

ХАРАКТЕРИСТИКА ИЗМЕНЕНИЙ В ОРГАНИЗМЕ КРЫС С ОСТРЫМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ПЕРИТОНИТОМ



Э. В. Гусаковская, Н. Е. Максимович

Гродненский государственный медицинский университет, Гродно, Беларусь

Введение. Отсутствие снижения летальности при перитоните может быть связано с недостаточностью представлений о механизмах его развития.

Цель. Изучение изменений в организме крыс с острым экспериментальным перитонитом.

Материал и методы. Эксперименты выполнены на крысах-самцах ($n=74$), разделенных на 2 равные серии, которым внутрибрюшинно вводили: 1-й серии (контроль) – 0,9% хлорид натрия, 2-й серии (экспериментальный перитонит, ЭП) – 15% каловую взвесь, 0,6 мл/100 г. Исследования проводили спустя полсутки ($n=6$), одни сутки ($n=6$) и трое суток ($n=6$), осуществляли оценку летальности животных ($n=19$). У крыс с перитонитом изучены проявления синдрома интоксикации, реакция лейкоцитов крови и перитонеальной жидкости, содержание нитрит/нитратов, показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния, выраженность повреждения сосудистого эндотелия и брюшины.

Результаты. У крыс с экспериментальным перитонитом отмечены: угнетение двигательной активности, снижение мышечной силы, развитие лихорадки и тахипноэ, в крови и перитонеальной жидкости – лейкоцитоз, увеличение содержания нейтрофилов и макрофагов, появление метамиелоцитов и миелоцитов, уменьшение содержания перитонеальных формазан-позитивных нейтрофилов, уменьшение количества лимфоцитов, анэозинофилия, увеличение содержания нитратов/нитритов и продукта липопероксидации – малонового диальдегида наряду с уменьшением уровня антиоксиданта – восстановленного глутатиона, увеличение количества циркулирующих эндотелиоцитов в крови, значительное нарушение структуры брюшины.

Выводы. Изучение изменений в организме крыс с острым экспериментальным перитонитом выявило развитие выраженного интоксикационного синдрома, нейтрофильно-макрофагального лейкоцитоза с гиперрегенераторным сдвигом влево и снижением способности нейтрофилов к фагоцитозу наряду с лимфопенией и анэозинофилией, увеличение уровня нитрит/нитратов, развитие окислительного стресса, повреждение эндотелия кровеносных сосудов и значительные нарушения структуры брюшины.

Ключевые слова: перитонит, интоксикационный синдром, лейкоциты, окислительный стресс, эндотелий, брюшина.

Для цитирования: Гусаковская, Э. В. Характеристика изменений в организме крыс с острым экспериментальным перитонитом / Э. В. Гусаковская, Н. Е. Максимович // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2022. Т. 20, № 1. С. 91-97. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2022-20-1-91-97>.

Введение

Распространенный перитонит остается одной из актуальных проблем хирургии по причине сохраняющейся высокой летальности – 27,8-53,4%, которая при развитии септического шока и полиорганной недостаточности достигает 85-90% [1, 2, 3]. При этом наиболее многочисленную группу пациентов с перитонитом составляют лица трудоспособного возраста [4], а его лечение требует значительных экономических затрат, которые почти в 6 раз превышают расходы на лечение заболеваний, не сопровождающихся инфекционными осложнениями [5]. Приведенные данные свидетельствуют о существенной социально-экономической значимости проблемы перитонита.

Оперативное вмешательство – обязательный стандарт в лечении перитонита и всегда сочетается с антибактериальной терапией, которая достаточно хорошо разработана [6]. Однако высокий показатель летальности может быть обусловлен неполноценностью патогенетической терапии перитонита по причине недостаточности представлений о механизмах его развития. До сих пор недостаточно изученными при воспалительном процессе в брюшной полости остаются механизмы регуляции миграционной

активности лейкоцитов, кровотока и антиоксидантного потенциала. В свою очередь влияние на данные звенья патогенеза может способствовать улучшению прогноза при перитоните, что обуславливает актуальность проведения исследований в данном направлении.

Цель исследования – Изучение изменений в организме крыс с острым экспериментальным перитонитом.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на белых беспородных крысах-самцах, 230-250 г ($n=74$), в соответствии с Хельсинкской Декларацией о гуманном обращении с животными (1964 г.). Крысы были разделены на 2 серии, внутрибрюшинно им вводили: 1-й серии (контроль) – 0,9% хлорид натрия, 2 серии (экспериментальный перитонит, ЭП) – 15% каловую взвесь в объеме 0,6 мл/100 г массы тела, по методике В. А. Лазаренко с соавт. [7]. Стандартизация вводимой взвеси производилась по коэффициенту экстинкции и количеству бактериальных клеток [8]. В каждой серии исследования по изучению выраженности синдрома интоксикации, изменений количественного состава лейкоцитов крови и перитонеальной жидкости и их функциональной активности, уровня нитритов/нитратов, показателей проок-

сидантно-антиоксидантного состояния и десквамации эндотелия кровеносных сосудов проводили спустя полсутки ($n=6$), одни сутки ($n=6$) и трое суток ($n=6$), оценивали летальность животных ($n=19$). Изучение двигательной активности крыс производили путем измерения расстояния, пройденного в тесте «открытое поле», мышечной силы – путем фиксации времени удержания на металлической сетке общепринятым способом [9], в модификации [10]; частоту дыханий определяли путем подсчета числа экскурсий грудной клетки за 1 минуту, ректальную температуру измеряли электронным термометром Omron ETS [10]. Изучение количественного состава лейкоцитов осуществляли в камере Горяева и в мазках крови и перитонеальной жидкости, с окраской азур-эозином. Определение способности перитонеальных нейтрофилов к фагоцитозу осуществляли на основании процентного содержания формазан-позитивных нейтрофилов, используя адаптированную методику Ю. И. Пацула, В. С. Власенко [11, 12]. Изучение повреждения эндотелия кровеносных сосудов

осуществляли путем подсчета в камере Горяева числа циркулирующих эндотелиальных клеток. Содержание метаболитов монооксида азота – нитритов/нитратов (NOx), продукта липопероксидации – малонового диальдегида (MDA) и антиоксиданта – восстановленного глутатиона (GSH) определяли в плазме крови и перитонеальной жидкости путем спектрофотометрического анализа [13, 14]. Изменения структуры брюшины изучали в микропрепаратах брюшной стенки и подвздошной кишки, взятых у крыс спустя полсутки и трое суток перитонита, после окраски гематоксилином и эозином, используя шкалу полуколичественной оценки нарушений (от + до ++++). Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 10.0 для Windows (StatSoft Inc., США), используя непараметрический критерий Краскелла-Уоллиса и апостериорные сравнения по критерию Данна; данные представлены Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ и UQ – значения нижнего и верхнего квартилей, соответственно.

Результаты и обсуждение

Динамика интоксикационного синдрома оценивалась на основании общего состояния, двигательной активности и мышечной силы, частоты дыхания и ректальной температуры крыс (табл. 1).

Спустя 1,7 (1,5; 1,9) часа после моделирования ЭП отмечены явные признаки интоксикации. В частности, отмечалось уменьшение двигательной активности и мышечной силы, наблюдалось

Таблица 1. – Проявления интоксикационного синдрома у крыс с экспериментальным перитонитом, Me (LQ; UQ)

Table 1. – Manifestations of intoxication syndrome in rats with experimental peritonitis, Me (LQ; UQ)

Группы крыс	Длина пройденного пути, дм	Время удержания на решетке, сек	Частота дыхания/мин	Ректальная температура, °C
Контроль	29,7 (27,0; 33,3)	120 (109; 130)	94 (88; 96)	37,2 (36,8; 37,4)
ЭП	0,5 суток	9,2 (7,5; 11,3)**	27 (20; 30)**	141 (137; 146)**
	одни сутки	5,9 (5,5; 7,2)***	16 (13; 19)***	149 (144; 152)***
	трое суток	7,8 (6,4; 8,8)**	20 (17; 24)**	129 (124; 133)**

Примечания – ЭП – экспериментальный перитонит; – значимые различия относительно: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – группы «контроль»; Ψ – $p < 0,05$ – 1-й подгруппы (спустя полсутки) и Δ – $p < 0,05$ – 2-й подгруппы (спустя 1 сутки) в пределах группы

Таблица 2. – Относительное содержание разных видов лейкоцитов (%) в крови и перитонеальном экссудате крыс с экспериментальным перитонитом, Me (LQ; UQ)

Table 2. – The relative content of various types of leukocytes (%) in the blood and peritoneal exudate of rats with experimental peritonitis, Me (LQ; UQ)

Объект	Группы крыс	Содержание разных видов лейкоцитов, %								
		Миелоциты	Метамиелоциты	Палочко-ядерные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Эозинофилы	Базофилы/ тучные клетки	Моноциты/ макрофаги	Лимфоциты	
кровь	Контроль	0 (0; 0)	0 (0; 0)	2 (0; 3)	9 (7; 14)	1 (1; 2)	1 (0; 1)	3 (1; 4)	85 (77; 87)	
	ЭП	0,5 сут	0 (0; 0)	7 (6; 8)**	15 (11; 17)**	53 (49; 55)**	0 (0; 0)*	0 (0; 0)	8 (5; 11)*	18 (17; 22)**
		1 сут	5 (4; 6)** Ψ	6 (4; 8)**	20 (17; 23)**	37 (34; 41)** Ψ	0 (0; 0)*	0 (0; 0)	18 (15; 21)** Ψ	14 (11; 15)** Ψ
		3 сут	6 (5; 9)** Ψ	5 (4; 6)**	17 (15; 19)**	35 (33; 37)** Ψ	0 (0; 1)	0 (0; 1)	18 (16; 22)** Ψ	17 (14; 18)**
экссудат	Контроль	0 (0; 0)	0 (0; 0)	1 (0; 1)	12 (7; 14)	1 (0; 1)	1 (1; 2)	7 (4; 9)	77 (70; 84)	
	ЭП	0,5 сут	0 (0; 0)	6 (4; 6)**	13 (11; 15)**	59 (54; 63)**	1 (1; 1)	1 (0; 1)	6 (4; 8)	15 (13; 18)**
		1 сут	8 (6; 9)** Ψ	9 (8; 10)** Ψ	20 (17; 21)** Ψ	39 (36; 41)** Ψ	1 (1; 2)	1 (1; 1)	12 (10; 14) Ψ	12 (9; 12)**
		3 сут	8 (7; 10)** Ψ	6 (4; 8)**	17 (14; 18)**	34 (32; 35)** Ψ	1 (1; 2)	1 (0; 1)	17 (16; 19)** Δ	15 (13; 17)**

Примечания – ЭП – экспериментальный перитонит; – значимые различия относительно: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – контрольной группы, Ψ – $p < 0,05$ – 1-й подгруппы (спустя полсутки) и Δ – $p < 0,05$ – 2-й подгруппы (спустя 1 сутки) в пределах группы

Таблица 3. – Общее количество и содержание разных видов лейкоцитов ($\times 10^6/\text{л}$) в крови и перитонеальном экссудате крыс с экспериментальным перитонитом, Me (LQ; UQ)**Table 3.** – The total number and content of various types of leukocytes ($\times 10^6/\text{l}$) in the blood and peritoneal fluid of rats with experimental peritonitis, Me (LQ; UQ)

Группы крыс, сроки ЭП		Лейкоциты, $\times 10^6/\text{л}$	Содержание разных видов лейкоцитов, $\times 10^6/\text{л}$								
			Миелоциты	Метамиелоциты	Палочко-ядерные нейтрофилы	Сегментоядерные нейтрофилы	Эозинофилы	Базофилы/тучные клетки	Моноциты/макрофаги	Лимфоциты	
кровь	Контроль	6,5 (4,7; 7,6)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	133 (0; 152)	581 (474; 672)	110 (0; 180)	62 (0; 126)	153 (70; 304)	5390 (4089; 6308)	
	ЭП	0,5 сут	13,6** (11,6; 14,5)	0 (0; 0)	952** (770; 1160)	1822** (1595; 2240)	7077** (5830; 7700)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	1119** (660; 1508)	2464** (1972; 2584)
		1 сут	16,1** (14,5; 17,8)	773** Ψ (632; 1068)	907** (728; 1160)	3217** Ψ (2414; 4186)	6218** (5576; 6478)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	2979** Ψ (2136; 3160)	2011** (1780; 2296)
		3 сут	14,6** (13,4; 16,1)	1121** Ψ (710; 1328)	690** (664; 780)	2578** (2254; 2656)	5285** Ψ Δ (4970; 5513)	0 (0; 149)	0 (0; 142)	2943** Ψ (2144; 3124)	2311** (1988; 2737)
экссудат	Контроль	4,1 (2,5; 5,4)	0 (0; 0)	0 (0; 0)	40 (0; 56)	344 (275; 527,5)	71 (42; 108)	134 (75; 162)	203 (168; 312)	2817 (1950; 4509)	
	ЭП	0,5 сут	37,1** (34,8; 41,9)	0 (0; 0)	2040** (1380; 2544)	4875** (4037; 5866)	22410** (21045; 23464)	397** (348; 424)	384 (0; 424)	2078** (1468; 3352)	5311** (5138; 6264)
		1 сут	47,9** Ψ (45,0; 51,8)	3640** Ψ (3138; 4050)	4164** Ψ (4050; 4440)	9542** Ψ (8368; 9842)	18296** (17822; 21238)	521** (488; 888)	494* (450; 523)	5508** Ψ (4500; 6322)	5478** (4662; 5753)
		3 сут	43,4** (41,5; 47,1)	3340** Ψ (3087; 4710)	2499** Δ (1884; 3264)	7203** Ψ Δ (6201; 7536)	14949** Ψ Δ (14112; 15741)	474** (427; 682)	440 (0; 477)	7531** Ψ Δ (6832; 8379)	6569** Δ (5978; 7065)

Примечания – ЭП – экспериментальный перитонит; – значимые различия относительно: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – контрольной группы, Ψ – $p < 0,05$ – 1-й подгруппы (спустя полсутки) и Δ – $p < 0,05$ – 2-й подгруппы (спустя 1 сутки) в пределах группы

развитие тахипноэ и пиретической лихорадки в первые сутки и фебрильной – спустя трое суток перитонита. Летальность крыс с ЭП составила 68,4%, свидетельствуя о тяжести воспалительного процесса и синдрома интоксикации.

При изучении реакции лейкоцитов крови и перитонеальной жидкости установлено развитие лейкоцитоза в обеих средах (табл. 2 и 3).

При оценке содержания нейтрофилов во все изучаемые сроки отмечали увеличение количества сегментоядерных и палочкоядерных нейтрофилов наряду с появлением метаиелоцитов. Кроме того, спустя одни сутки и трое суток в крови и перитонеальной жидкости крыс с ЭП обнаружены миелоциты, что характеризует трансформацию регенераторного сдвига лейкоцитарной формулы влево в гиперрегенераторный.

Наряду с изменением количественного состава нейтрофилов отмечено снижение их способности к фагоцитозу. Об этом свидетельствовало уменьшение процентного содержания формазан-позитивных нейтрофилов перитонеальной жидкости спустя полсутки – до 44 (42; 46)%, или на 13% ($p < 0,05$), одни сутки – до 35 (33; 38)%, или на 22% ($p < 0,05$), трое суток – до 44 (41; 45)%, или на 13% ($p < 0,05$).

Исследование содержания базофилов/тучных клеток и эозинофилов показало увеличение их количества в перитонеальной жидкости во все изучаемые сроки, в то время как в крови спустя 0,5 суток и 1 сутки ЭП базофилы и эозинофилы не обнаружены.

Динамика содержания в крови крыс с ЭП агранулоцитов характеризовалась увеличением количества моноцитов и уменьшением – лим-

фоцитов, отражая развитие моноцитоза и лимфопении во все изучаемые сроки. В то же время реакция со стороны как макрофагов, так и лимфоцитов перитонеальной жидкости выражалась в увеличении их содержания.

Таким образом, изменения количественного состава лейкоцитов крови и перитонеальной жидкости у крыс с острым ЭП характеризовались развитием лимфопении, анэозинофилии, выраженного нейтрофильного лейкоцитоза с гиперрегенераторным сдвигом лейкоформулы влево и уменьшением способности нейтрофилов к фагоцитозу.

Изучение NO-синтазной активности у крыс с ЭП характеризовалось значительным увеличением содержания NOx в плазме крови и перитонеальной жидкости (табл. 4).

Наряду с увеличением уровня NOx у крыс с ЭП установлено повышение концентрации продукта перекисного окисления липидов – MDA, и уменьшение содержания антиоксиданта GSH в плазме крови и перитонеальной жидкости.

Кроме того, развитие острого ЭП характеризовалось увеличением числа циркулирующих эндотелиоцитов в крови как показателя повреждения эндотелия кровеносных сосудов спустя полсутки – до 10,6 (10; 11,7)/мкл, или в 3,4 раза ($p < 0,001$), спустя 1 сутки – до 20,6 (19,4; 21,7)/мкл, или в 6,6 раза ($p < 0,001$), спустя 3 суток – до 19,7 (19,4; 21,1)/мкл, или в 6,4 раза ($p < 0,001$) по сравнению со значением в контроле – 3,1 (2,2; 4,2)/мкл.

Патоморфологическое исследование париетальной и висцеральной брюшины спустя полсутки ЭП выявило наличие изменений в

Таблица 4. – Содержание нитрит/нитратов и показатели прооксидантно-антиоксидантного состояния (MDA, GSH) у крыс с экспериментальным перитонитом, Me (LQ; UQ)

Table 4. – Nitrite/nitrate concentration and parameters of prooxidant-antioxidant state in rats with peritonitis, Me (LQ; UQ)

Группы крыс, сроки ЭП		[NO _x], мкмоль/л	[MDA], мкмоль/л	[GSH], моль ⁻¹ /мл	
ПК	Контроль	17 (16; 18)	0,7 (0,5; 0,9)	6,6 (6,1; 6,9)	
	ЭП	0,5 сут	96 (93; 98)**	3,3 (3,0; 3,5)**	2,9 (2,7; 3,1)**
		1 сут	112 (107; 116)** Ψ	4,3 (4,0; 4,6)** Ψ	1,8 (1,5; 2,0)** Ψ
		3 сут	68 (64; 71)** Δ	3,1 (2,9; 3,4)** Δ	2,7 (2,4; 2,9)** Δ
ПЖ	Контроль	13 (10; 14)	0,5 (0,4; 0,5)	4,6 (4,3; 4,9)	
	ЭП	0,5 сут	159 (150; 164)**	4,9 (4,7; 5,2)**	1,4 (1,3; 1,7)**
		1 сут	195 (187; 203)** Ψ	5,9 (5,6; 6,2)** Ψ	0,8 (0,7; 1,0)** Ψ
		3 сут	129 (125; 134)** Δ	4,5 (4,2; 4,7)** Δ	1,5 (1,3; 1,7)** Δ

Примечания – ЭП – экспериментальный перитонит; – NO_x – нитриты/нитраты; – MDA – малоновый диальдегид; – GSH – восстановленный глутатион; – ПК – плазма крови; – ПЖ – перитонеальная жидкость; – значимые различия относительно: * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$ – группы «контроль»; Ψ – $p < 0,05$ – 1-й подгруппы (спустя полсутки) и Δ – $p < 0,05$ – 2-й подгруппы (спустя 1 сутки) в пределах группы

сравнении с «контролем»: макроскопически отмечались гиперемия с петехиальными кровоизлияниями (+++), отложение фибрина на поверхности брюшины (++) , наличие в брюшной полости мутного экссудата (++) , расширение кишечных петель. При микроскопии выявлены набухание и локальная десквамация мезотелиоцитов (++) , разрыхление, отек и локальная фрагментация волокон соединительной ткани (++) с их выраженной нейтрофильной инфильтрацией (++)/++++), признаками венозной гиперемии и стаза (++) . Спустя трое суток ЭП морфологические изменения брюшины были выражены в большей степени: увеличение мутности экссудата (+++), наличие рыхлых спаек (+++) и гнойно-фибринозных наложений на брюшине (+++), фрагментация волокон (+++) и лейкоцитарная инфильтрация брюшины (+++) с появлением внутрибрюшинных микроабсцессов, повреждение ворсинок подвздошной кишки, набухание и выраженная десквамация мезотелиоцитов (+++), скопления лейкоцитов в брыжейке кишечника (+++), утолщение стенок капилляров и венул с наличием микротромбов в их просвете (+++) и аккумуляцией большого количества лейкоцитов внутри и за пределами сосудов (+++), выраженное набухание гладкомышечных клеток и нейронов межмышечного нервного сплетения, местами с признаками деструкции (+++).

Таким образом, проведенные исследования по изучению изменений в организме крыс с ЭП выявили наличие значительных морфофункциональных нарушений, которые выражались в уменьшении двигательной активности и мышечной силы, возникновении тахипноэ и лихорадки, развитии нейтрофильно-макрофагального лейкоцитоза с гиперрегенераторным сдвигом лейкоцитарной формулы влево в крови и перитонеальной жидкости с уменьшением способно-

сти нейтрофилов к фагоцитозу, лимфопенией и анэозинофилией, в повышении уровня нитритов/нитратов, активации окислительного стресса, повреждении эндотелия кровеносных сосудов и брюшины.

Полученные данные соответствуют сведениям литературы об изменениях в организме животных и человека при развитии перитонита. Однако зачастую отсутствует комплексный подход в изучении данных нарушений, включающий сочетанное использование методов наблюдения в эксперименте, оценки состояния иммунной системы, биохимических показателей активности воспалительного процесса и морфологических исследований. Кроме того, в литературе имеются противоречивые сведения о функциональной активности фагоцитов, согласно которым отмечается ее пониже-

ние либо повышение [15].

Выявленное уменьшение двигательной активности и мышечной силы у крыс с ЭП может быть обусловлено высокой интенсивностью воспалительного процесса в брюшной полости и степени интоксикации, приводящих к катаболизму мышечного белка, энергодифициту и ацидозу с увеличением проницаемости мембран, набуханием миоцитов и снижением их сократительной способности [16]. Возникновение тахипноэ может быть следствием развития гипоксии и ацидоза, а нарушения терморегуляции в виде пиретической лихорадки связаны с продукцией вторичных пирогенов (цитокинов) и образованием PgE2 со смещением термоуставочной точки гипоталамуса [16]. О тяжести воспалительного процесса и синдрома интоксикации свидетельствует высокая летальность крыс.

Значительное увеличение содержания лейкоцитов в перитонеальной жидкости и менее выраженное – в крови – может отражать активацию выхода из «депо» и миграции лейкоцитов в брюшную полость. Развитие нейтрофильного лейкоцитоза указывает на активное участие нейтрофилов в реализации защитных реакций в брюшной полости, а гиперрегенераторный сдвиг лейкоцитарной формулы влево свидетельствует о значительной интенсивности инфекционно-воспалительного процесса [15].

Изменение функционирования иммунокомпетентных клеток выразилось в снижении способности нейтрофилов к фагоцитозу, что может быть обусловлено цитотоксическим эффектом активных форм кислорода и азота в отношении перитонеальных микрофагов.

Увеличение количества эозинофилов и тучных клеток в перитонеальной жидкости может быть обусловлено повышением перехода эозинофилов и базофилов из кровотока в брюшную

полость, где тучные клетки высвобождают биологически активные вещества, приводя к повышению сосудистой проницаемости, а эозинофилы тормозят чрезмерную дегрануляцию тучных клеток. Увеличение содержания макрофагов и лимфоцитов в перитонеальной жидкости может быть обусловлено их миграцией из кровотока в брюшную полость и связано с выполняемыми функциями: фагоцитозом – макрофагами, регулирующей иммунного ответа – лимфоцитами [15].

Развитие лимфопении, анэозинофилии, выраженного нейтрофильного лейкоцитоза с гиперрегенераторным сдвигом лейкоцитарной формулы влево и уменьшением способности нейтрофилов к фагоцитозу свидетельствует об истощении иммунной системы.

Повышение содержания NOx в плазме крови и перитонеальной жидкости может быть следствием повышения продукции NO индуцируемой изоформой NO-синтазы, что происходит в условиях стимуляции данного фермента бактериальными антигенами, провоспалительными цитокинами и может быть признаком развития нитрозилирующего стресса [13].

Увеличение выраженности процессов липопероксидации и угнетение антиоксидантной защиты у крыс с ЭП свидетельствует о развитии окислительного стресса, приводящего к окислительному повреждению липидов, белков, ДНК с

тяжелыми расстройствами метаболизма [15].

Отмеченное увеличение числа циркулирующих эндотелиоцитов в крови может быть вызвано «бактериальной агрессией» и активацией окислительных реакций в условиях развития окислительного стресса с повреждением базальной мембраны кровеносных сосудов и дисконнекцией от нее эндотелиальных клеток [15].

Таким образом, проведенные исследования по изучению перитонита в эксперименте позволяют осуществить комплексную оценку изменений в организме крыс и вносят существенный вклад в уточнение механизмов развития патологии.

Выводы

Полученные данные по изучению изменений в организме крыс с острым экспериментальным перитонитом свидетельствуют об очевидном нарушении функционирования иммунокомпетентных клеток и системы микроциркуляции, развитии окислительного стресса с повреждением сосудистого эндотелия и брюшины. Результаты проведенных экспериментов могут послужить фундаментальной основой для дальнейших исследований, в том числе в практической медицине, с целью поиска эффективных подходов к коррекции воспалительного процесса в брюшной полости.

Литература

1. Гусаковская, Э. В. Альтернативность выбора адекватного способа моделирования перитонита в эксперименте / Э. В. Гусаковская, Н. Е. Максимович // *Новости медико-биологических наук.* – 2018. – Т. 17, № 2. – С. 73-78.
2. Evaluation of various prognostic factors in perforative peritonitis management / S. Budamala [et al.] // *JEBMH.* – 2015. – Vol. 2, № 3. – P. 6027-6035.
3. Short- and long-term predictors of spontaneous bacterial peritonitis in Singapore / Y. J. Wong [et al.] // *Singapore Med. J.* – 2020. – Vol. 61, № 8. – P. 419-425.
4. Здитовецкий, Д. Э. Анализ частоты распространённого перитонита и результатов его лечения в многопрофильном стационаре / Д. Э. Здитовецкий, Р. Н. Борисов // *Современные проблемы науки и образования.* – 2012. – № 2. – С. 7-11.
5. Ефименко, Н. А. Инфекции в хирургии. Фармакотерапия и профилактика / Н. А. Ефименко, И. А. Гучев, С. В. Сидоренко. – Смоленск : Смол. полиграф. комбинат, 2004. – 296 с.
6. Дьяков, И. Н. Фармакоэкономическая оценка применения препарата цефтолозан + тазобактам при лечении осложнённых нозокомиальных интраабдоминальных инфекций / И. Н. Дьяков, С. К. Зырянов, Н. Н. Хачатрян // *Качественная клиническая практика.* – 2019. – № 2. – С. 55-68. – doi: 10.24411/2588-0519-2019-10073.
7. Экспериментальная модель распространённого калового перитонита / В. А. Лазаренко [и др.] // *Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье.* – 2008. – № 4. – С. 128-132.
8. Стандартизация моделирования инфекционного перитонита в эксперименте / Э. В. Гусаковская [и др.] // *Актуальные вопросы физиологии : сб. материалов науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 60-лет. каф. нормальной физиологии ГрГМУ, Гродно, 23 мая 2019 г.* / [редкол.: В. А. Снежицкий, С. Б. Вольф, В. В. Зинчук]. – Гродно, 2019. – С. 90-92.
9. Биомедицинское (доклиническое) изучение лекарственных средств, влияющих на физическую работоспособность : методические рекомендации / Н. Н. Каркищенко [и др.]. – Москва, 2017. – 134 с.
10. Гусаковская, Э. В. Выраженность интоксикационного синдрома у крыс с экспериментальным перитонитом и введением аминогуанидина / Э. В. Гусаковская // *Материалы 69-й Всероссийской научной конференции молодых ученых и студентов с международным участием, Махачкала, 28 мая 2021 года / под ред. М. Н. Меджидова.* – Махачкала, 2021. – С. 391-394.
11. Способ определения функциональной активности нейтрофилов по реакции восстановления нитросинего тетразолия : пат. RU 2415423C2 / Ю. И. Пацула, В. С. Власенко. – Оpubл. 27.03.2011.
12. Состояние брюшины и функциональная активность перитонеальных нейтрофилов при остром экспериментальном перитоните / Э. В. Гусаковская [и др.] // *Фундаментальная и прикладная наука: состояние и тенденции развития : сб. материалов XIV Междунар. науч.-практ. конф., Петрозаводск, 7 окт. 2021 г.* / под ред. И. И. Ивановской, М. В. Посновой. – Петрозаводск, 2021. – С. 7-2.
13. Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction / D. L. Granger [et al.] // *Methods Enzymol.* – 1996. – Vol. 268. – P. 142-151. – doi: 10.1016/s0076-6879(96)68016-1.
14. Rice-Evans, C. A. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research / C. A. Rice-Evans. – London : Elsevier, 1991. – 291 p.

15. Лебедев К. А. Иммунология образраспознающих рецепторов. Интегральная иммунология / К. А. Лебедев, И. Д. Понякина. – Москва : Ленанд, 2017. – 256 с.
16. Савельев, В.С. Перитонит и эндотоксиновая агрессия / В. С. Савельев, В. А. Петухов. – Москва, 2012. – 326 с.

References

1. Husakouskaya EV, Maksimovich NYe. Alternativnost vybora adekvatnogo sposoba modelirovaniya peritonita v jeksperimente. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk* [News of biomedical sciences]. 2018;17(2):73-78. (Russian).
2. Budamala S, Penugonda A, Prakash V, Ramaniah V, Muralikrishna K, Gopikrishna B. Evaluation of various prognostic factors in perforative peritonitis management. *JEBMH*. 2015;2(3):6027-6035. doi: 10.18410/jebmh/2015/831.
3. Wong YJ, Kalki RC, Lin KW, Kumar R, Tan J, Teo EK, Li JW, Ang TL. Short- and long-term predictors of spontaneous bacterial peritonitis in Singapore. *Singapore Med J*. 2020;61(8):419-425. doi: 10.11622/smedj.2019085.
4. Zdzitovetskiy DE, Borisov RN. Analiz chastoty rasprostranjonno peritonita i rezultatov ego lechenija v mnogopofilnom stacionare [Analysis of the frequency of general peritonitis and results his treatment in big hospital]. *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija* [Modern problems of science and education]. 2012;(2):7-11. (Russian).
5. Efimenko NA, Guchev IA, Sidorenko SV. Infekcii v hirurgii. Farmakoterapija i profilaktika. Smolensk: Smolenskij poligraficheskij kombinat; 2004. 296 p. (Russian).
6. Dyakov IN, Zyryanov SK, Khachatryan NN. Farmakoeconomicheskaja ocenka primenenija preparata ceftolozan + tazobaktam pri lechenii oslozhnjonnyh nozokomialnyh intraabdominalnyh infekcij [Pharmacoeconomic evaluation of ceftolozan + tazobactam in the treatment of complicated nosocomial intra-abdominal infections]. *Kachestvennaja klinicheskaja praktika* [Good Clinical Practice]. 2019;(2):55-69. doi: 10.24411/2588-0519-2019-10073. (Russian).
7. Lazarenko VA, Lipatov VA, Blinkov YuYu, Skorikov DV. Jeksperimentalnaja model rasprostranennogo kalovogo peritonita [Experimental model of diffuse fecal peritonitis]. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik Chelovek i ego zdorove* [Kursk scientific and practical bulletin man and his health]. 2008;(40):128-132. (Russian).
8. Husakouskaya EV, Maksimovich NE, Pavljukovec AJU, Patonich IK. Standartizacija modelirovaniya infekcionno-go peritonita v jeksperimente. In: Snezhickij VA, Volf SB, Zinchuk VV, editors. *Aktualnye voprosy fiziologii*. Sbornik materialov nauchno-prakticheskoy konferencii s mezhdunarodnym uchastiem, posvjashhennoj 60-letiju kafedry normalnoj fiziologii GrSMU; 2019 Maj 23; Grodno. Grodno: GrSMU; 2019. P. 90-92. (Russian).
9. Stankova NV, Bolotova VC. Biomedicinskoe (doklinicheskoe) izuchenie lekarstvennyh sredstv, vlijajushhih na fizičeskiju rabotosposobnost. Moskva: Svetlye gory; 2017. 134 p. (Russian).
10. Husakouskaya EV. Vyrashennost intoksikacionnogo sindroma u krysa s jeksperimentalnym peritonitom i vvedeniem aminoguanidina. In: Medzhidov MN, editor. *Materialy 69-j Vserossijskoj nauchnoj konferencii molodyh uchenyh i studentov s mezhdunarodnym uchastiem*; 2021 May 28; Mahachkala. Mahachkala: ALEF; 2021. p. 391-394. (Russian).
11. Pacula JuI, Vlasenko VS, inventors. Vserossijskij nauchno-issledovatel'skij institutе brucelleza I tuberkuleza zhivotnyh Sibirskogo otdelenija Rossijskoj akademii sel'skohozjajstvennyh nauk, Gorodskaja detskaja klinicheskaja bolnica No 2 im VP. Bisjarinoj, assignee. Sposob opredelenija funkcionalnoj aktivnosti nejtrofilov po reakcii vosstanovlenija nitrosinego tetrazolija [Method for evaluation of functional activity of neutrophils by the reduction reaction of nitro blue tetrazolium]. RU patent 2415423C2. 2011 March 27. (Russian).
12. Husakouskaya EV, Maksimovich NYe, Krivonos NA, Lupeko PD. Sostojanie brjushiny i funkcionalnaja aktivnost peritonealnyh nejtrofilov pri ostrom jeksperimentalnom peritonite In: Ivanovskaja II, Posnova MV, editors. *Fundamentalnaja i prikladnaja nauka: sostojanie i tendencii razvitiya*. Sbornik statej XIV Mezhdunarodnoj nauchno-prakticheskoy konferencii; 2021 Oct. 7; Petrozavodsk. Petrozavodsk: Novaja Nauka; 2021. p. 7-2. (Russian).
13. Granger DL, Taintor RR, Boockvar KS, Hibbs JB Jr. Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction. *Methods Enzymol*. 1996;268:142-51. doi: 10.1016/s0076-6879(96)68016-1.
14. Rice-Evans CA. Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology: techniques in free radical research. London: Elsevier; 1991. 291 p.
15. Lebedev KA, Ponjakina ID. Immunologija obrazraspoznajushhih receptorov. Integralnaja immunologija. Moskva: Lenand; 2017. 256 p. (Russian).
16. Savelev VS, Petuhov VA. Peritonit i jendotoksinovaja agressija. Moskva; 2012. 326 p. (Russian).

CHARACTERISTICS OF CHANGES IN RATS WITH ACUTE EXPERIMENTAL PERITONITIS

E. V. Husakouskaya, N. Ye. Maksimovich

Grodno State Medical University, Grodno, Belarus

Background. The lack of decrease in lethality with diffuse peritonitis may be due to a result of the incomplete understanding of the mechanisms of its development.

The aim of the research was to study the changes in rats with acute experimental peritonitis.

Material and methods. The experiments were carried out on male rats (n=74) divided into 2 series and intraperitoneally injected with: series 1 (control) – 0.9% sodium chloride, series 2 (experimental peritonitis, EP) – 15% fecal suspension, 0.6 ml/100 g. In each group the research was performed in half a day (n=6), 1 day (n=6) and 3 days (n=6) after peritonitis modeling along with the assessment of rats lethality (n=19). The signs of intoxication, the reaction of blood and peritoneal leukocytes, the nitrite/nitrates level and parameters of prooxidant-antioxidant status, the degree of damage to vascular endothelium and peritoneum in rats with peritonitis were analyzed.

Results. The decrease in motor activity and muscular strength, the development of fever and tachypnea, leukocytosis in the blood and peritoneal fluid with the increase in quantity of neutrophils and macrophages, appearance of metamyelocytes and myelocytes with the decrease in the percentage of peritoneal formazan-positive neutrophils, reduction in lymphocytes quantity and the lack of eosinophils, rise in concentrations of nitrites/nitrates and lipid peroxidation product – malondialdehyde along with the decrease in the level of antioxidant – reduced glutathione, increase in the quantity of circulating endothelial cells in blood and significant changes of the peritoneum structure were revealed in rats with peritonitis.

Conclusions. The research of changes in rats with acute experimental peritonitis has revealed the signs of marked intoxication, changes in the leukocyte differential count of blood and peritoneal fluid in type of neutrophilic-macrophageal leukocytosis with a hyperregenerative shift of leukocyte differential count to the left and impaired ability of peritoneal neutrophils to phagocytosis along with lymphopenia and aneosinophilia, the increase in the level of nitrites/nitrates, development of oxidative stress, lesion of vascular endothelium and significant changes of peritoneum structure.

Keywords: peritonitis, intoxication syndrome, leukocytes, oxidative stress, endothelium, peritoneum.

For citation: Husakouskaya EV, Maksimovich NYe. Characteristics of changes in rats with acute experimental peritonitis. *Journal of the Grodno State Medical University.* 2022;20(1):91-97. <https://doi.org/10.25298/2221-8785-2022-20-1-91-97>.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Соответствие принципам этики. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Conformity with the principles of ethics. The study was approved by the local ethics committee.

Об авторах / About the authors

*Гусаковская Эрна Валерьевна / Husakouskaya Erna, e-mail: hirurg8700@mail.ru

Максимович Наталия Евгеньевна / Maksimovich Nataliya, e-mail: mne@grsmu.by,

ORCID: 0000-0003-3181-9513

* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 09.11.2021

Принята к публикации / Accepted for publication: 26.01.2022