изначального повреждения, %) и качественным (распространенность, тип, плотность) при лапаротомии под стереомикроскопом.

Первый эксперимент проводился для подтверждения и оценки адгезионного эффекта воздействия крови и ее компонентов (плазмы и эритроцитов) при лапароскопии.

Все эксперименты были блок рандомизированы по дням. В контрольной группе (группа I) мышам наносилось биполярное повреждение и наложение CO₂ ПП в течение 60 минут. В группах II, III и IV (n=5 в каждой группе) животным инъецировали интраперитонеально 1 мл крови, плазмы или растворенных эритроцитов, полученных из 1 мл крови соответственно.

Второй эксперимент имел целью оценить эффективность объема крови, провоцирующего спаечный процесс в модели, имитирующую лапароскопическую хирургию с CO₂ ПП. Животным II, III и IV групп (n=5 в каждой группе) добавляли 0,125, 0,25, 0,5 и 1 мл крови соответственно. Для анализа эффективности перитонеального кондиционирования использовали три варианта газовых смесей: CO₂ с добавлением 10% N₂O, CO₂ с добавлением 4% кислорода и CO₂ с добавлением 10% N₂O и 4% кислорода. Для оценки влияния этих трех смесей газов на формирование спаек они использовались в контрольной группе и группе с добавлением 0,5 мл крови.

Статистика. Для математической оценки полученных данных использовали непараметрический критерий Вилкоксона/Крускала-Уоллеса. Обработка данных производилась при помощи программы SAS System (SAS Institute, Cary, NC), для построения графиков использовали GraphPad Prism версии №5 (GraphPad Software Inc., San Diego CA). Все результаты представлены в виде средних значений и стандартного отклонения.

Результаты. Результаты первого эксперимента, отражающие зависимость спаечного процесса от наличия в брюшной полости крови и ее компонентов, демонстрируют, что степень спаечного процесса достоверно повышается при введении цельной крови, плазмы или эритроцитов по сравнению с контрольной группой (p < 0,0001, p < 0,0001, p = 0,0103, соответственно). Цельная кровь обладает более сильным адгезионным эффектом, чем плазма или эритроциты (p < 0,0001 для обоих сравнений), при

этом плазма способствует более выраженному образованию спаек по сравнению с эритроцитами ($p < 0,0001$) (рис. 1).

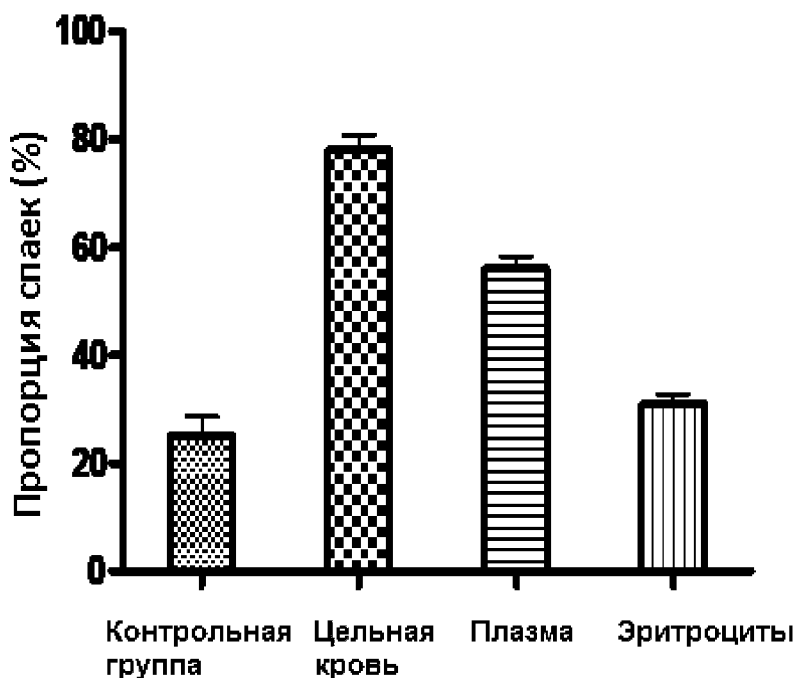


Рис. 1. Влияние крови и ее компонентов на формирование спаек во время лапароскопической хирургии

Анализ результатов исследования дозозависимости показал, что для индукции спаек достаточно 0,125 мл крови ($p < 0,0001$), при использовании доз до 0,5 мл эффект усиливается экспоненциально ($p < 0,0001$ для каждой дозы). Использование 1мл крови вместо 0,5 имеет незначительный добавочный эффект (NS).

Эксперимент, посвященный изучению влияния различных газовых смесей на спаечный процесс, показал, что в контрольной группе наблюдался эффект снижения формирования спаек при использовании вместо чистого CO_2 смеси CO_2 с 10% N_2O или 4% кислородом, или 10% N_2O и 4% кислородом вместе ($p < 0,0001$, $p = 0,009$ и $p < 0,0001$, соответственно). Результаты показывают максимальную эффективность добавления 10% N_2O , с небольшим добавочным эффектом использования смеси 10% N_2O и 4% кислорода. При добавлении 0,5 мл крови все три газовые смеси значительно снижали формирование спаек по сравнению с группой с использованием чистого CO_2 ПП ($p < 0,0001$ для всех трех групп). В контрольной группе добавление 10% N_2O было более эффективным в снижении спайкообразования по сравнению с добавлением 4% кислорода. Дополнение смеси CO_2 и 10% N_2O 4% кислородом существенно не усилило противоспаечный эффект (NS) (рис. 2).

Обсуждение. Анализ исследований показал, что данный эксперимент впервые позволил изучить детально влияние наличия цельной крови и ее отдельных компонентов в брюшной полости на формирование спаек. Спайки значительно усиливаются уже при введении 0,125 мл крови и данный эффект далее растет экспоненциально до дозы 0,5 мл, при этом 1 мл крови незначительно усиливает спаечный процесс по сравнению с 0,5 мл. Следует учитывать, что дозы 0,5 и 1 мл крови являются относительно большими, так как от одной мыши возможно максимально получить 2 мл крови.

Результаты демонстрируют, что степень адгезиогенного эффекта крови соответствует сумме отдельно полученных эффектов плазмы и эритроцитов. Анализ полученных результатов показал, что степень формирования спаек более высока при воздействии плазмы крови по сравнению с форменными элементами. Из этого следует, что кроме отложения фибрина важную роль в формировании спаек имеет острое вос-

паление брюшной полости, вызванное наличием в плазме компонентов резко повышающих адгезию тканей.

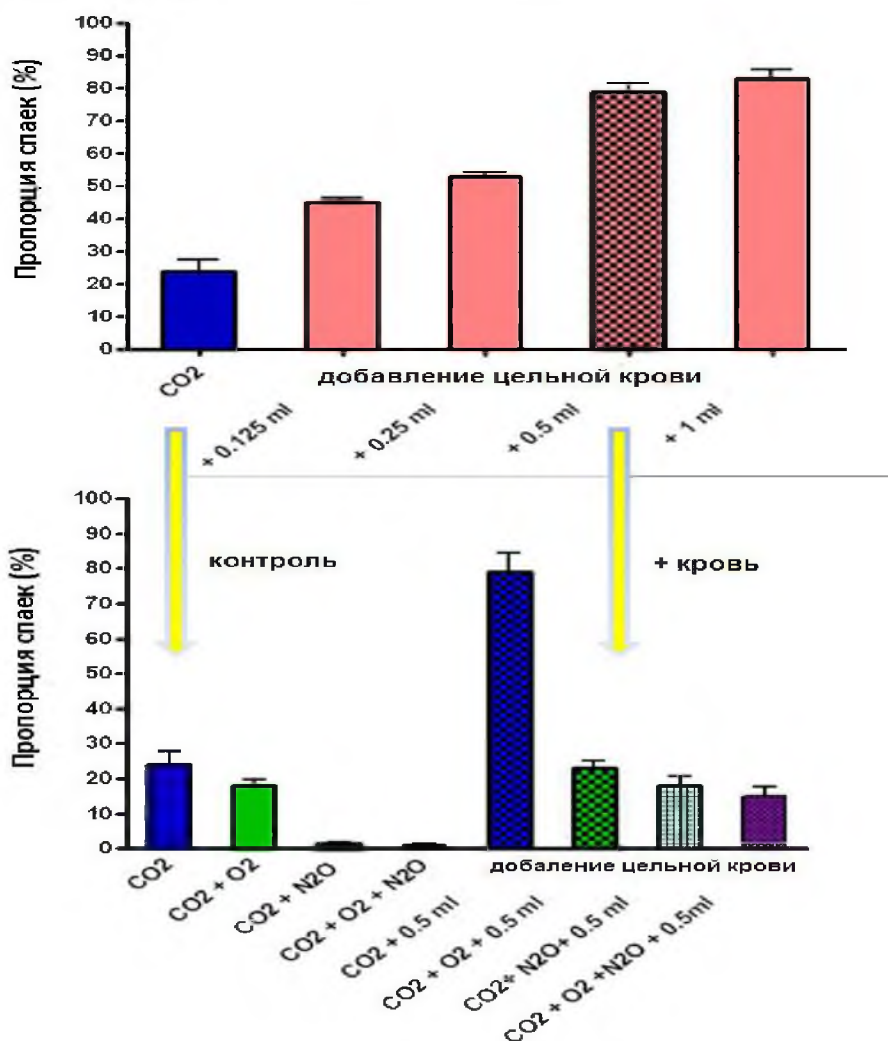


Рис. 2. Влияние добавления к CO₂ пневмоперитонеуму смесей N₂O, O₂ и наличия крови в брюшной полости на формирование спаек при лапароскопии

Данное исследование демонстрирует снижающий спайкообразование эффект при добавлении к чистому CO₂ ПП как 10%N₂O, так и 4% кислорода или обоих газов вместе. При этом в количественном плане добавление 10%N₂O значительно эффективнее по сравнению с добавлением 4% кислорода. Несмотря на недостоверное увеличение антиадгезиогенного эффекта при добавлении O₂ к смеси CO₂ и 10%N₂O (NS), необходимо учитывать этот эффект, который объясняется профилактикой мезотелиальной гипоксии при лапароскопии.

Эксперимент показал, что кондиционирование ПП снижает формирование спаек, усиленных наличием крови в брюшной полости. Мы считаем, что механизм снижения спаечного процесса здесь основывается на уменьшении острого воспаления во всей брюшной полости, выраженность которого значительно влияет на формирование спаек [22]. Безусловно, интересным результатом работы явилось выявление эффективности N₂O уже в малых концентрациях, таких как 10%. Антиадгезиогенное действие N₂O, возможно, объясняется его противовоспалительным эффектом: во-первых, блокадой одной из важнейших фаз воспалительного процесса – хемотаксиса, который снижается на 50% при применении N₂O [23]; во-вторых, опосредованным влиянием на снижение воспалительного процесса, а следовательно, спаек в связи с наличием анальгезирующего эффекта [24, 25].

Литература

1. Lower AM, Hawthorn RJ, Clark D, Boyd JH, Finlayson AR, Knight AD, Crowe AM; Adhesion-related readmissions following gynaecological laparoscopy or laparotomy in Scotland: an epidemiological study of 24 046 patients./ A.M. Lower [et al.]// Human Reproduction Vol.19, No.8 pp. 1877–1885, 2004.
2. Характеристика перитонеальных спаек при повторных операциях в гинекологии. Эндоскопия и альтернативные подходы в хирургическом лечении женских болезней /Л.В. Адамян [и др.]// М.: Пантори, 2001, с. 397-381.
3. Кулаков, В.И. Эндоскопия в гинекологии / В.И. Клаков, Л.В. Адамян. – М.: Медицина, 2000.
4. Эндоскопические реконструктивные операции при непроходимости маточных труб и перитонеальных спайках. Эндоскопия и альтернативные подходы в хирургическом лечении женских болезней / А.Ю. Данилов [и др.] // М.: Пантори, 2001, с. 397-381.
5. Петрович, Е.А. Инновационной подход к лечению трубно-перитонеального бесплодия./Е.А. Петрович, И.Б. Манухин // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии, 2010, т.9, №6, с. 5-10.
6. Характеристика перитонеальных спаек при повторных операциях в гинекологии./Л.В. Адамян [и др.] // Эндоскопия и альтернативные подходы в хирургическом лечении женских болезней. М.: Пантори, 2001, с. 397-381.
7. DiZerega, G.S. Biochemical events in peritoneal tissue repair./ G.S. DiZerega // Eur J Surg Suppl. 1997;(577):10-6.
8. Кулаков, В.И. Оперативная гинекология – хирургические энергии./В.И. Кулаков, Л.В. Адамян, О.А. Мынбаев // Руководство. – М. Медицина, Антидор, 2000.
9. Кулаков, В.И. Послеоперационные спайки (этиология, патогенез и профилактика)./ В.И. Кулаков, Л.В. Адамян, О.А. Мынбаев. – М.: Медицина, 1998.
10. DiZerega, G.S. Peritoneal repair and post-surgical adhesion formation./ G.S. DiZerega, J.D. Campeau // Hum.Reprod.Update. 2001: 7: 547-55.
11. Этиология, патогенез и профилактика спайкообразования при операциях на органах малого таза /В.Ф. Беженарь [и др.]// Российский вестник акушера-гинеколога 2, 2011. с. 90-101, том 11.
12. Peritoneal mesothelial hypoxia during pneumoperitoneum is a cofactor in adhesion formation in a laparoscopic mouse model./ C.R. Molinas [et al.] // Fertil Steril. 2001 Sep;76(3):560-7.
13. Effect of adding more than 3% oxygen to carbon dioxide pneumoperitoneum on adhesion formation in a laparoscopic mouse model./O.A. Elkelani [et al.]// Fertil Steril. 2004 Dec;82(6): 1616-22.
14. The effect of pneumoperitoneum and desiccation upon body temperature in mice / K. Mailova [et al.]// Abstract book, Endoscopic Surgery Its subsidiaries and Alternatives. 12th Annual Congress of the European Society of Gynecologic Endoscopy, Luxemburg, Nov.2003
15. Effect of temperature upon adhesion formation in a laparoscopic mouse model./М.М. Binda [et al.]// Hum Reprod. 2004 Nov;19(11):2626-32. Epub 2004 Aug 27.
16. Effect of upper abdomen tissue manipulation on adhesion formation between injured areas in a laparoscopic mouse model./R. Schonman [et al.]// J Minim Invasive Gynecol. 2009 May-Jun;16(3):307-12. Epub 2009 Mar 14.
17. Binda, M.M. Reactive oxygen species and adhesion formation: clinical implications in adhesion prevention./ M.M. Binda, C.R. Molinas, P.R. Koninckx // Hum Reprod. 2003 Dec;18(12):2503-7.
18. Effects of adding small amounts of oxygen to a carbon dioxide-pneumoperitoneum of increasing pressure in rabbit ventilation models / O.A. Mynbaev [et al.]// Fertility and sterility 2009 Aug; 92(2).
19. Intraperitoneal injection of cultured mesothelial cells decrease CO₂ pneumoperitoneum-enhanced adhesions in a laparoscopic mouse model./ J. Verguts [et al.]// Gynecologic Surgery, Jan. 2011.
20. Postoperative inflammation in the abdominal cavity increases adhesion formation in a laparoscopic mouse model./ R. Corona [et al.] // Fertil Steril. 2011 Mar 15;95(4):1224-8. Epub 2011 Feb 4.
21. Антиангиогенная терапия и спаечный процесс в малом тазу: перспективы профилактики и лечения./В.А. Бурлев [и др.] // Российский вестник акушера-гинеколога 4, 2010, с.25- 31.
22. Corona R, Verguts J, Schonman R, Binda MM, Mailova K, Koninckx PR. Postoperative inflammation in the abdominal cavity increases adhesion formation in a laparoscopic mouse model. / R. Corona [et al.]// Fertil Steril. 2011 Mar 15;95(4):1224-8. Epub 2011 Feb 4.
23. Kripke, B.J. Suppression of chemotaxis to corneal inflammation by nitrous oxide / B.J. Kripke, A. Kupferman , K.C. Luu // Zhonghua Min Guo Wei Sheng Wu Ji Mian Yi Xue Za Zhi. 1987 Nov;20(4):302-10.



24. Comparison of N₂O and CO₂ pneumoperitoneums during laparoscopic cholecystectomy with special reference to postoperative pain./ P. Aitola [et al.]// Surg Laparosc Endosc, 8, 140-144.

25. Prospective randomized clinical trial comparing nitrous oxide and carbon dioxide pneumoperitoneum for laparoscopic surgery./ Z. Tsereteli [et al.]// J Am Coll Surg. 2002 Aug;195(2):173-9; discussion 179-80.

FACTORS AFFECTING ADHESION FORMATION IN LAPAROSCOPIC SURGERY

K.S. MAILOVA¹, A.A. OSIPOVA¹

R. CORONA², M. BINDA²

P. KONINCKX², L.V. ADAMYAN¹

*¹⁾ Moscow State University
of Medicine and Dentistry*

*²⁾ Department of Obstetrics
and Gynecology, KU Leuven,
University Hospital
Gasthuisberg, B3000 Leuven,
Belgium*

e-mail: rukarina@yandex.ru

The study evaluated the effect of blood and its components in the peritoneal cavity on adhesion formation and the efficacy of conditioning using addition of oxygen and nitrous oxide to CO₂ pneumoperitoneum in prevention of adhesions. The results showed high adhesiogenic capacity of full blood and less of plasma and RBCs. Our data proves the efficacy of conditioning using addition of 4% of oxygen or 10% N₂O to the CO₂ pneumoperitoneum in reduction of postoperative adhesions in laparoscopic surgery.

Key words: adhesions, blood, laparoscopy, mouse model, pneumoperitoneum.