

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

*На правах рукописи*

**Семичев Евгений Васильевич**

**«РАЗРАБОТКА НОВОГО МЕТОДА ОСТАНОВКИ КРОВОТЕЧЕНИЙ ИЗ  
ПАРЕНХИМАТОЗНЫХ ОРГАНОВ «НЕРАВНОВЕСНОЙ ПЛАЗМОЙ» В  
ЭКСПЕРИМЕНТЕ»**

14.01.17 – Хирургия

диссертация на соискание ученой степени  
доктора медицинских наук

Научный консультант:

Заслуженный работник

Высшей школы РФ,

д-р мед.наук, профессор Байков А.Н.

Томск – 2017

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

A1 – показатель, характеризующий максимальное изменение агрегатного состояния исследуемой крови на этапе контактной активации (отн. ед.)

A3 – показатель, характеризующий агрегатное состояние крови на этапе начала процесса полимеризации (отн. ед.)

A4 – показатель, характеризующий агрегатное состояние крови через 10 минут после достижения величины «A3» (отн. ед.)

A5 – показатель, отражающий агрегатное состояние крови в заключительном, стабилизационном этапе тромбообразования (отн. ед.)

АДФ – Аденозиндифосфат

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

ВПП – воздушно-плазменный поток

T1 – показатель, отражающий время достижения A1 (мин)

T3 – (BCK – время свертывания крови) – показатель, отражающий время достижения «A3» (мин)

ГГТП – гамма глутамилтранспептидаза

ИКД –  $(A3-A0)/BCK$  – интенсивность коагуляционного драйва – показатель, характеризующий интегративное влияние про- и антикоагулянтных систем на скорость образования сгустка

ИКК – интенсивность контактной фазы коагуляции, вычисляется эмпирически, отношением  $A0-A1/t1$

ИПС – интенсивность полимеризации сгустка, определяется как  $tg\beta = (A4-A3)/(t4 - 10\text{мин})$  – показатель, характеризующий скорость соединения мономерных молекул «бок-в-бок», «конец-в-конец», формирующую сеть фибрина

ИРЛС – интенсивности ретракции и лизиса сгустка

ИТС – интенсивность тотального свертывания крови, отражает плотность фибрин-тромбоцитарной структуры сгустка. Определяется эмпирически  $(A5-A1)/(T5-T1)$

КСПА – коэффициента суммарной противосвёртывающей активности

КТА – константа тромбиновой активности, определяется как время, прошедшее от конца периода реакции до увеличения значений амплитуды на 100 относительных единиц от уровня минимального значения амплитуды за период реакции

МА – максимальная плотность сгустка

МНО – международное нормализованное отношение

МРА – магнитно-резонансная ангиография

МРТ – магнитно-резонансная томография

НПТЭГ – низкочастотная пьезотромбоэластография

ОАК – общий анализ крови

Пл.клетки – плазматические клетки

ПЯН – палочкоядерные нейтрофилы

СЯН – сегментоядерные нейтрофилы

УО б.п. – Удельный объем белой пульпы

УО д.г. – Удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии

УО дв.г. – Удельный объем двухядерных гепатоцитов

УО к.п. – Удельный объем красной пульпы

УО н.г. – Удельный объем гепатоцитов с некротическими изменениями

УО с.т. – Удельный объем соединительной ткани

УФ излучение – ультрафиолетовое излучение

ХПК – «холодноплазменный» коагулятор

ЩФ – щелочная фосфатаза

APC – Argon Plasma Coagulation (Аргоно-плазменная коагуляция)

Gd-EOB-DTPA – химическая формула препарата «Примовист»

Hb – гемоглобин

LQ – нижний квартиль

Me – медиана

UQ – верхний квартиль

ВВЕДЕНИЕ.....	8
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	17
1.1. Историческая справка.....	17
1.2. Классификаций кровотечений.....	17
1.3. Патогенетический принцип систематизации острых кровотечений.....	18
1.4. Методы остановки кровотечений.....	19
1.4.1. Методы окончательной остановки кровотечения .....	20
1.4.1.1. Механические методы .....	22
1.4.1.2. Химические методы .....	27
1.4.1.3. Биологические методы .....	30
1.4.1.4. Физические методы .....	34
1.5. Физический термин «Плазма» .....	40
1.5.1. Особенности «неравновесной (холодной) плазмы» .....	43
1.6. Аппараты, используемые для остановки кровотечений .....	46
Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	50
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ .....	74
3.1. Разработанные экспериментальные модели оперативных вмешательств на паренхиматозных органах (печень и селезенка) .....	74
3.1.1. Модель резекции левой доли печени у крыс для последующей коагуляции «неравновесной плазмой» или швами по Оппелю.....	74
3.1.2. Модель резекции селезенки у кроликов для последующей коагуляции «неравновесной плазмой» .....	74
3.2. Показатели общего анализа крови животных .....	75
3.3. Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии интактных животных .....	77
3.4. Морфологическое строение печени интактных животных .....	78
3.5. Морфологическое строение селезенки интактных животных .....	79
3.6. Магнитно-резонансная томография печени интактных крыс .....	80
3.7. Магнитно-резонансная томография селезенки интактных кроликов ....	82

3.8. Гемостазиологические особенности свойств крови здоровых доноров после обработки «неравновесной плазмой» .....	83
3.9. Показатели интраоперационного объема кровопотери у экспериментальных животных при различных видах коагуляции во время резекции печени и селезенки .....	86
3.10. Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии в группе со швом печени по Оппелю .....	86
3.11. Тканевые особенности печени экспериментальных животных в группе с резекцией печени и последующей остановкой кровотечения швами по Оппелю .....	89
3.12. Динамическое магнитно-резонансное исследование печени с контрастным усилением в группе с резекцией печени и последующей остановкой кровотечения швами по Оппелю .....	114
3.13. Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии экспериментальных животных в группе с резекцией печени и последующей остановкой кровотечений «неравновесной плазмой» .....	117
3.14. Тканевые особенности печени экспериментальных животных в группе с резекцией печени и последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» .....	120
3.15. Динамическое магнитно-резонансное исследование с контрастным усилением печени в группе с резекцией печени и последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» .....	141
3.16. Показатели общего анализа крови экспериментальных животных в группе с резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой» .....	144
3.17. Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии в группе с резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой» .....	145

3.18. Тканевые особенности селезенки экспериментальных животных в группе с резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой» .....	146
3.19. Цитологическая характеристика селезенки кроликов после резекции и последующей коагуляции «неравновесной плазмой» .....	165
3.20. Динамическое магнитно-резонансное исследование селезенки кроликов с контрастным усилением после резекции и последующей коагуляции «неравновесной плазмой».....	167
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	170
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	189
ВЫВОДЫ.....	219
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	221
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	222

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность:

Термин «плазма» предложили использовать американские физики И. Ленгмюр и Л. Тонкс в 1923 году (Compton К.Т., 1930). В физике этот термин относится к четвертому состоянию вещества, которое представляет собой смесь из электронов, ионов и нейтральных частиц. В «неравновесной плазме» ионы и нейтральные частицы имеют очень малую энергию, поэтому температура такой плазмы небольшая (температура  $\leq 45^{\circ}\text{C}$ ). В физических науках и промышленности плазма используется в широких масштабах, однако ее применение в медицине весьма ограничено. Тем не менее, в последнее время ситуация быстро меняется [147].

На кафедре прикладной физики (НИ Томский политехнический университет) разработан макет источника «неравновесной плазмы» для исследования ее влияния на биологические объекты. В разработанном аппарате плазма образуется с помощью барьерного разряда (не имеет рабочего тела: кислорода, аргона и т.д.) и поэтому является универсальной. Кроме того «неравновесная плазма» содержит большое количество активных составляющих, таких как  $\text{OH}$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2^+$ , атомарный кислород и обладает мощным УФ излучением, именно с этим и связывают положительные лечебные эффекты [147].

В 1998 году прототип «Плазменного коагулятора» аппарат «Плазон», разработан в Московском государственном техническом университете им. Н.Е. Баумана [145]. Недостатком «Плазон» является то, что аппарат вырабатывает высокотемпературную плазму, а затем в специальной охлаждающей камере её температура снижается, приводя к потере активных элементов и снижению лечебного эффекта [144; 145; 163].

Лечебный эффект аппарата «Плазон» достигается за счет содержания в потоке газа молекул оксида азота –  $\text{NO}$ .

В данный момент времени наиболее изучены функции  $\text{NO}$ , которая принимает участие во многих реакциях организма. Она участвует в процессах



активации свертывания крови, играет важную роль в иммунной системе и т.д. Кроме того, NO обладает антимикробными и противоопухолевыми свойствами. Значительный эффект NO-терапии достигнут при обработке эмпиемы плевры, при наличии туберкулезного бронхита и плеврита [208; 347]. Положительная динамика наблюдалась при лечении инфицированных, долго не заживающих ран, после секвестрэктомии при остеомиелите и т.д. [24]. Хорошо зарекомендовала себя NO-терапия в случае гнойного воспаления придатков матки [71]. Окись азота эффективно используется при лечении псориаза, экзем, дерматита и других кожных болезней [53]. Широкое применение она получила в стоматологии, в основном в связи с гемостатическим и антибактериальным действием [148; 298; 343].

Несмотря на то, что «неравновесная плазма» образуется в результате диэлектрического барьерного разряда и содержит большое количество известных активных составляющих, ее комплексное воздействие на ткани не изучено [224]. В отдельных работах экспериментально подтверждено влияние барьерного разряда на коагуляцию крови [224; 255; 256; 262; 266; 272; 299; 305; 330; 366;]. Исследование зарубежных коллег проводилось *in vitro* [224]. Было доказано, что кровь с антикоагулянтами, обработанная «неравновесной плазмой» коагулирует менее чем за 1 мин, в отличие от контроля – 15 мин. Дополнительным исследованием было исключено температурное влияние плазмы (температура  $\leq 45^{\circ}\text{C}$ ) на коагуляционные свойства крови [224].

Исследования *in vivo* были проведены на мышах линии SKH1, где показано, что при повреждении подкожной вены бедра, а также хвостовой вены обработка «холодной плазмой» ускоряет остановку кровотечения [224; 255; 272; 305].

Зарубежные коллеги предположили 5 эффектов «неравновесной плазмы», изучая все процессы *in vitro*. Они пришли к выводу, что:

1. плазма может вызывать коагуляцию крови, как в норме, так и с антикоагулянтами, но скорость свёртывания зависит от используемых антикоагулянтов;

2. плазма способна изменять силу ионов раствора и изменять его pH, но нормальная кровь и с антикоагулянтами нивелируют эти изменения даже после длительного времени воздействия;
3. плазма значительно изменяет естественную концентрацию свёртывающих факторов, таким образом, ускоряя свёртывание;
4. эффекты, вызываемые плазмой, не термические и не связаны с температурой плазмы или температурой поверхности крови;
5. плазма способна ускорять активацию тромбоцитов и формирование фибриновых филаментов, даже с наличием антикоагулянтов.

На наш взгляд, необходимо учитывать воздействие всех составляющих компонентов «неравновесной плазмы» (физических и химических) на процессы коагуляции. Большая часть активных химических частиц «неравновесной плазмы» это мощные окислители, активные коротко или долгоживущие нейтральные атомы и молекулы, радикалы, а также поток заряженных частиц, включая как электроны, так и положительные и отрицательные ионы. Все перечисленные выше компоненты, возможно, начинают оказывать влияние на адгезию тромбоцитов на уровне сосудисто-тромбоцитарного гемостаза — активируя данный процесс. Также возможно ускорение агрегации тромбоцитов за счет влияния на электронноплотные и  $\alpha$ -гранулы. К этим веществам относятся серотонин (сосудосуживающий агент), катехоламины, хранящиеся в гранулах, и АДФ, что может приводить к раннему наступлению сосудосуживающего эффекта и его пролонгированию. На последующие этапы свертывания крови, а именно на фазу активации влияние «холодной плазмы» предположить сложно, т.к., по литературным данным, «неравновесная плазма» не оказывает воздействия на концентрацию  $\text{Ca}^{2+}$  крови. Рассматривая дальнейшее воздействие «неравновесной плазмы» на процессы коагуляции G.Fridman et al в 2008 установили, что она избирательно воздействует на белки, в особенности на фибриноген, но не способна полимеризовать альбумин. Влияние плазмы на факторы свертывания крови также остаются неизученными.

Учитывая наличие нескольких гипотез, исследователи не изучили весь каскад гемостатических реакций под воздействием «неравновесной плазмы», а также не исследовали её возможности и комплексное влияние на паренхиматозные органы при остановке кровотечения.

Отсутствие ожогового струпа является одним из главных положительных особенностей «неравновесной плазмы» в отличие от других коагуляторов (с наличием рабочего «тела» – аргона, гелия, кислорода и т.д.). Наличие ожогового струпа, является одним из самых коварных последствий аппаратной коагуляции, имеющей высокий процент повреждения структуры органа (паренхимы органа, нервных окончаний, магистральных сосудов, крупных протоков и т.д.). Помимо этого возможна отслойка струпа и возникновение послеоперационного кровотечения, а также гнойно-некротическое расплавление органа после повреждающей коагуляции. Поэтому разработка новых малотравматичных и эффективных методов остановки кровотечений весьма актуальна. Данный эффект «неравновесной плазмы» после обработки поврежденных тканей позволит снизить количество пациентов с послеоперационными осложнениями [34; 146].

При осуществлении остановки кровотечения из паренхиматозных органов необходимо учитывать множество факторов, способствующих продолжающемуся или возникновению повторных кровотечений. Например, такими факторами являются свойства паренхиматозных органов (печени и селезенки), а именно ее плохая сократительная способность, отсутствие клапанного аппарата в венах органа, не спадающийся просвет сосудов. В случае коагуляции при операциях на печени необходимо дополнительно учитывать местные расстройства свертывающей системы крови, обусловленные истечением желчи на раневую поверхность, поскольку желчь нарушает свертывание крови, обладая высокой фибринолитической активностью [17; 82].

Таким образом, в настоящее время остаются недостаточно изученными коагулирующие эффекты «неравновесной плазмы» и её влияние на живые ткани организма.

Цель исследования: разработать и оценить эффективность метода остановки кровотечений «неравновесной плазмой», влияние её на компоненты системы гемостаза и морфофункциональное состояние паренхиматозных органов (печени и селезенки) в эксперименте.

Задачи:

1. Разработать адаптированную к клиническому применению экспериментальную модель оперативных вмешательств на паренхиматозных органах (печень и селезенка) для изучения процессов гемостаза и регенерации.
2. Оценить время остановки кровотечения, объем кровопотери после воздействия «неравновесной плазмой» и наложения швов по Оппелю.
3. Исследовать воздействие «неравновесной плазмы» на основные звенья системы гемостаза у пациентов.
4. На основе гематологических, биохимических и морфофункциональных исследований оценить эффективность применения метода остановки кровотечений «неравновесной плазмой» после резекции печени и селезенки в сравнении со швами по Оппелю.
5. Обосновать метод остановки кровотечения «неравновесной плазмой» при резекции селезенки как новую органосохраняющую методику.

Научная новизна:

Впервые будет разработана экспериментальная модель резекции паренхиматозных органов (печень крыс и селезенки кроликов), адаптированная для клинического применения. Данные модели универсальны, позволят исследовать различные методы остановки кровотечений, а также изучить процессы гемостаза и регенерации. Впервые *in vitro* будут исследованы особенности воздействия «неравновесной плазмы» на цельную кровь. В свою очередь дополнительно будет проведена оценка гемостатических показателей при резекции паренхиматозных органов (на примере печени и селезенки) с последующей коагуляцией «неравновесной плазмой». Впервые будет проведен

анализ биохимических показателей крови по расширенному биохимическому международному профилю всех экспериментальных групп. Планируется получить новые данные об их структурных и регенераторных особенностях паренхиматозных органов после резекции с различными вариантами остановки кровотечений: при помощи наложения швов по Оппелю или «неравновесной плазмой». Исследованы спленограммы экспериментальных животных в группе с резекцией селезенки и последующей остановкой кровотечений «неравновесной плазмой». Будет изучено функциональное состояние резецированных органов всех групп животных с использованием магнитно-резонансной томографии.

В группе животных с резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой» предлагаемый новый метод планируется применять как органосохраняющий.

#### Практическая ценность:

Полученные результаты о воздействии «неравновесной плазмы» на раневую поверхность паренхиматозных органов способствуют пониманию тканевых и клеточных механизмов регенерации исследуемых структур, а также гемокоагуляции в них. Проанализирована роль различных вариантов остановки кровотечений (наложение швов по Оппелю и коагуляция «неравновесной плазмой») на течение процесса воспаления и развитие фиброза в печени и селезенке экспериментальных животных. Выявлено, что при коагуляции «неравновесной плазмой» отмечается минимальное травматическое воздействие на паренхиму резецируемых органов (печень, селезенка). Наши данные позволят оптимизировать хирургический процесс, внедрить в практическую медицину коагуляторы на основе «неравновесной плазмы», снижающие повреждающее действие на паренхиматозные органы и позволяющие выполнять органосохраняющие операции.

Положения, выносимые на защиту:

1. Предлагаемый способ остановки кровотечения «неравновесной плазмой» позволяет добиться полноценной коагуляции при отсутствии термических повреждений окружающих тканей (паренхимы органов).
2. Остановка кровотечений «неравновесной плазмой» при экспериментальной резекции паренхиматозных органов сокращает время кровотечения, время формирования сгустка крови и объем кровопотери.
3. Применение «неравновесной плазмы» обеспечивает восстановление микроциркуляции селезенки у кроликов на 90-е сутки, полную регенерацию печени (реституцию) у крыс и селезенки у кроликов на 180-е сутки после резекции.
4. Скорость остановки кровотечения, процессы регенерации печени и селезенки при применении «неравновесной плазмы» выше, чем при наложении швов по Оппелю.

Апробация: Материалы диссертации были доложены на Материалах V Международной научно-практической конференции «Физико-технические проблемы атомной энергетики и промышленности» (Томск, 2010); на Всероссийской конференции «Современные проблемы технической физики» (Томск, 2011); на I Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Электронные приборы, системы и технологии» (Томск, 2011); на VI Всероссийском национальном конгрессе лучевых диагностов и терапевтов «РАДИОЛОГИЯ–2012» (Москва, 2012).; на IV Международной (XI итоговой) научно-практической конференции молодых ученых (Челябинск, 2013); на XXII съезде Физиологического общества имени И. П. Павлова (Волгоград, 2013); на Восемнадцатой международной научно-практической конференции «Фундаментальные и прикладные исследования, разработка и применение высоких технологий в промышленности и экономике» (Санкт-Петербург, 2014), на 16-м СТАРТАП-ТУРЕ (Новосибирск, 2016); на XXIII Международном конгрессе Ассоциации гепатобилиарных хирургов стран СНГ «Актуальные

проблемы гепатобилиарной хирургии», Белоруссия – 2016; на конференции «Нейрогуморальные механизмы регуляции висцеральных функций в норме и при патологии», Томск – 2017.

Внедрение. Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедр хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии, морфологии и общей патологии, анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии, морфологии и общей патологии Сибирского государственного медицинского университета г. Томска, а так в лечебный процесс хирургических отделений ОГАУЗ «Городской клинической больницы №3 им. Б.И. Альперовича».

Публикации. По теме диссертации опубликована 30 научная работа, из них 20 - в ведущих научных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертации на соискание ученой степени доктора медицинских наук. Один патент на изобретение и одно ноу-хау.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 267 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендации, списка использованной литературы, включающего 375 источников, из которых 214 отечественных и 161 зарубежных авторов. Диссертация содержит 12 таблиц и 139 рисунков.

Личный вклад автора. Автор лично подготовил план и задачи диссертационного исследования. Кроме того лично разработал экспериментальную модель резекции паренхиматозных органов (печень крыс и селезенки кроликов), адаптированную для клинического применения. В экспериментальной части диссертационной работы самостоятельно выполнил все оперативные вмешательства, провел 4 серии экспериментальных операций. Самостоятельно оценивал послеоперационную клиническую картину, результаты лабораторных методов исследования, участвовал в описании и научной оценке

клинических гистологических препаратов, МР-данных. Самостоятельно провел сбор и обработку медицинской информации, выполнил математико-статистическую обработку и анализ полученных результатов. Личный вклад автора в исследование составляет более 90%. Автором самостоятельно написан текст диссертации и автореферата, подготовлена электронная версия доклада для апробации и защиты.



## ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1. Историческая справка

Кровотечение – выход крови за пределы поврежденного сосудистого русла или сердца в окружающую среду (наружное кровотечение), в полость тела или просвет полого органа (внутреннее кровотечение).

Врачи древности использовали контролируемое кровотечение, как один из методов лечения – кровопускание. Несмотря на его применение в лечебных целях, остановка кровотечений является первостепенной задачей при любых повреждениях, будь то оперативное лечение или травма.

Потребность в остановке кровотечения существует с незапамятных времен. Остановка кровотечения является важнейшей составляющей при оказании как доврачебной, так и квалифицированной врачебной помощи. Своевременное прекращение кровопотери зачастую позволяет спасти жизнь человека, предотвращает развитие шока, облегчает выздоровление. Также без адекватной остановки кровотечения невозможно успешное проведение хирургических операций и стабильного послеоперационного процесса восстановления пациента.

На сегодняшний день имеется большое количество классификаций кровотечений, основывающихся на многих факторах, а именно: в зависимости от анатомического вида поврежденных сосудов, разделение по патогенетическим признакам, по локализации источника и т.д.

## 1.2. Классификация кровотечений

В зависимости от анатомического вида повреждений принято выделять следующие виды кровотечений:

1. Артериальные – кровотечения характеризуются массивностью и интенсивностью. Из просвета повреждённого сосуда алая кровь изливается пульсирующей струей;
2. Венозные кровотечения – отличаются выделением из просвета сосуда тёмно-синего цвета крови сплошной струей;
3. Капиллярные кровотечения – при отсутствии нарушения свертывания крови незначительны и обычно останавливаются наложением давящей повязки или тампонадой;
4. Паренхиматозные кровотечения – возникают при повреждении паренхиматозных органов: печени, селезёнки, почки и поджелудочной железы. Эти кровотечения в результате ранения массивной сети микрососудов паренхиматозной ткани могут оказаться профузными;
5. Смешанные кровотечения – возникают при сочетанных ранениях артериальных и венозных сосудов.

В зависимости от локализации источника кровотечения и места поступления крови принято выделять:

1. Внутренние кровотечения – могут быть внутриполостные (брюшная и плевральная полости, полость черепа, суставы), внутритканевые (в кожу, клетчатку, мышцы и межфасциальные пространства) и смешанные (сочетание обеих видов);
2. Наружные кровотечения – возникают при повреждении кожных покровов и слизистых;
3. Смешанные кровотечения – характеризуются сочетанием признаков внутренних и наружных.

### 1.3. Патогенетический принцип систематизации острых кровотечений

1. Кровотечения механического происхождения – возникают при воздействии на организм тупой травмы и ранений, нанесённых холодным и огнестрельным оружием;

2. Аррозивные кровотечения – возникают в результате разрушения стенки сосуда при различных заболеваниях внутренних органов, имеют самый разнообразный генез, но их объединяет нарушение целостности кровеносного сосуда;
3. Острые кровотечения, развивающиеся вследствие нарушения сосудистой проницаемости, – возникают под влиянием токсико-аллергических и инфекционных агентов;
4. Кровотечения при нарушении свёртываемости крови – наблюдаются при наследственном заболевании – гемофилии, основной причиной которой является недостаточное образование плазменного тромбопластина, необходимого для быстрого свёртывания крови в момент травмы и кровотечения;
5. Кровотечения вследствие специфического воспаления стенки кишки – при дизентерии, брюшном тифе, сифилисе, туберкулёзе и актиномикозе, в настоящее время встречаются очень редко;
6. Искусственные кровотечения – эксфузии крови, лечебные кровопускания.

Наиболее актуальной проблемой современной хирургии по-прежнему остаётся остановка кровотечений [51; 131].

Остановка кровотечения (коагуляция) представляет собой комплекс мер, направленных на прекращение потери крови из кровеносного русла.

#### 1.4. Методы остановки кровотечений

Различное кровотечение является угрозой жизни пациента. Поэтому первым побуждением врача является принятие мер для остановки кровотечения с одновременным применением мероприятий, направленных на компенсацию потерянной крови.

Различают самопроизвольную и искусственную остановку кровотечения. Последнюю в свою очередь разделяют на временную и окончательную.

Временная или предварительная остановка кровотечения предотвращает опасную кровопотерю и позволяет выиграть время для транспортировки пациента, уточнения диагноза и подготовки к радикальным мероприятиям. К методам временной остановки кровотечений относятся: наложение давящей повязки, приподнятое положение конечности, максимальное сгибание в суставах, пальцевое прижатие крупных сосудов, наложение жгута, тампонада раны стерильным бинтом, салфеткой или подручными материалом, наложение зажима на сосуд в ране, временное шунтирование магистрального сосуда.

#### 1.4.1. Методы окончательной остановки кровотечений

Среди методов окончательной остановки кровотечения выделяют четыре группы:

1. Механические методы (перевязка сосуда в ране, перевязка сосуда на протяжении, закручивание сосуда кровоостанавливающим зажимом, обшивание сосуда, наложение сосудистого шва на раненый сосуд и протезирование сосуда, тампонада раны по Микуличу, эмболизация сосудов, специальные методы борьбы с кровотечением (спленэктомия, резекция желудка, лобэктомия), закупорка воском кровоточащих внутрикостных сосудов при операциях на черепе);
2. Физические (термические) методы остановки кровотечения: использование низких температур (криокоагуляция), использование высоких температур (горячий физиологический раствор, электрокоагуляция, лазерная фотокоагуляция, плазменный скальпель);
3. Химические методы – применение сосудосуживающих средств и препаратов, повышающих свертываемость крови: местно (3% р-р перекиси водорода,  $\epsilon$ -аминокапроновая кислота, раствор адреналина, «Карбазохром»), внутривенно (хлористый кальций 10%, «Дигитонин», «Этамзилат», «Питуитрин», «Витамин С», «Рутин», «синтетический Викасол»);
4. Биологические методы – применение собственных тканей (тампонада сальником, мышцей, жировой клетчаткой, фасцией), переливание небольших доз

крови, свежей плазмы, сыворотки, тромбоцитарной массы, фибриногена, введение «витамина К», «Викасола», криопреципитата, внутримышечное введение сыворотки человека или животных, местное применение производных крови (тромбин, гемостатическая губка, фибринная пленка, биологический антисептический тампон, тромбин в сочетании с фибриногеном), местное применение гемостатической губки, препарата «Тахокомб», клей «Сульфакрилат»;

5. Комбинированные методы, сочетающие в себе механические, химические, биологические в различных вариантах [10; 34; 65; 83; 89; 90; 94; 162; 205; 211].

Ранения и травмы паренхиматозных органов являются одним из наиболее тяжелых видов хирургической патологии как в мирное, так и в военное время. Самым крупным и наиболее травмоопасным паренхиматозным органом человеческого организма является печень. При ранениях и закрытых травмах живота печени встречаются в 16–37% случаев (для сравнения: селезенка травмируется в 7–26% случаев) [4; 6; 8; 11; 12; 15; 17; 46; 47; 48; 50; 52; 55; 88; 89; 130; 132; 133; 134; 136; 137; 166; 168; 177; 181; 182; 190; 190; 191; 203; 209; 210; 282].

В настоящее время количество оперативных вмешательств на печени, по данным различных авторов колеблется от 10% до 45% [5; 6; 8; 17; 80; 130; 167; 191; 338; 339]. Необходимо учитывать, что столь высокий процент операций включает в себя не только плановые, но и urgentные манипуляции. В процессе выполнения любого оперативного вмешательства осуществляется остановка кровотечений и профилактика инфекционных осложнений.

По ходу неотложных вмешательств на этом органе до 85% операционного времени хирурги затрачивают на остановку кровотечения [5; 6; 29; 31; 191]. При осуществлении остановки кровотечения из печени важно учитывать факторы, способствующие длительному кровотечению: плохая сократительная способность паренхимы печени, отсутствие клапанного аппарата в венах органа, неспадающийся просвет сосудов, местные расстройства свертывающей системы крови, обусловленные истечением желчи на раневую поверхность печени,

поскольку желчь обладает высокой фибринолитической активностью и сильно тормозит свертывание крови [17, 145]. Именно по этой причине при операциях на гепатобилиарной системе важнейшими задачами являются надежная и нетравматичная коагуляция, а также билистаз, от которых зависит благоприятное течение послеоперационного периода [139; 140]. Дополнительно при операциях на печени необходимо иметь четкое представление о внутриорганный архитектонике её сосудов и протоков, долевого и сегментарного строения, так как вмешательство нередко сводится при этом к выполнению резекции сегмента, а порой и доли печени. В 1954 году С. Couinaud установил, что печень состоит из определенного количества участков (секторов), которые по кровоснабжению не зависят друг от друга. Согласно классификации этого автора, каждый сектор разделяется на два сегмента – передний и задний, каждый из которых имеет свои сосудистые ножки. Сегментарное деление печени по С. Couinaud (1954) получило наиболее широкое практическое применение в современной хирургии и является теоретической основой резекций печени [41; 42; 43; 44; 45; 57; 74; 75; 76; 78; 139; 140; 289; 297; 300; 304; 306; 319; 320; 325; 344; 365].

Ещё одним крупным паренхиматозным органом, на остановку кровотечения из которого хирургами затрачиваются значительные усилия, является селезёнка. Повреждения селезенки встречаются в 7% случаев при ранениях живота и 26% случаев при закрытой травме живота, летальность при проникающих и закрытых повреждениях селезенки высока и составляет при огнестрельных ранениях – 24%, при колото-резаных ранениях – 8%, при закрытых повреждениях – 15%. Особенность повреждений селезёнки – развитие массивного, длительно не останавливающегося кровотечения [40; 137; 139; 140; 288] Причины такого кровотечения связаны с обильной сосудистой сетью и плохой сократимостью паренхимы селезёнки, ведущей к продолжительному кровотечению даже при небольших её травмах.

За длительный исторический период абдоминальной хирургии было разработано огромное количество способов остановки кровотечений. Методы гемостаза при оперативных вмешательствах на паренхиматозных органах также

классифицируются на группы: механические, химические, биологические и физические.

#### 1.4.1.1. Механические методы остановки паренхиматозных кровотечений

Одним из самых распространённых и простых методик является прошивание паренхимы. В настоящее время существует более 20 различных гемостатических швов, используемых при оперативных вмешательствах на печени, из них наиболее часто применяются следующие

Шов Кузнецова-Пенского (Н.М.Кузнецов и Ю.Р.Пенский, разработан в 1894 году): печень на границе удаляемой части прошивают двойной лигатурой, которую попеременно выводят на верхнюю и нижнюю поверхности. На поверхности органа нить пересекают. Концы их затягивают и завязывают. При этом нити пререзывают ткань и при завязывании сдавливают сосуды печени.

Шов Giordano (транскрипция с итал. Джордано, Джиордано, Жордано, разработан в 1902 году): шов накладывают иглой, рабочая часть которой имеет форму притуплённого ромба. В центре рабочей части находится ушко для нити. Прокалывая печень насквозь, обратным ходом иглы захватывают двойную кетгутовую нить и извлекают ее на противоположную сторону. Лигатуры пересекают и нити соседних стежков связывают между собой.

Шов Оппеля (В.А. Оппель, разработан в 1906 году): толстой кетгутовой нитью накладывают отдельные П-образные швы, которые немного заходят друг за друга. Шов легко выполним, достаточно герметичен. Недостатком шва является то, что при его выполнении приходится делать большое количество проколов печени.

Шов Альперовича (Б.И. Альперович, разработан в 1955 году): блоковидный кетгутовый шов (печень дважды прошивают на одном и том же уровне одной нитью, концы которой завязывают.), который легко накладывается и обеспечивает равномерную тягу внутри блока, что достаточно важно при прошивании хрупкой паренхимы печени. Рана ушивается на всю глубину.

Шов Брегадзе (И.Л. Брегадзе, 1964 год): длинную кетгутовую нить проводят через толщу печени специальными тупыми пластмассовыми иглами, которые располагают на расстоянии 2,5 – 6 см одна от другой. В ушках иглы нить фиксируют с помощью тонкой лигатуры. После проведения нити иглы отсекают. Нити связывают на передней поверхности печени.

Шов Варламова (В.И. Варламов, разработан в 1977 году): шов накладывают двойной нитью с помощью прямой иглы. Одной из нитей, проведенной при первом проколе, завязывается угол раны. Вторую нить временно оставляют незавязанной. При втором проколе, выполненном в обратном направлении, проводят один из концов ранее проведенной нити и одновременно следующую, третью, нить. Вторую нить завязывают.

Несмотря на многообразие имеющихся в настоящее время гемостатических швов, все они имеют один механизм остановки кровотечений, а именно механическое сдавление кровоточащих сосудов и паренхимы органа.

При всех положительных свойствах шовный материал так же имеет выраженные отрицательные свойства:

- «пилящий» эффект,
- «фитильный» эффект,
- реактивность нитей,
- прорезывание тканей (усугубление кровотечения),
- ишемия органа при глубоко наложенных швах с последующим нарушением функции и даже некрозом,
- длительность манипуляции (наложение швов не позволяет быстро остановить кровотечение) [6; 9; 16; 19; 130; 191; 345; 374].

Иногда при невозможности полной остановки кровотечения наложением гемостатических швов оперативное вмешательство на печени заканчивают выполнением гепатопексии. При повреждениях передних отделов печени проводится передняя гепатопексия Хиари-Алфёрова путём подшивания переднего края печени к мягким тканям передней брюшной стенки. При повреждениях заднего края печени для остановки кровотечений осуществляется задняя



гепатопексия по Шапкину (Шапкин В.С., 1965) путём его подшивания к задней стенке брюшной полости. Смысл вмешательств заключается в том, что создание узкой полости ведёт к прижатию кровоточащих сосудов и остановке кровотечения. К этому методу следует прибегать в крайних случаях, когда хирург не уверен в окончательной остановке кровотечения из печени [5; 6].

Если говорить о наложении швов при повреждениях селезёнки, то в данном случае швы применяют при одиночных разрывах этого органа с сохранённым в каждой его половине кровообращением и при небольших надрывах или трещинах. Ушивание ран селезёнки чаще выполняют узловыми швами, используя подкладку в виде сальника во избежание прорезывания паренхимы и тонкой соединительно-тканной капсулы, однако в большинстве случаев выполняется стандартная спленэктомия [113; 121; 139; 140].

В 1954 году Martin W.L. с целью остановки кровотечений при операциях на печени предложил использовать довольно громоздкую конструкцию из магниевых титановых перфорированных пластин, обеспечивающих компрессию тканей вблизи раны. Указанное устройство оставляли в брюшной полости на несколько суток до стабилизации состояния пациента, после чего для удаления конструкции выполняли релапаротомию.

Опубликован компрессионный способ остановки кровотечения из ран печени с помощью эластичной пластинки из армированного силикона. При этом пластинку силикона подшивали по переднему краю к диафрагме, а по заднему краю – к париетальной брюшине, что подтягивало печень вглубь подреберья [139; 140; 155].

С развитием анестезиологии и хирургии особое место при лечении травм печени заняла резекция этого органа. В случаях, когда повреждены магистральные сосуды и протоки, кровоснабжающие целые доли или половины печени, следует прибегнуть к резекции печени. Чаще всего такая необходимость возникает при закрытой травме печени или при ранениях с обширным разрушением долей и трубчатых структур. В диагностике этих повреждений помогают интраоперационная холангиография и ангиография. Необходимо

отметить, что обширную резекцию печени приходится применять в клинике нечасто. В.С. Шапкин в 52 операциях по поводу ранений осуществил резекцию печени всего один раз [5; 6; 191]. Затем с более широким применением этой операции он же сделал 24 резекции из 100 больных, но у 14 из них операция носила характер резекции-обработки и только у 10 была сделана типичная резекция печени. По данным хирургов США, при травмах печени лобэктомии осуществляют у 2-4% пострадавших [5; 6; 191]. Р. Klivland и Р. Wait (1971) произвели 14 резекций печени у больных с травмами (11%), а Р. Treid описывал, что в среднем производится 1 резекция из 93 случаев. В хирургическом отделении Городской клинической больницы №3 им. Б.И.Альперовича (г. Томск) из 224 оперированных пострадавших с травмами печени резекция осуществлена только 6 пациентам. Эти операции были гемигепатэктомии, проведенные при разрушении половин печени, или при повреждении магистральных сосудов. Во всех остальных случаях достаточным оказалось использование печеночных швов с иссечением нежизнеспособных участков и лигатурой кровоточащих сосудов в ране. Перевязка печеночной артерии при травмах печени остается предметом дискуссии. В.Т. Серебров (1941) провел анатомические исследования и собрал 27 клинических наблюдений перевязки печеночной артерии. Он доказал, что перевязка печеночной артерии практически осуществима и не всегда ведет к некрозу печеночной паренхимы. Чем ближе к печени осуществляется лигатура артерии, тем она безопаснее. Т. Tung (1973) предложил перевязывать печеночную артерию для остановки кровотечения при травмах печени с артериальным кровотечением и при гемобилии. Он осуществил эту операцию у 24 пациентов с гемобилией и у 19 добился остановки кровотечения. У ряда хирургов отношение к этой операции сдержанное, учитывая высокий риск развития осложнений [5; 6; 190; 191; 192; 194; 223; 238; 241; 245; 310; 312].

В случае размозжения паренхимы селезенки резекция ее участков осуществляется с учётом сегментарного строения органа. В селезёнке на основе архитектоники сосудистой системы выделяют как зоны (доли), так и более мелкие структурные единицы – сегменты. Зоной селезёнки называют участок, в пределах

которого разветвляется артерия первого порядка и формируется соответствующая ей вена, а сегментом – участок селезенки, кровоснабжаемый сосудами второго порядка. В селезенке различают столько зон, сколько ветвей первого порядка имеет селезеночная артерия. Число сегментов зависит от количества артерий второго порядка и сопровождающих их вен. Зоны селезенки разделены «малососудистыми» полями, которые соответствуют межзональным границам. Резекцию участка селезенки производят именно по «малососудистым» полям, что обеспечивает минимальную интраоперационную кровопотерю [139; 140].

#### 1.4.1.2. Химические методы остановки кровотечений паренхиматозных органов

Одними из препаратов данной группы, используемых для остановки паренхиматозных кровотечений, являются гидрофобные цианокрилатные клеи. Коагуляция при их использовании осуществляется за счёт формирования на раневой поверхности клеевой пленки. Однако, на влажной поверхности плотной фиксации клеевой пленки к тканям не происходит, что вызывает необходимость «высушивания» тканей.

T.W. Jones с соавторами в 1958 году сообщили об эффективном кровоостанавливающем действии губки, изготовленной на основе поливинилового спирта («Ivalon»), при травмах печени. Губку получали путём предварительной обработки поливинилового спирта формалином с последующим диспергированием воздуха в исходный раствор, а затем высушиванием препарата. Применение Ivalon'a позволяло обеспечить надёжную коагуляцию при паренхиматозном кровотечении за счёт абсорбции крови с раневой поверхности и прочной фиксации губки к раневой поверхности. Тем самым одновременно был получен не только надёжный способ остановки кровотечения, но и закрытие раневой поверхности.

С 1943 г. в литературе появились сообщения об использовании при хирургических операциях рассасывающихся материалов из особых сортов

целлюлозы – препараты оксицеллюлозы (кровоостанавливающая марля, вискоза гемостатическая, «Оксицеллодекс») [81]. Кровоостанавливающая марля и гемостатическая вискоза применяется для местной остановки паренхиматозных кровотечений. Препарат «Оксицеллодекс» предназначен для пломбирования полостей после пункционной биопсии печени, чрескожной транспеченочной холангиографии, спленопортографии.

Современный препарат на основе окисленной целлюлозы – «Surgicel» (Johnson & Johnson Medical, Inc., Arlington, Texas, USA). Препарат представляет собой белую пористую, плотную и эластичную губку, механизм действия которой заключается в том, что после аппликации на раневую поверхность и адсорбции на ней крови создается препятствие кровотоку с разрушением в порах губки форменных элементов крови. При этом происходит также денатурация белка, способствующая свертыванию крови в месте аппликации. Свертывание крови создаёт условия для прочной фиксации губки к раневой поверхности. Отечественным аналогом «Surgicel» является «Поликапран» – модифицированная гемостатическая губка.

Широкое распространение в последние годы получили гемостатические препараты на основе железа – «Капрофер» и «Ферракрил», обладающие коагуляционными свойствами при контакте с раневой поверхностью. Основу «Капрофера» составляют хлорид железа и  $\epsilon$ -аминокапроновая кислота. Гемостатический эффект препарата обусловлен тем, что при контакте с кровоточащей поверхностью происходит окисление иона железа, содержащегося в гемоглобине, с образованием адгезивной плотной пленки.

В последнее время появились публикации об успешном применении для обработки раневых поверхностей печени пористых синтетических тканевых материалов – «Летилана» и «Терилена». Гемостатический эффект их объясняется тем, что контактируя с кровью, они приобретают новые свойства. В процессе свертывания крови поры таких материалов с наружной и внутренней сторон затягиваются фибрином и заполняются клетками крови. К недостаткам указанной группы материалов относится то, что в организм имплантируется значительное

количество синтетического полимера, который может длительно поддерживать вяло текущие хронические воспалительные процессы.

Существуют и порошкообразные препараты для остановки кровотечения из паренхиматозных органов «Полисорб» – многоцелевой сорбент (в виде порошка), который представляет собой неорганический полимер на основе мелкодисперсного кремнезема. Сорбентом заполняют раневой дефект и прижимают на 5-8 минут марлевой салфеткой. Механизм гемостатического действия при этом основан на поглощении больших объемов крови, что приводит к повышению в зоне раны концентрации биологически активных веществ между частичками сорбента с ускорением процесса адгезии и агрегации тромбоцитов, тромбообразованием и последующей остановкой кровотечения [139; 140].

Белорусскими учеными разработано новое гемостатическое средство местного действия на основе неорганических солей – «Гамастат». Основными действующими веществами являются алюминия хлорид (в виде алюминия хлорида 6-водного – 1 г) и железа (III) хлорид (в виде железа (III) хлорида 6-водного – 0,5 г) в 10 мл, а также поливиниловый спирт в количестве 0,8 г, который повышает адгезивные свойства препарата. Данное средство прошло доклинические и клинические испытания, где доказана выраженная гемостатическая активность при остановке диффузных кровотечений из ложа желчного пузыря во время холецистэктомии. Окончательный гемостаз при использовании «Гамастата» и избирательной коагуляции отдельных кровоточащих сосудов достигается в 88,9% случаев, при этом обладая минимальным цитолизом гепатоцитов и не вызывая реактивного воспаления поджелудочной железы в сравнении с электрокоагуляцией [117; 149; 211]. Однако данный способ не может быть использован при обширных ранах и кровотечениях самостоятельно, его можно применять только в комбинированных методах с электрокоагуляцией.

Недостатки вышеперечисленных методов очень весомые: наличие в организме инородного тела поддерживает длительно текущее воспаление. Для осуществления данных способов необходимы определенные условия – «сухая

рана», которую формируют пережатием питающего сосуда или пережатием паренхимы мягким жомом, что удлиняет время операции и вызывает ишемию органа, а в случае наложения жома дополнительную травму. Помимо прочего многие способы не позволяют осуществлять остановку кровотечений во время лапароскопических операций, а также не могут использоваться отдельно от электрокоагуляции, либо дополняются наложением шовных лигатур на крупные сосудистые ветви.

#### 1.4.1.3. Биологические методы остановки кровотечений паренхиматозных органов

Одним из первых и наиболее распространённым методом данной группы является способ остановки кровотечения фибриновым клеем [17; 16; 348].

Подобной современной разработкой сибирских ученых является клей «Сульфакрилат», применяемый в абдоминальной и торакальной хирургии с целью обеспечения гемостатического эффекта, механической прочности, герметичности шовных конструкций и противовоспалительного эффекта [65, 82; 89; 90; 111; 162].

Кроме того в настоящее время для остановки кровотечения активно используют желатиновые губки. Желатин представляет собой продукт денатурации коллагена, получаемого из тканей животных, и является белковым препаратом. Выявленное кровоостанавливающее действие гемостатической губки, как оказалось, связано с её ячеистой структурой, абсорбцией на ней многократно превосходящих собственную массу количеств крови, разрушением кровяных клеток с высвобождением тромбопластина. Тромбопластин взаимодействует с протромбином и кальцием, в результате чего образуется тромбин. Количество тромбина в губке оказывается достаточным для образования сгустка благодаря его действию на фибриноген крови. За рубежом желатиновые губки выпускаются многими фирмами под названием «Spongostan», «Gelfoam» и др. В России разработана желатиновая губка с включенным в её состав

гентамицином – «Гемасепт», которая получила широкое распространение в хирургической практике [139; 140].

Также к данной группе методов остановки кровотечения при операциях на паренхиматозных органах и их повреждениях можно отнести использование биополимера (комбинированная губка) «Тахокомб», относящийся к комбинированным гемостатическим препаратам. В настоящее время «Тахокомб» относится к числу наиболее эффективных биологических гемостатических средств. Он представляет собой коллагеновую пластину, с нанесенными на нее лиофилизированными компонентами фибринового клея [32; 35]. В состав пластины «Тахокомба» входят: коллаген из сухожилий лошади, лиофилизированный фибриноген человека, тромбин крови быка, апротинин из легких быка и рибофлавин, придающий клеящей поверхности желтый цвет. Препарат выпускается в готовом виде. Он стерилен и предназначен для немедленного применения. Может применяться как в традиционной, так и лапароскопической хирургии.

При контакте с кровоточащей поверхностью или другими тканевыми жидкостями содержащиеся в клеевом слое факторы «Тахокомба» активируются и тромбин превращает фибриноген в фибрин, что приводит к осуществлению последней фазы свертывания крови и образованию фибринового сгустка. Апротинин препятствует преждевременному фибринолизу плазмином. Коллаген стимулирует агрегацию тромбоцитов, тем самым усиливая гемостатический эффект. Помимо «физиологического эффекта гемостаза» субстанция обладает высокой адгезивной способностью. Реакция полимеризации в клеевом слое происходит в течение 3 – 5 мин, после чего пластина препарата плотно соединяется с тканями и становится непроницаемой для жидкостей и воздуха. Во время данного процесса пластина должна быть плотно прижата к раневой поверхности. Комбинация эластична, хорошо адаптируется как на ровные, так и на бугристые поверхности, а механическая стабильность коллагена обеспечивает их дополнительную защиту. Экспериментальными исследованиями установлено, что помимо возможностей коагуляции и механического укрепления тканей

«Тахокомб» обладает уникальным свойством стимуляции ангиогенеза в подлежащих тканях, что значительно ускоряет процессы репарации. Последние исследования показали, что «Тахокомб» постепенно замещается соединительной тканью и в сроки от 30 до 60 дней в макропрепаратах не определяется.

«Тахокомб» применяется в различных областях хирургии, в том числе и при операциях на органах брюшной полости. Поскольку препарат обладает универсальными свойствами, его можно использовать в целях остановки кровотечений и для укрепления швов, анастомозов в неблагоприятных условиях.

На кровоточащую поверхность препарат «Тахокомб» наносится в один слой без предварительного смачивания. Стерильным пинцетом достают пластину препарата из упаковки и накладывают на поверхность раны, плотно прижимая сухим марлевым тампоном. Перед аппликацией оценивают размер раневой поверхности. Края препарата на 1,5–2 см должны захватывать неповрежденную ткань. Если рана меньше пластины «Тахокомба», то стерильными ножницами достигают нужного размера. При большой раневой поверхности накладывают несколько пластин в виде черепицы. Фиксацию препарата на кровоточащую поверхность осуществляют в течение 3 мин, которых вполне достаточно для достижения коагуляции. При массивных кровотечениях экспозиция должна составлять 4 мин. Во время прижатия нельзя двигать пластину по отношению к ране, что препятствует образованию кровяного сгустка и снижает гемостатические возможности препарата. Удалять марлевый тампон рывком нельзя, так как выступающий из-под краев коллагеновой пластины клеящийся слой обладает хорошей адгезией и в подобной ситуации можно просто оторвать препарат от раны. Чтобы избежать этого, необходимо удалять тампон медленно, с одного края придерживая препарат пинцетом. Если пластина оторвалась, возвращать ее на место бессмысленно, т.к. она теряет свои свойства. В ряде случаев, при особо обильных кровотечениях, может наблюдаться подтекание крови из-под края препарата, что указывает на недостаточный гемостаз в какой-то части раневой поверхности. При этом следует аккуратно разрезать пластину ножницами в месте предполагаемого кровотечения и сверху наложить новую,



повторив момент плотной фиксации. Как правило, этот прием позволяет добиться окончательной остановки кровотечения.

Во избежание переоценки метода следует помнить, что возможности «Тахокомба» не беспредельны. Препарат предназначен в основном для остановки паренхиматозных кровотечений. Осуществить коагуляцию из крупных артерий и вен при концевых ранениях невозможно. Если паренхиматозное кровотечение сочетается с излиянием крови из крупного магистрального сосуда, следует вначале лигировать последний, а затем использовать «Тахокомб». При обильно кровоточащей поверхности можно добиться снижения интенсивности кровотечения инфильтрацией новокаином. Техника аппликации «Тахокомба» на раны селезенки зависит от глубины повреждения паренхимы. При этом также необходимо учитывать локализацию повреждения. В случаях декапсуляции органа по любой поверхности достаточно наложить пластину препарата и плотно фиксировать ее. При повреждениях селезенки по диафрагмальной поверхности необходимо перед аппликацией пережать пальцами сосудистую ножку и удерживать ее весь период фиксации, иначе может наблюдаться подтекание крови из-под края препарата. Остановку кровотечений «центральных разрывов» селезенки при помощи «Тахокомба» осуществлять нельзя, так как велика опасность вторичного кровотечения. Следует прибегнуть к спленэктомии.

При резекциях печени или поджелудочной железы помимо гемостатического эффекта «Тахокомб» позволяет профилактировать истечение желчи и панкреатического секрета. Тем не менее, крупные желчные протоки и вирсунгов проток перед аппликацией необходимо лигировать. На рану печени препарат наносится в один слой, на культю поджелудочной железы (учитывая агрессивность панкреатического секрета) – в два, с обязательным захождением препарата на неповрежденную поверхность на 2 см.

Недостатки вышеперечисленных средств достаточно весомые: наличие в организме инородного тела (белкового препарата) сохраняет и усиливает длительно текущее воспаление с возникновением аллергического компонента. Формирование кровяных сгустков в ячеистой структуре препаратов может

повлечь формирование абсцессов при присоединении инфекции. Имеются ограничения и в использовании при обильных кровотечениях, что требует дополнительной коагуляции другими способами (наложение лигатур, электрокоагуляция, аргонплазменная коагуляция и т.д.). Применение подобных средств («Тахокомб», «Гемасепт» и др.) подразумевает необходимость лигирования крупных сосудов (либо желчных протоков). Дополнительно применение данных средств требует соблюдения строгих условий – «сухая рана», которую формируют пережатием питающего сосуда или пережатием паренхимы органа мягким жомом, что удлиняет время операции и вызывает ишемию органа, а в случае наложения жома дополнительную травму [267; 270].

#### 1.4.1.4. Физические методы остановки кровотечений паренхиматозных органов

Говоря об истории абдоминальной хирургии и развитии методов остановки кровотечений, следует сказать о существовании термокоагуляторов. Это – наиболее старый из известных человечеству способов коагуляции. Еще на полях боевых сражений зажимали раневую поверхность перевязочным материалом, предварительно помещенным в горячую воду. Высокая температура вызывает частичную термокоагуляцию.

В настоящее время получили развитие разные типы коагуляторов. Самым простым термокоагулятором по устройству является термокоагулятор, аналогичный обычному электрическому паяльнику. В некоторых клиниках имеются подобные электрические приборы в качестве коагуляторов. Безусловно, обрабатываемые сосуды коагулируются, но получается глубокий ожог прилежащих тканей, с последующим их отторжением. В качестве примера термокоагулятора можно привести приборы, выпускаемые фирмой «Philips», и представляющие собой обычный электропаяльник с тефлоновым покрытием.

В современной хирургии предпочтение отдается электрокоагуляции [8]. В настоящее время на российском рынке представлено большое количество

коагуляторов различной мощности разных производителей, использующих для коагуляции различные физические принципы.

Наиболее распространены обычные электрокоагуляторы. Электрокоагулятор генерирует высокочастотный электрический ток, который вызывает мгновенное испарение внутриклеточной жидкости в месте соприкосновения активного электрода аппарата с тканью. В зависимости от выбранного на электрокоагуляторе режима работы инструмента происходит рассечение или коагуляция ткани. Подобные приборы начали разрабатывать еще в 20-30-х годах 20 века. Массовое распространение в медицинских учреждениях они получили, начиная с 60-х годов 20 века. Тогда это были коагуляторы на лампах - тиратронах. Эти приборы представляют собой металлический шкаф размером примерно 1 метр на 70 см на 50 см, весят около 200 кг и требуют подведения напряжения в 380 В. При этом потребляемая мощность составляла до 3500 – 4000 Вт. Коагуляция осуществлялась при помощи пинцета, представляющего собой два коагулирующих электрода.

В настоящее время существует большое количество различных модификаций электрокоагуляторов. Коагуляция осуществляется как постоянным, так и переменным током. Но основным принципом работы электрокоагуляторов является разогрев биологических тканей электрическим током. При этом не имеет значения, что коагулятор однополярен или биполярен. Фактически, электрокоагуляторы всегда – биполярны. Безусловно, имеются модели, в которых коагуляция осуществляется одним электродом, но при этом, второй базовый, электрод подкладывается под биологический объект. Для работы электрокоагулятора необходим хороший контакт этого электрода с телом пациента. В любом случае электрический ток идет или между двумя электродами коагулирующего пинцета, или между коагулирующим электродом и базовым электродом, подложенным под пациента.

Недостатки метода: наличие неустраняемых побочных эффектов электрокоагуляции, основными из которых являются большие участки повреждения тканей в зоне применения, а именно появление ожогового струпа

(некроза с развитием гнойных осложнений) глубиной около 5 мм с возможным его отслоением и развитием повторного кровотечения. Токи, проводимые через обратный электрод, могут вызвать внутренние ожоги, повреждение сосудов и нервных окончаний. Дополнительными осложнениями являются формирование грубого рубца и спаечного процесса, приводящих к нарушению функции органа. Таким образом, использование электрокоагуляторов сопровождается нанесением организму электротравмы со всеми вытекающими последствиями. Также электрокоагуляция относится к контактному методу и ткани припаиваются к рабочим поверхностям инструмента, что требует их очистки во время операции.

В начале 70-х годов 20 века начались разработки так называемых радио- или высокочастотных коагуляторов. В настоящее время на российском рынке они представлены такими приборами, как, «ЭХВЧ-50-01-МТУСИ» (Россия) или «Surgitron» (США), а так же «Эндотом-2», «Фотек Е80» и «Политом-2» (Россия), широко распространены высокочастотные электрокоагуляторы «Soring» (Германия). Радиоволновая хирургия – это уникальный бесконтактный метод разреза и коагуляции мягких тканей с помощью радиоволн высокой частоты (3,8 – 4,0 МГц). Рассекающий эффект достигается за счет тепла, выделяемого при сопротивлении тканей проникновению в них направленных высокочастотных волн. Высокочастотная энергия концентрируется на кончике «активного» или «хирургического» электрода и вызывает всплеск внутриклеточной молекулярной энергии, которая нагревает ткани и фактически испаряет клетки. При этом непосредственный контакт электрода с клетками отсутствует, а сам электрод не нагревается. Кроме этого, техника радиохимирии полностью исключает болезненные сокращения мышц или стимуляцию нервных окончаний при прохождении волн через тело пациента (эффект Фарадея). Радиоволновая хирургия принципиально отличается от электрокоагуляции, при которой повреждение ткани может быть сравнимо с ожогом 3-ей степени. Тканевые разрушения при воздействии радиоволновой аппарата Surgitron в несколько раз меньше, чем при использовании любого другого электрохирургического оборудования или хирургического лазера.

Недостатками данного метода являются нагрев тканей, что также вызывает тепловое повреждение со всеми последствиями: развитием ожогового струпа, некроза, возможным развитием повторных кровотечений. Дополнительно, оборудование, произведенное за рубежом, имеет высокую стоимость и дорогостоящее обслуживание.

Следующим большим классом коагуляторов являются ультразвуковые коагуляторы. На российском рынке они представлены такими аппаратами, как «Комплекс ультразвуковой хирургический «УЗХ-9301-ОХ-МЕДЭЛ», «Аспиратор - дезинтегратор ультразвуковой УЗХ-М-21» (Россия). Одной из последних разработок компании Johnson & Johnson (США) является ультразвуковой хирургический комплекс HARMONIC CS. Принцип действия ультразвуковых коагуляторов и скальпелей основан на том, что с помощью специальной пьезокерамической пластины - излучателя в пространстве создается ультразвуковое поле большой интенсивности. Этой энергией ультразвука и осуществляется коагуляция и резание биологических тканей. Сама пьезокерамическая пластина под действием переменного электрического тока изменяет свои геометрические размеры с заданной частотой. Эти колебания пластины и порождают ультразвук. Под действием ультразвуковых колебаний происходит разрушение мягких биологических тканей с высоким содержанием воды до состояния эмульсии и сохранение более упругих, эластичных тканей, таких как кровеносные сосуды, нервные окончания и т.п., неповрежденными.

Недостатки заключаются в обугливание и высушивание тканей, при рабочих температурах выше 70°C происходит задымление рабочей области (температура тканей может возрасть до 150°C). Также возможно повреждение электрическим током пациента, формирование ожоговых струпов. Оборудование имеет высокую стоимость и дорогостоящее обслуживание.

Начиная с XIX века, активно развивается криохирургия, где в качестве хладагента в криоаппаратах используют твердую углекислоту, фреоны, жидкий азот [5; 6; 129; 191]. Огромный вклад в развитие и становление криохирургии паренхиматозных органов, а именно печени внес профессор Альперович Б.И.

(г. Томск) с его учениками и коллегами, начиная с 70-х годов. Одной из актуальнейших разработок коллектива явился криоультразвуковой скальпель, созданный Б.И. Альперовичем, Л.М. Парамоновой и сотрудниками СФТИ г. Томска. Криоультразвуковой скальпель позволял обеспечивать остановку кровотечений на капиллярном уровне. Дальнейшее внедрение новых технических приемов позволило авторам создать криовиброскальпель (авторы Б.И.Альперович, Л.М.Парамонова, А.И.Парамонов). В отличие от криоультразвукового скальпеля, в котором ультразвуковые колебания все-таки приводят к нагреванию инструмента, данная конструкция была лишена этих технических недостатков [5; 6; 191].

Преимущества заключаются в возможности разрушения патологических очагов с минимальной травмой окружающих тканей и общей реакции организма на воздействие. Используют два устройства: криодеструктор и криоскальпель (ультразвуковой и вибро-), позволяющие осуществлять воздействие с температурами  $-160-190^{\circ}\text{C}$ , что разрушает все биологические ткани в зоне воздействия. Глубина «промораживания» тканей зависит от мощности аппаратуры и экспозиции, что позволяет обрабатывать практически любые площади. Криоультразвуковой и криовиброскальпели дают возможность одновременного механического разделения тканей, сочетающегося с воздействием низких температур. При этом промораживание тканей не превышает 500 мкм. Инструмент даёт возможность при работе останавливать кровотечение из сосудов до 2 мм в диаметре и паренхиматозное кровотечение. Б.И. Альперович (2006) применял указанную аппаратуру в течение последних тридцати лет и осуществил с её помощью более 300 операций на печени при различных видах патологии. Ряд аналогичных систем типа «Криоэлектроника», «Erbe» позволяют с помощью криозондов подводить жидкий азот к патологическим очагам для криодеструкции [5; 6; 191].

Недостатками метода являются малый диаметр коагулируемых сосудов (не более 2-х мм), а также остановка только паренхиматозного кровотечения. Криовиброскальпели и криоультразвуковой скальпель обладают малой частотой -

50 Гц и 24 кГц, соответственно, что зачастую недостаточно для остановки кровотечения. Дополнительно отрицательные температуры вызывают деструкцию здоровых тканей.

В настоящее время в хирургии для обеспечения остановки кровотечений тканей широко используется лазерное излучение, генерируемое различными типами лазерных скальпелей [10; 20]. Разработано несколько типов лазерных установок, применяемых в хирургии: углекислотные, аргоновые, азотные и др. Первоначально из-за громоздкости, малой их маневренности и дороговизны лазерные установки массового применения не получили. Однако, благодаря разработке гибких светоносителей, они стали более удобны в управлении и использовании при операциях на различной глубине органа .

Применяемые в хирургии лазеры представлены двумя большими группами: 1-я группа – высокоэнергетические лазеры – ВЭЛ (СО<sub>2</sub>-лазер, АИГ-лазер), 2-я группа – низкоэнергетические лазеры – НЭЛ. К несомненным преимуществам лазеров относятся: одновременное рассечение и коагуляция лазерным лучом кровеносных и лимфатических сосудов, относительно небольшая зона термического повреждения тканей, бесконтактность инструмента, что особенно важно в связи с актуальностью проблемы ВИЧ-инфекции [10; 20].

К недостаткам следует отнести высокую стоимость оборудования и наличие термического ожога, задерживающего процесс регенерации тканей, при этом сосуды диаметром более 1 мм коагулируются недостаточно, что исключает возможность бескровной резекции органа. Кроме этого, при использовании лазера горение с участием кислорода приводит к обугливанию тканей, что ограничивает поле зрения, затрудняет действия хирурга и может привести к повреждению магистральных сосудов [139; 140].

В условиях современных хирургических технологий к методам остановки кровотечений предъявляются следующие требования, а именно: «быстрая» остановка кровотечений, минимальная травматизация тканей, отсутствие контакта с обрабатываемой поверхностью (учитывая ВИЧ-инфекцию, гепатиты и т.д.),

интраоперационная профилактика инфекционных осложнений, минимальная стоимость аппарата и его обслуживания.

Наиболее подходящими аппаратами являются аппараты, генерирующие «Плазму».

### 1.5. Физический термин «Плазма»

Термин «Плазма» был введен И. Ленгмюром и Л. Тонксом в 1923 году, возможно из-за ассоциации с плазмой крови. «Плазма» (от греческого «вылепленное», «оформленное») – частично или полностью ионизированный газ, образованный из нейтральных атомов (или молекул) и заряженных частиц (ионов и электронов). Важнейшая особенность «плазмы» заключается в том, что объемные плотности положительных и отрицательных заряженных частиц, из которых она образована, оказываются почти одинаковыми. «Плазма» иногда называется четвёртым (после твёрдого, жидкого и газообразного) агрегатным состоянием вещества [3; 39; 64; 135; 147; 215; 218; 224; 228; 301]. Свойства плазмы уникальны. В ее составе присутствуют свободно заряженные частицы (электроны и ионы), однако суммарный электрический заряд плазмы приблизительно равен нулю. Присутствие свободных электрических зарядов делает плазму проводящей средой, что обуславливает её заметно большее (по сравнению с другими агрегатными состояниями вещества) взаимодействие с магнитным и электрическим полями.

С практической точки зрения плазму можно разделить на два вида – низкотемпературную и высокотемпературную. Низкотемпературной называют плазму, у которой средняя энергия электронов меньше потенциала ионизации атома ( $< 10$  эВ). Плазма с более высокой температурой называется горячей или высокотемпературной. "Низкотемпературная плазма" обычно находится в слабоионизованном состоянии, то есть число нейтральных атомов и молекул значительно превышает число заряженных частиц - электронов и ионов. С точки зрения физических свойств низкотемпературную плазму можно разделить на



стационарную, нестационарную, равновесную, неравновесную, идеальную и неидеальную.

Стационарная плазма обладает большим «временем жизни» по сравнению с временами релаксации в ней. Время существования нестационарной или импульсной низкотемпературной плазмы ограничено. Оно определяется внешними условиями и временем установления [3; 39; 64; 135; 147].

«Низкотемпературная плазма» называется равновесной, если её компоненты находятся в термодинамическом равновесии, то есть энергии электронов, ионов и нейтральных частиц приблизительно одинаковы. Термодинамическое равновесие означает, что скорости этих частиц описываются «максвелловским распределением», характеризуемым одной и той же температурой. При этом среда находится в равновесии с окружением и скорости излучения и поглощения энергии одинаковы. Однако в «плазме» ионы и электроны имеют разные температуры и не находятся в равновесии с окружающей средой. При воздействии внешних полей энергия заряженных частиц становится выше чем нейтральных, то есть возникают неравновесные состояния. В этом случае электроны вследствие малой массы испытывают упругие столкновения и теряют незначительное количество энергии. В результате вид распределения электронов по энергиям может отличаться от равновесного. «Равновесная плазма» обычно реализуется в газе при высоком давлении, где столкновения частиц происходят часто и время установления равновесия относительно мало. В «неравновесной плазме» энергия заряженных частиц выше, чем у нейтральных. Разница в энергии между заряженными и нейтральными частицами возникает потому, что заряженные частицы чаще взаимодействуют со стенками камеры, чем с нейтральными частицами.

«Плазма» считается идеальной, если средняя кинетическая энергия заряженных частиц много больше средней энергии её взаимодействия с окружающими частицами, то есть плазма рассматривается как газ заряженных частиц, в котором могут существовать электрическое поле и пространственный заряд, но никакие две отдельные частицы не взаимодействуют друг с другом.

«Неидеальная плазма» - это полностью ионизированная плазма с чисто кулоновским взаимодействием между частицами. Время рекомбинации ионов и электронов в ней очень мало, поэтому плотность заряженных частиц уменьшается. Неидеальная плазма существует при плотности частиц, сравнимой с плотностью конденсированного состояния вещества. Слабоионизованный газ всегда является идеальной плазмой [3; 39; 64; 135; 147].

Эффекты «тепловой плазмы» нашли своё применение в плазменных коагуляторах. В этих приборах электрическая плазма, получающаяся при возникновении электрической дуги внутри коагулирующей головки, выдувается наружу струей инертного газа (гелия или аргона). Этим приборам необходима подача газа и воды для контура водяного охлаждения коагулирующей головки. При этом температура коагулирующей плазмы равна температуре в дуге электросварки и составляет до 4000 ° С. Такая температура «закоагулирует» или разрежет любой сосуд, любую биологическую ткань. Но и ожоги подлежащих тканей будут соответствующими. Так, например, при работе подобным скальпелем - коагулятором, в режиме резания подлежащие ткани на глубину 3-5 мм были полностью обуглены, а еще на 5 мм представляли собой сплошной ожог.

Электрохирургический метод «аргоноплазменной коагуляции» (APC = Argon Plasma Coagulation) в последние годы всё шире и успешнее применяется для остановки кровотечений и девитализации аномальных тканей, например, в хирургии паренхиматозных органов [7; 242]. Одним из представителей плазменных коагуляторов, широко используемых в настоящее время в хирургических стационарах России и мира, является «аргоноплазменный коагулятор».

При проведении APC-вмешательств энергия высокочастотного тока воздействует на ткань через ионизированную аргоновую плазму. APC-метод не даёт осложнений и отличается высокой эффективностью благодаря надёжной коагуляции, равномерной коагуляции обширных участков тканей и возможности ограничения глубины проникновения термического эффекта. Бесконтактное воздействие высокочастотного тока на ткань практически полностью исключает

вероятность прилипания наконечника APC-инструмента к ткани. В зависимости от имеющихся показаний к применению аппликация струи аргонной плазмы возможна в осевом, боковом или радиальном направлении. Глубина коагуляции достигает 1-2 мм. Длительность экспозиции на 1 единицу площади 2-3 сек. Струп, образующийся в результате монополярной аргон-усиленной коагуляции, прочен, что ведет к снижению риска развития поздних послеоперационных кровотечений. Механизм остановки кровотечений аргон-усиленной коагуляции обусловлен образованием в тканях тепла, достаточного для коагуляции белка и «склеивания» сосуда, в то время как механическая тампонада способствует тромбированию сосудов. При аргон-усиленной коагуляции надежность остановки кровотечения обуславливается сосудистым компонентом и в дальнейшем не зависит от возможной активации антикоагуляционной системы крови. Однако применение комплексов, работающих на основе плазменных потоков, имеет свои недостатки: сложность эксплуатации комплекса, необходимость охлаждения плазмотрона проточной водой с высокой степенью очистки, потребность в электропитании от сети 380 В, заправка баллонов дефицитным рабочим «телом» (аргоном или гелием).

#### 1.5.1. Особенности «неравновесной (холодной) плазмы»

В «неравновесной плазме» ионы и нейтральные частицы имеют очень малую энергию, поэтому температура такой плазмы небольшая (температура  $\leq 45^{\circ}\text{C}$ ). Говоря о «холодной плазме», следует сказать о её прямом и непрямом получении.

Непрямое получение заключается в первоначальном образовании тепловой плазмы, которая далее охлаждается до нужных температурных величин и подаётся к органам и тканям. Недостатком такого способа генерации «холодной плазмы» является значительная потеря активных частиц во время её охлаждения.

При прямом образовании «холодной плазмы» она сразу образуется в области приложения электрода, не требует охлаждения и поэтому содержит

большее количество активных частиц. Прямое воздействие «плазмы» на организм осуществляется в основном двумя способами: «плазмой», полученной с помощью радиочастотного разряда и «плазмой», полученной с помощью барьерного разряда. «Плазма», полученная в радиочастотном разряде, имеет более высокую температуру, чем в барьерном, «плазма» барьерного разряда содержит больше активных составляющих [39; 64; 147; 215; 218]. Положительный лечебный эффект «неравновесной плазмы» связывают с наличием в ней активных химических частиц  $\text{OH}$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , атомарного кислорода и мощного ультрафиолетового облучения.

Окись азота выполняет в организме множество биологических функций. Она вызывает релаксацию сосудистой стенки, участвует в коагуляционном каскаде, выполняет важные функции в иммунной системе и т.д. Кроме того,  $\text{NO}$  обладает антимикробными и противоопухолевыми свойствами [28; 53; 62; 87; 103; 104; 105; 109; 110; 126; 127; 128; 150; 156; 220; 222; 278; 260; 261; 271; 284; 302; 303; 341; 342; 362]. Значительный эффект был достигнут при обработке эмпиемы плевры, при наличии туберкулезного бронхита и плеврита [111; 151; 208; 347; 357]. Положительная динамика наблюдалась при лечении инфицированных, долго не заживающих ран, после секвестрэктомии при остеомиелите, а также в офтальмологии и т.д. [13; 22; 24; 163; 179; 180; 212; 213; 331; 332; 333; 335; 337; 340; 346; 349; 352]. Дополнительно доказана возможность "низкотемпературной аргоновой плазмы" оказывать стимулирующее действие на пролиферацию стволовых клеток в регенерирующих тканях животных *in vivo* [23; 186; 187].

Хорошо зарекомендовала себя  $\text{NO}$ -терапия в случае гнойного воспаления придатков матки [25; 71]. Окись азота эффективно используется при лечении псориаза, экзем, дерматитов и других кожных болезней.

Широкое применение «неравновесная плазма» получила в стоматологии в основном в связи с гемостатическим и антибактериальным действием [148; 219; 220; 221; 225; 228; 229; 230; 233; 235; 273; 274; 277; 287; 291; 292; 293; 294; 295; 298; 307; 308; 309; 334; 359; 360; 361; 363; 364; 368; 369; 370; 372; 373]. В ряде

работ исследовано влияние «неравновесной (холодной) плазмы» на клетки опухолевых культур *in vitro* и доказано развитие апоптоза [224; 256; 313; 314; 315; 343; 350]. В отдельных работах экспериментально подтверждено влияние холодной плазмы барьерного разряда на коагуляцию крови [120; 239; 248; 255; 272; 305; 357; 366; 371].

Способность «неравновесной плазмы» ускорять заживление с помощью активной стерилизации и коагуляции также активно обсуждается рядом авторов [224; 231; 232; 234; 236; 237; 244; 249; 250; 252; 257; 264; 268; 269; 279; 285; 286; 305; 316; 317; 318; 321; 322; 323; 324; 326; 328; 327; 329; 353; 354; 355; 356; 358; 366].

В настоящее время разработано несколько типов аппаратов, образующих «неравновесную (холодную) плазму». Одним из подобных аппаратов, генерирующих плазму, является хорошо известный в России аппарат «Плазон», разработанный в Московском государственном техническом университете им. Н.Е. Баумана в 1998 г. При использовании аппарата «Плазон» лечебное воздействие осуществляется путем подвода к биологическим тканям газовых потоков различной температуры (от 4000°C до температуры окружающей среды), но с неизменным содержанием в потоке оксида азота (NO). Достигается это путем принудительного прокачивания атмосферного воздуха через рабочий орган аппарата - манипулятор. При подключении манипулятора к источнику постоянного и стабилизированного тока между катодом и анодом горит электрическая дуга, геометрически стабилизированная каналом межэлектродной вставки. Атмосферный воздух подается в манипулятор встроенным в аппарат микрокомпрессором, проходит через электрическую дугу, нагревается и укоряется, переходя в плазменное состояние, и через отверстие в аноде истекает из генераторной части манипулятора. Геометрические параметры канала генераторной части, энергетические характеристики электропитания и охлаждения электрической дуги подобраны таким образом, что температура газа в дуге оптимальна для образования оксида азота. В случае манипулятора-коагулятора и манипулятора-деструктора нагретый воздушно-плазменный поток

(ВПП) истекает непосредственно в окружающее пространство в виде ярко светящегося факела. Закалка оксида азота происходит при торможении истекающего потока в окружающем холодном воздухе. Коагулятор и деструктор отличаются друг от друга только диаметром выходного анодного канала - 1,2 мм и 0,7 мм соответственно. Этим достигается разница в скорости истечения воздушно-плазменной струи - до 200 м/сек для коагулятора и до 600 м/сек для деструктора. Температура ВПП при истечении в окружающее пространство на срезе выходного канала достигает 4000°C, что достаточно для получения хирургических эффектов (коагуляции и деструкции).

В ряде случаев - при тонком хирургическом вмешательстве, при отсутствии интенсивных кровотечений и непосредственно для проведения сеансов НО-терапии нет необходимости подавать столь горячий поток к тканям. Температуру газового потока необходимо снизить, но не в ущерб содержанию в нем оксида азота. В аппарате «Плазон» эта цель достигается путем дополнительного охлаждения потока, истекающего из генераторного узла, что позволяет, с одной стороны, снизить температуру потока вплоть до температуры окружающей среды, а с другой стороны, «заморозить» в нем молекулы оксида азота, рожденные в электрической дуге генераторного узла. В этом случае осуществляется не прямое воздействие «холодной плазмы» [3; 39; 64; 114; 135; 144; 145; 147; 163].

#### 1.6. Аппараты, используемые для остановки кровотечений

Кобляция (от англ. слов cold и ablation, что означает «холодное разрушение») – «плазменный разряд» генерируется в присутствии стерильного солевого раствора электролита с последующим созданием узкосфокусированного облака «плазмы» с температурой до 700°C. Это новый метод удаления тканей, применяется в таких областях хирургии, как: артроскопия, общая хирургия, косметология, гинекология, но в основном в оториноларингология и т.д. Метод кобляции исключает термическое повреждение от испарения и пиролиза, происходящих в традиционной электрохирургии с молекулярным расщеплением.

При использовании биполярного метода происходит процесс холодного удаления, больше всего похожий на работу эксимерных лазеров. Это достигается за счет применения электропроводящей жидкости (например, изотонический солевой раствор) в пространстве между электродом и тканью. При использовании достаточно высокой разницы напряжений между этими структурами, электропроводящая жидкость преобразуется в ионизированный слой пара - плазму. В результате напряжения градиента в слое плазмы заряженные частицы ускоряются в направлении ткани. При достаточно высоком градиенте напряжения эти частицы приобретают необходимую энергию, чтобы вызвать разрушение молекулярных связей в структуре ткани. Это молекулярное расщепление приводит к объемному удалению ткани. Тем не менее, из-за маленького диапазона ускоренных частиц в плазме этот процесс расщепления ограничивается поверхностным слоем нужной ткани. Таким образом, метод коагуляции позволяет проводить объемное удаление необходимой ткани при минимальном некрозе соседних тканей [240; 283; 296].

Недостатками методики являются дороговизна оборудования и технического обслуживания.

### Прибор «Холодноплазменный коагулятор» (ХПК).

Принцип действия аппарата «Холодноплазменный коагулятор» – получение «холодноплазменного пучка» с использованием серебряной иглы. При осуществлении им коагуляции в обрабатываемых тканях не выделяется большого количества тепла, поэтому глубина термического повреждения составляет 0,1 – 0,2 мм. Это дает возможность широкого применения прибора в медицине и даже в офтальмологии. При использовании аппарата «Холодноплазменный коагулятор» (ХПК) процесс заживления раневой поверхности протекает значительно быстрее, чем после обработки другими видами коагуляторов. ХПК однополярен, что позволяет избежать протекания тока через ткани и сопутствующего ему их электролиза, наблюдаемого при применении обычных электрокоагуляторов. В

ХПК коагуляция осуществляется плазменным пучком, контакт электрода с обрабатываемой поверхностью отсутствует, что создает дополнительную защиту от занесения инфекции в рану. При операциях на паренхиматозных органах и на роговице глаза бесконтактность работы позволяет избежать «приваривания» ткани к коагулирующему электроду с последующими отрывом и новым кровотечением. Однополярность ХПК достигается тем, что при его работе используют не обычный электрический ток, а квазистатические заряды. Плазмогенерирующая головка создает 500 – 1000 электростатических разрядов в 1 с, которые воспринимаются глазом как плазменная кисточка. Статические заряды распространяются по поверхности проводника и не проникают вглубь носителя. Поэтому при работе ХПК не происходит глубокого электротермического поражения тканей, подлежащих обрабатываемой поверхности. При возникновении плазменной дуги между иглой и тканью на обрабатываемой ткани мгновенно образуется тонкий слой углерода толщиной до 0,1 мм, что дополнительно защищает подлежащие ткани от термического поражения. Это значит, что при воздействии «электростатической плазмы» на ткань как бы снимаются слои толщиной 0,1 мм с одновременным завариванием сосудов. При работе ХПК происходит частичное распыление материала игольчатого электрода, представляющего собой серебряную иглу. Ионы серебра, попадая в рану, изменяют электрические потенциалы раневой поверхности на продолжительное время, стимулируя процессы регенерации и дополнительно обеззараживая ее. Плазменный пучок вызывает ионизацию воздуха и образование большого количества озона. Если поднести к электроду работающего коагулятора горящую спичку или зажигалку, то озоновый ветер, генерируемый плазмой, погасит ее. Такое количество озона вызывает полное обеззараживание раны, а также положительно влияет на процесс лечения при экземах. ХПК можно использовать при удалении папиллом, кондилом, новообразований, татуировок, шлифовке келоидных рубцов, при лечении животных, больных венерической саркомой, тендовагинитом, различными болезнями кожи (мокнущая экзема, дерматомикозы) и глаз (пигментозные кератиты, язвы и эрозии роговицы); для



обработки свежих, в том числе операционных и инфицированных ран, для лигирования кровеносных сосудов без наложения лигатур (методом запаивания стенки сосуда) [122; 123].

Недостатками метода является наличие термического повреждения, формирование ожогового струпа и рубцовых деформаций. Дополнительно возникают проблемы с изготовлением специальных игл.

Проанализировав перечисленные выше методы коагуляции паренхиматозных кровотечений, можно сделать вывод, что до сих пор отсутствует идеальный способ остановки кровотечений из паренхиматозных органов, а аппараты, применяемые для этого, не совершенны. Таким образом, изучение данной проблемы не теряет своей актуальности. Ранее созданные аппараты требуют усовершенствования на основании доклинических и клинических исследований, но также необходимо разрабатывать и новые приборы, которые будут соответствовать требованиям: «быстрая» остановка кровотечений, минимальная травматизация тканей, отсутствие контакта с обрабатываемой поверхностью (профилактика ВИЧ-инфекции, гепатитов и т.д.), интраоперационная профилактика инфекционных осложнений, минимальная стоимость аппарата и его обслуживания.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

На кафедре прикладной физики (НИ Томский политехнический университет) разработан аппарат «Источник холодной плазмы-1». Оптимальный режим воздействия на биологические ткани следующий:  $T \leq 45^{\circ}\text{C}$  (по всему разряду), амплитуда импульсов 15 кВ, частота следования 5 кГц, а  $S_{\text{электрода}} = 5 \text{ мм}^2$  (рисунок 1). Аппарат представляет собой блок с микросхемами, контактами для заземления и электрической вилкой, предназначен для работы от обычной электрической розетки. В корпусе блока аппарата имеется разъем для подключения электродов (рисунок 2). Аппарат генерирует «неравновесную плазму» из окружающего атмосферного воздуха под действием барьерного разряда, возникающего между электродом и обрабатываемой поверхностью.



Рисунок 1 – Внешний вид аппарата «Источник холодной плазмы-1».



Рисунок 2 – Внешний вид электрода ( $S=5 \text{ мм}^2$ ) для аппарата «Источник холодной плазмы-1».

Выбор данных параметров обусловлен предварительными исследованиями, говорящими о минимальном травматическом воздействии на биологические объекты.

Первоначально исследован состав «неравновесной плазмы» с применением эмиссионной спектроскопии. В этом случае химические вещества идентифицируются с помощью определенных линий излучения в спектре, которые соответствуют характерным переходам электронов атома или молекулы. В случае барьерного разряда электроны ионизируют нейтральные частицы, переводят нейтральные частицы в метастабильные состояния, испытывают другие неупругие процессы.

Излучение разряда регистрируется спектрофотометром марки СФ-26 ЛОМО, поступает через параллельный порт на компьютер, где происходит обработка информации. В качестве рабочего газа использовались гелий, азот и воздух.

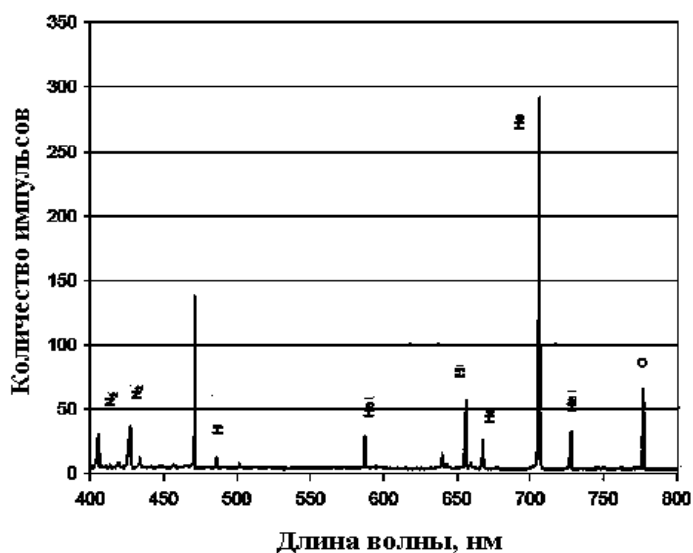


Рисунок 3 – Эмиссионный спектр барьерного разряда в гелии.

Основными линиями в разряде является излучение нейтрального гелия. Также в небольших количествах присутствуют азот, атомарный водород и атомарный кислород. Их наличие, очевидно, связано с неполным вытеснением воздуха гелием из разрядной камеры (рисунок 3).

Измерения барьерного разряда в азоте, где выраженное количество  $N_2^+$  отмечается при длине волны 400 нм и количестве импульсов 1180, также имеются единичные гидроксильные радикалы (рисунок 4).

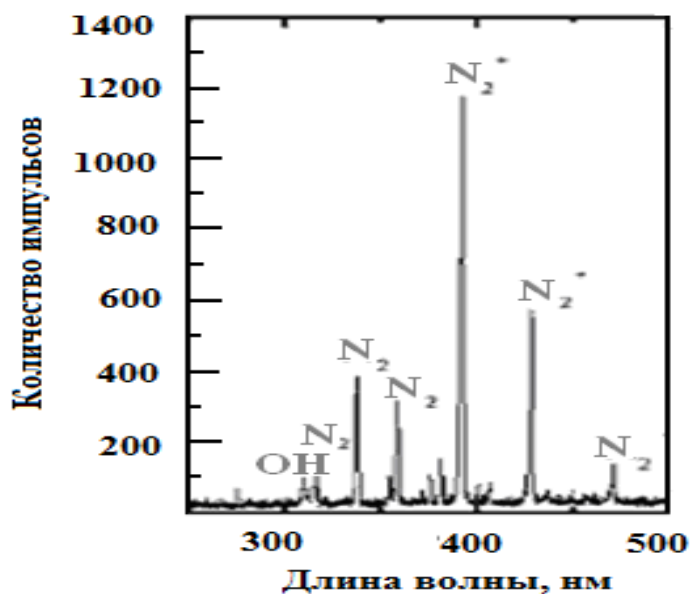


Рисунок 4 – Эмиссионный спектр барьерного разряда в азоте.

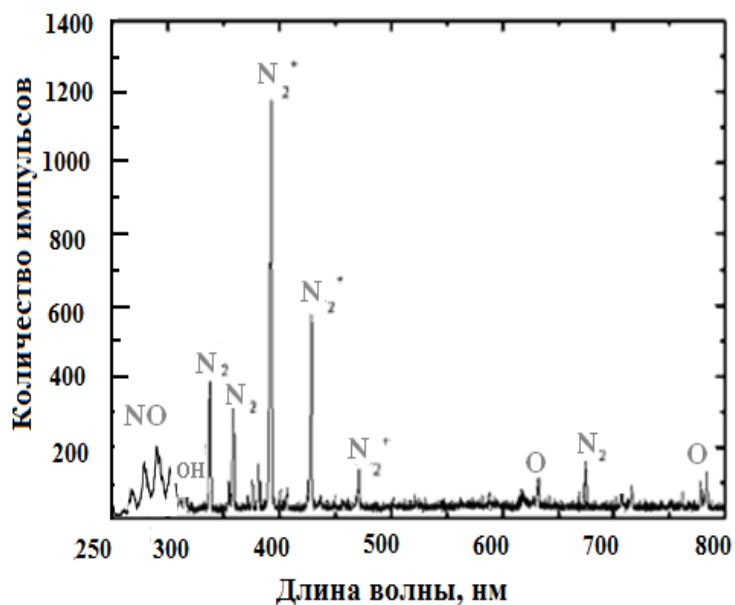


Рисунок 5 – Эмиссионный спектр барьерного разряда в воздухе.

Спектр измерения барьерного разряда в воздухе где представлен наличием реактивных частиц, таких как OH, NO,  $N_2^+$ , атомарный кислород. Наличие этих компонентов и ультрафиолетового излучения обеспечивают стерилизующее и стабилизирующее действие плазмы. Реальное применение барьерного разряда желательно проводить в воздухе, т.к. в нем присутствует большее количество реактивных компонентов (рисунок 5).

Исследования проводили на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (г. Томск) (руководитель д-р мед.наук, профессор Байков А.Н.), эксперименты *in vivo* выполняли на базе лаборатории биологических моделей (руководитель лаборатории – канд. биол.наук Иванов В.В.), исследования *in vitro* осуществляли на базе кафедры анестезиологии и реаниматологии (зав. кафедрой д-р мед.наук, профессор Шписман М.Н.), оценка МР-томограмм и ангиограмм – в кабинете МРТ госпитальных клиник им. Савиных А.Г. ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (заведующий кабинетом, канд. мед.наук Бородин О.Ю.).

Работа выполнена при финансовой поддержке по программе Приоритет 2012 Фонд содействия Развитию малых форм предприятий в НТС. Проведение НИОКР по государственному контракту № 10848p/19772 от 13.08.2012 г.

Название НИОКР: «Разработка макета плазменного коагулятора на основе низкотемпературной плазмы для остановки кровотечений в паренхиматозных органах».

Проведение данного исследования одобрено локальным этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета г.Томска (протоколы № 3310 от 29.04.13 г. и № 3876 от 27.10.14 г.).

Исследование выполнено в два этапа:

I Этап – *in vitro*:

Определение показателей звеньев гемостаза проводили стандартными методиками с использованием крови здоровых доноров. Использовали венозную кровь из кубитальных вен без применения жгута (взятие крови из кубитальной вены в количестве 1 мл силиконизированным шприцем объемом 2 мл). По результатам предварительных (поисковых) исследований выявлено, что оптимальное время воздействия «неравновесной плазмой» на кровь *in vitro* составило 90 секунд.

Было выделено две группы:

1. Контрольная группа: кровь помещали на 90 сек в планшетку для определения групп крови из медицинского пластика без каких-либо воздействий, далее кровь при помощи силиконизированного шприца перемещали в кювету из медицинского пластика объемом 0,45 мл и загружали в аппарат АРП-01М «Меднорд»;
2. Экспериментальная группа: кровь помещали в планшетку для определения групп крови из медицинского пластика и в течение 90 сек обрабатывали «неравновесной плазмой», после чего кровь немедленно помещали в разовую кювету из медицинского пластика объемом 0,45 мл чистым силиконизированным шприцем объемом 2 мл и загружали в аппарат АРП-01М «Меднорд» (рисунок 6, 7).

Функциональное состояние системы гемостаза оценивали методом низкочастотной пьезотромбоэластографии (НПТЭГ) на аппаратно-программном комплексе АРП-01М «Меднорд» с использованием компьютерной программы ИКС «ГЕМО-3», включающей оценку: начального этапа коагуляции (инициация/амплификация, ИКК – интенсивность контактной коагуляции); тромбиновой активности (пропагация, КТА – константа тромбиновой активности, ИКД – интенсивность коагуляционного драйва); интенсивности полимеризации сгустка (ИПС); времени образования поперечно сшитого фибрина; максимальной плотности сгустка (МА); коэффициента суммарной противосвёртывающей активности (КСПА); интенсивности ретракции и лизиса сгустка (ИРЛС); определение «точки желирования» (время свёртывания крови) [26; 107; 112; 116; 143; 170; 184; 206; 207].



Рисунок 6 – Внешний вид аппарата АРП-01М «Меднорд».

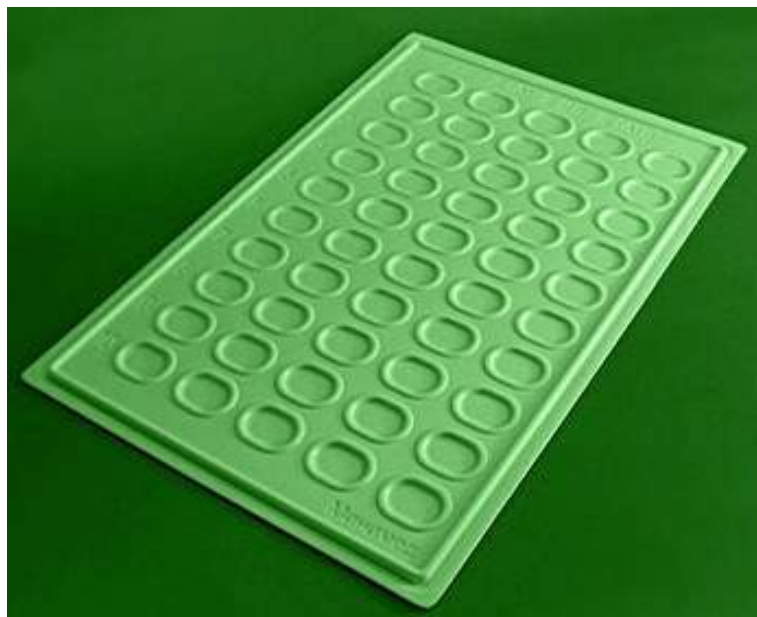


Рисунок 7 – Внешний вид пластикового 42-луночного планшета для серологических реакций.

II Этап – экспериментальный:

Выполнено 3и серии экспериментов:

1. Остановка кровотечения наложением швов по Оппелю при разработанной модели резекции левой доли печени (исследование выполнено на крысах) – 42 шт.;
2. Остановка кровотечения «неравновесной плазмой» при разработанной модели резекции левой доли печени (исследование выполнено на крысах) – 42 шт.;
3. Обработка раневой поверхности селезенки «неравновесной плазмой» (исследование выполнено на кроликах) – 48 шт.

Сроки взятия материала – 60 мин, 3-и, 5-е, 7-е, 14-е, 30-е, 60-е, 90-е, 180-е сут.

Контрольная группа – 15 крыс и 15 кроликов – исследование паренхиматозных органов у интактных животных (таблица 1).

Эксперимент по резекции печени с различными видами остановки кровотечений проводили на 99 белых аутбредных крысах самцах линии Wistar массой 280-350 г. Животные были получены из отдела экспериментальных биологических моделей ФГБНУ «НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга» (г. Томск, Россия), имеется сертификат



здоровья. В серии эксперимента с резекцией селезенки и остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» работу выполняли на 63 кроликах самцах (порода шиншилла), массой 1800-2000г. Животные приобретались у ИП «Радионов С.И.» (г. Томск, Россия), имеется сертификат здоровья.

Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986) и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ 755 от 12.08.1977 МЗ СССР) [49; 164; 178].

До начала эксперимента животных выдерживали на протяжении 2-х недельного карантина в условиях вивария с учетом требований к их содержанию. Животные находились в стационарных условиях вивария на специализированном, брикетном вскармливании с добавлением овощей, зерновых, сена и молочной продукции. Производили дозированное освещение (12:12, свет с 08:00 часов). В одной клетке содержали по три крысы. Кроликов содержали по одному в клетке. Ежедневно всех животных осматривали, оценивали их общее состояние и течение послеоперационного периода. Все данные заносили в дневник. При выборе экспериментальных животных учитывали факт идентичности строения органокомплексов всех млекопитающих [108; 164].

Таблица 1  
Схема эксперимента

Серии опыта	Контрольные точки, сутки								Количество животных	
	60 мин	3-и сут	5-е сут	7-е сут	14-е сут	30-е сут	90-е сут	180-е сут	опыт	контроль
1. Швы печени по Оппелю	-	6	6	6	6	6	6	6	42	15
2. Остановка кровотечений «неравновесной плазмой» после резекции печени	-	6	6	6	6	6	6	6	42	
3. Остановка кровотечений «неравновесной плазмой» после резекции селезенки	6	6	6	6	6	6	6	6	48	15
ИТОГО:									162	

При выполнении оперативных вмешательств анестезию у крыс осуществляли однократным внутримышечным введением раствора «Zoletil-100»® (производство «Virbac», Франция) из расчета 2 мг/кг массы тела экспериментального животного в сочетании с препаратом «Xylavet» (производство Венгрия) из расчета 1 мг/кг. Крысу фиксировали на спине, удаляли шерсть с передней брюшной стенки при помощи специализированной машинки для стрижки животных Wahl 1872- 0475 Super Groom (Производство: Венгрия). Операционное поле обрабатывали трижды «Септоцидом». Доступ к печени осуществляли верхнесрединной лапаротомией, с удалением участка паренхимы левой доли печени скальпелем в объеме 1/3, без пережатия сосудистого пучка ворот печени либо ее паренхимы [14; 108; 124].

1. В группе с классическим швом печени остановку кровотечений производили при помощи классического шва по Оппелю нитью «VICRYL» 5/0 на атравматической игле (производство «Ethicon», Шотландия) (рисунок 8)

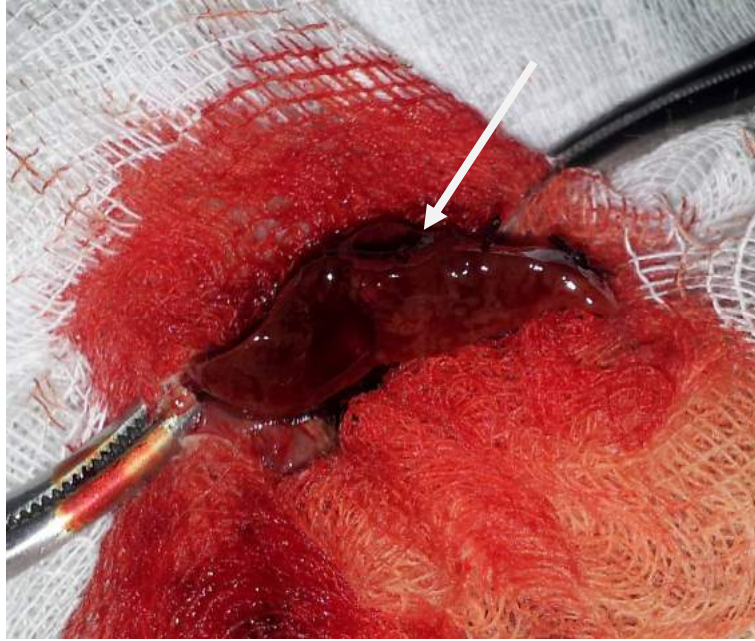


Рисунок 8 – Печень крысы после наложения гемостатического шва. Швы по Оппелю указаны стрелкой.

2. В группе с обработкой раневой поверхности печени «неравновесной плазмой» методика была следующая: после резекции начинали обработку электродом ( $S_{\text{воздействия}} = 5 \text{ мм}^2$ ) (рисунок 9, 10) [108]. Одновременно с началом обработки засекали время обработки на стандартном секундомере. После остановки кровотечения осуществляли контроль коагуляции, затем печень погружали в брюшную полость, рану послойно зашивали нитью «VICRYL» 5/0 на атравматической игле (производство «Ethicon», Шотландия) и накладывали асептическую повязку.

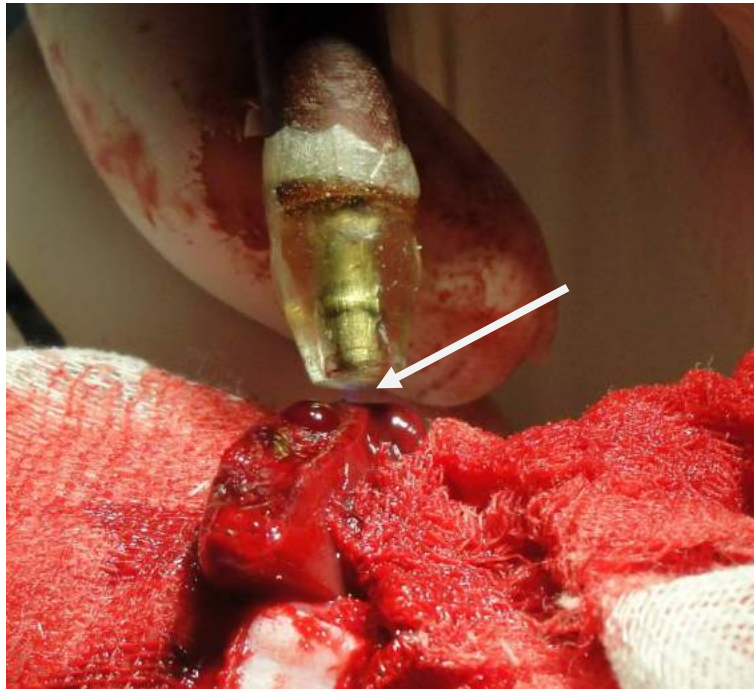


Рисунок 9 – Обработка раневой поверхности печени крысы после резекции с целью остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Барьерный разряд указан стрелкой.



Рисунок 10 – Раневая поверхность печени, обработанная «неравновесной плазмой». Обработанная поверхность указана стрелкой.

3. В экспериментальной группе с обработкой раневой поверхности селезенки, проводимой на кроликах, оперативное вмешательство заключалось в резекции селезёнки с последующей остановкой кровотечения заявленным методом [124]. Анестезию у кроликов осуществляли однократным внутривенным введением раствора

Zoletil-100® (производство Virbac, Франция) из расчета 0,05 мл на 1 кг массы тела экспериментального животного в сочетании с препаратом Xylavet (производство Венгрия) из расчета 0,15 мл на 1 кг массы тела экспериментального животного [14]. Внутривенное введение препаратов у кроликов осуществляли после катетеризации вен на тыльной поверхности уха катетером 24G (преимущественно для катетеризации использовали большую ушную вену) (рисунок 11).



Рисунок 11 – Установлен периферический катетер 24G в большую ушную вену кролика (с целью выполнения общей анестезии и взятия крови).

В большинстве случаев вены данной области крупные, хорошо визуализируются, поэтому их пунктируют через кожу, но иногда это сделать не удавалось и приходилось прибегать к венесекции [14]. После достижения стадии хирургического наркоза кролика фиксировали на спине, удаляли шерсть с передней брюшной стенки специализированной машинкой для стрижки животных Wahl 1872- 0475 Super Groom (Венгрия). Операционное поле обрабатывали трижды Септоцидом. Доступ к селезёнке осуществляли верхнесрединной лапаротомией с последующим выведением селезенки в операционную рану и поперечным удалением 1/3 селезенки. Коагуляцию производили при помощи аппарата «Источник холодной плазмы-1». Придерживая селезёнку в ране, начинали обработку данным прибором (рисунок 12).



Одновременно с началом обработки засекали время обработки на стандартном секундомере. После остановки кровотечения селезёнку погружали в брюшную полость, рану послойно зашивали нитью «VICRYL» 5/0 на атравматической игле (производство «Ethicon», Шотландия), затем накладывали асептическую повязку [4; 9; 17; 49; 82; 124; 130; 146; 147].

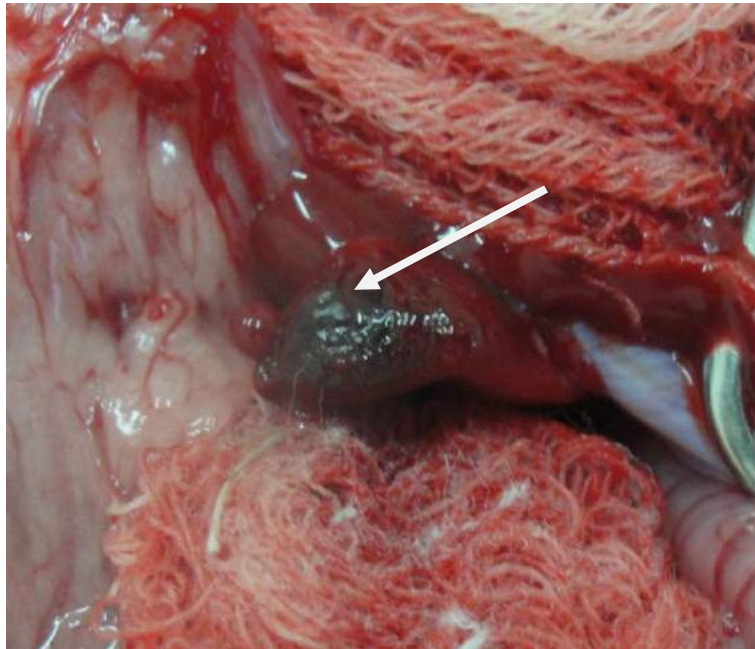


Рисунок 12 – Раневая поверхность селезенки, обработанная «неравновесной плазмой». Обработанная поверхность указана стрелкой.

Дренажи не устанавливали. Длительность операций составляла 45-60 мин. Летальные исходы среди экспериментальных животных в процессе оперативного вмешательства отсутствовали. Перевязку и осмотр проводили ежедневно. Окончательно повязку снимали на 4-е сут. Раны заживали первичным натяжением.

После выполнения оперативных вмешательств определяли объем кровопотери стандартным гравиметрическим методом. На лабораторных электронных весах (CAS RE-260, производство CAS Corp. Южная Корея, дискретность-0,05/0,1) определяли массу сухих салфеток до операции и массу тех же салфеток, пропитанных кровью, после оперативного вмешательства. Каждый раз перед работой с электронными весами выполняли настройку и калибровку весов. Разница в массе салфеток составляла массу потерянной в ходе операции

крови. Объем кровопотери определяли делением массы крови на плотность крови. Плотность крови грызунов составляет 1,051. Погрешность метода, по литературным данным, составляет 10 – 12% [72; 82; 108]. Объем кровопотери определяли по формуле:

$$V_{\text{кровопотери}} = \frac{M_{\text{пк}}}{1,051}$$

где  $M_{\text{пк}}$  – масса потерянной крови в ходе эксперимента; 1,051 – показатель плотности крови грызунов.

Выведение животных из эксперимента в контрольные точки осуществляли при помощи  $\text{CO}_2$  – асфиксии в специализированной камере.

Для комплексного исследования тканевой реакции паренхиматозных органов в разные временные промежутки эксперимента забирали фрагменты паренхимы (печени и селезенки) обработанные «неравновесной плазмой» и после наложения шов по Оппелю (печень).

Фрагменты исследуемых органов использовали для приготовления гистологических препаратов: проводили по спиртам возрастающей концентрации, заливали в парафин по стандартной методике [93]. Срезы толщиной 5 – 7 мкм получали при помощи ротационного микротомы Accu-Cut®SRM™200 (Sakura, Япония).

Обзорную микроскопию и морфометрию осуществляли на микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Для анализа выраженности фиброза использовали окраску пикрофуксином по Ван-Гизону [79; 93; 118].

Полученные биоптаты изучали с использованием бинокулярного светового микроскопа Carl Zeiss Axioskop 40 FL. При обзорной световой микроскопии оценивали воспалительные, регенераторные, дисрегенераторные (пролиферацию, гиперплазию), фиброзные процессы.

С помощью цифровой фотокамеры Canon Power Shot A 630 производили съемку гистологических препаратов (7 – 10 случайных полей зрения для каждого среза). Цифровые фотографии подвергали морфометрическому исследованию с

использованием компьютерной программы ImageJ 1.43 (режим доступа <http://www.rsb.info.nih.gov/ij/>). За единицу измерения принимали 1 мм<sup>2</sup> ткани исследуемых органов. С помощью метода точечного счета Автандилова с использованием Plugins «Grid» в гистологических препаратах подсчитывали удельные объемы (УО, мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>) следующих структур: в препаратах печени (УО, мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>) гепатоцитов с признаками дистрофии (УО дг), двухядерных гепатоцитов (УО дв.г), гепатоцитов с некротическими изменениями (УО н.г). При анализе морфологических структур селезенки подсчитывали (УО, мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>) красной пульпы (УО к.п.), белой пульпы (УО б.п.), УО соединительной ткани (мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>) (УО с.т.), УО сосудов (мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>) [1; 2; 165]. При помощи Plugins «Cell» программы ImageJ на 1 мм<sup>2</sup> ткани исследуемых органов подсчитывали плотность клеточного инфильтрата [1; 2; 37].

У кроликов производили срезы селезёнки, отпечатки срезов на предметном стекле с последующей микроскопией полученных отпечатков. Первым этапом выполнялся срез и отпечатки резецированного участка селезёнки без обработки «неравновесной плазмой» (группа контроля). Вторым этапом – обработка поверхности среза этой же селезёнки «неравновесной плазмой» в течение 1 минуты, резекция области селезёнки, обработанной плазмой, и её отпечатки на предметном стекле. Для группы контроля (N) и экспериментальной (Plasma) группы выполнено по семь отпечатков селезёнки (Рисунок 13).



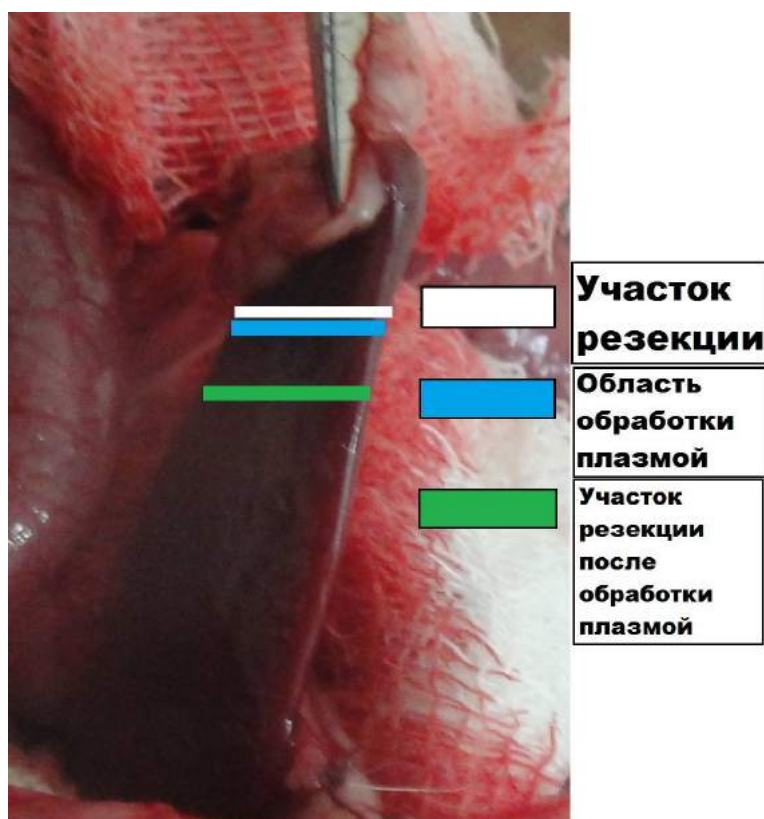


Рисунок 13 – Общий вид селезёнки кролика. Указаны зона резекции, зона обработки «неравновесной плазмой». Белым цветом указан участок резекции селезенки, синим цветом – участок обработки, зеленым цветом – участок резекции после обработки.

Отпечатки селезенки производили по стандартной методике, окраску выполняли азур-II и эозином по Нохту – Максимову.

Взятие крови у экспериментальных животных осуществляли по стандартной методике. Предварительно крыс погружали в камеру для CO<sub>2</sub> асфиксии, далее вскрывали переднюю брюшную стенку и стерильным шприцом набирали 5 мл крови из сердца. Взятие крови у кроликов производили из большой ушной вены при помощи периферического катетера 24G. Оценивали биохимические показатели крови по расширенному биохимическому международному профилю, а именно: щелочная фосфатаза, мочевины крови, общий белок, креатинин, глюкоза, АЛТ, АСТ, билирубин общий, билирубин прямой, тимоловая проба, α-амилаза.

Для биохимических исследований кровь забирали в пробирки для исследования и транспортировки (Improvacuter® с активатором свертывания), оставляли до спонтанного образования сгустка, затем отделяли сыворотку при помощи центрифугирования при 1000 – 1500 в течение 10 – 15 минут

1. Определение активности щелочной фосфатазы в сыворотке крови кинетическим методом на полуавтоматическом анализаторе Photometer 5010 v5+ (Riele, Germany).

Принцип метода: в присутствии ионов магния и цинка р-нитрофенилфосфат гидролизует фосфатазой до фосфата и р-нитрофенола. Количество освобожденного окрашенного р-нитрофенола пропорционально активности щелочной фосфатазы и измеряется при 405 нм. Использовали готовые реагенты «Analyticon Biotechnologies AG», Germany.

2. Количественное измерение концентрации мочевины в сыворотке крови ферментативным двухступенчатым методом на полуавтоматическом анализаторе Photometer 5010 v5+ (Riele, Germany).

Принцип метода: мочевина под действием уреазы разлагается на углекислый газ и аммиак. Аммиак в реакции с салицилатом натрия и гипохлоритом натрия в присутствии нитропруссид натрия образует окрашенный комплекс, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации мочевины в исследуемом образце. Измерение проводят при 640 нм. Использовали готовые реагенты «BioSistemas S.A», Spain.

3. Измерение количества общего белка в сыворотке крови биуретовым методом.

Принцип метода: в щелочной среде белок образует с ионами меди комплексное соединение фиолетового цвета, интенсивность окраски которого пропорциональна концентрации белка в пробе. Фотометрия на полуавтоматическом анализаторе Photometer 5010 v5+ (Riele Germany), при 540 нм. Использовали готовые реагенты «Протеин – Ново» ЗАО «Вектор – Бест», Россия.

4. Определение количества креатинина в сыворотке крови кинетически без депротеинизации на полуавтоматическом анализаторе Photometer 5010 v5+ (Riele Germany).

Принцип метода: измеряется комплекс, образующийся между креатином и пикриновой кислотой в щелочной среде. Скорость изменения поглощения пропорциональна концентрации креатинина при 505 нм. Использовали готовые реагенты «BioSistems S.A», Spain.

5. Измерение количества глюкозы в сыворотке крови ферментативным (глюкозооксидазно – пероксидазным) методом с колориметрическим определением при Hg 540 на полуавтоматическом анализаторе Photometer 5010 v5+ (Riele, Germany).

Принцип метода: глюкоза окисляется кислородом воздуха в присутствии фермента глюкозооксидазы с образованием глюконовой кислоты и эквимольного количества перекиси водорода. Перекись водорода в присутствии пероксидазы окисляет компоненты хромогенной смеси с образованием красителя. Интенсивность окраски образовавшегося продукта пропорциональна концентрации глюкозы. Использовали готовые реагенты «Новоглюк-К,М», ЗАО «Вектор- Бест», Россия.

6. Определение активности трансаминаз (АСТ, АЛТ) в сыворотке крови кинетическим методом на полуавтоматическом анализаторе Photometer 5010 v5+ (Riele, Germany).

Принцип теста основан на разнице поглощения при длине волны 340 нм восстановленной (НАДН) и окисленной (НАД). При 340 нм НАДН имеет максимальную адсорбцию, тогда как НАД при данной длине волны не имеет поглощения. Использовали готовые реагенты «Analyticon Biotechnologies AG», Germany.

7. Определение общего и конъюгированного билирубина в сыворотке крови модифицированным методом Йендрассика-Грофа на полуавтоматическом анализаторе Photometer 5010 v5+ (Riele, Germany).

Принцип метода: Под воздействием HCl разрывается тетрапирроловая связь билирубина, в результате чего образуются два дипиррола, которые диазотируются диазобензосульфоновой кислотой с образованием розово-фиолетового азобилирубина. Связанный билирубин реагирует быстро, несвязанный билирубин реагирует после добавления кофеинового реактива.

Использовали готовые реагенты «Билирубин-Ново» (ЗАО «Вектор-Бест», Россия), содержащих кофеин, натрия бензонат, натрия ацетат 3-водный, HCl концентрированную, сульфаниловую кислоту.

Для определения связанного билирубина измерение проводят спустя 5 – 10 мин после добавления диазосмеси. Для определения общего билирубина пробу для развития окраски оставляют стоять 20 минут, после чего измеряют на фотометре. Измерение проводят при длине волны 500 – 560 нм.

8. Определение тимоловой пробы в сыворотке крови турбидиметрическим методом на полуавтоматическом анализаторе Photometer 5010 v5+ (Riele, Germany).

Принцип метода: сывороточные бета-глобулины, гама-глобулины и липопротеины осаждаются при pH 7,55 тимоловым реактивом. В зависимости от количества и взаимного соотношения отдельных белковых фракции при реакции возникает помутнение, интенсивность которого измеряют при длине волны 620 - 650 нм. Реактивы фирмы "Erba Lachema" (Чехия).

9. Определение  $\alpha$ -амилазы в биологических жидкостях оптимизированным энзиматическим кинетическим методом на полуавтоматическом анализаторе Photometer 5010 v5+ (Riele, Germany).

Принцип метода: под действием  $\alpha$ -амилазы синтетический субстрат EPS [4,6-этилиден(G7)-п-нитрофенил-(G1)-  $\alpha$ ,D-мальтогептаозид] гидролизуетс с образованием бесцветных нитрофенилмальтозидов. Под действием  $\alpha$ -глюкозиды нитрофенилмальтозиды гидролизуются до глюкозы и окрашенного п-нитрофенола. Скорость нарастания концентрации п-нитрофенола пропорциональна активности фермента. Реагенты фирмы (Ольвекс Диагностикум, г.Санкт Петербург).

Учитывая коагуляционные свойства «неравновесной плазмы» производили определение таких показателей крови, как: протромбиновое время (ПВ) международное нормализованное отношение (МНО), активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), агрегация тромбоцитов, количество фибриногена [60; 66; 67; 77; 91; 106]. Взятие крови производили в вакутейнеры для гематологических исследований (Improvacueter®)), в которых кровь смешивалась с 3,8% цитратом натрия в соотношении 9:1. Кровь центрифугировали при 2000G в течение 10 минут.

10. Определение концентрации фибриногена по методу Клаусса проводилось на коагулометре Destiny Plus (Tcoag Ireland Limited, Ирландия) с оптическим и механическим принципом регистрации образования сгустка.

Принцип метода заключается в определении времени свертывания цитратной плазмы с избытком тромбина. Концентрация фибриногена определяется автоматически по калибровочной кривой, построенной в билогарифмической системе координат. Применялись готовые реагенты для определения фибриногена (TriniClot Fibrinogen Kit). В состав набора входит тромбин, имидазоловый буфер, калибровочная плазма, Tsoag, Ирландия.

11. Протромбиновое время. Принцип метода: определение времени свертывания цитратной плазмы в присутствии ионов кальция на коагулометре Destiny Plus (Tcoag Ireland Limited, Ирландия) с оптическим и механическим принципом регистрации образования сгустка. Использовали готовые реагенты для определения протромбинового времени (Exel-S-tromboplastin), TriniCLOT PT Excel S, Tsoag, Ирландия.

12. Определение активированного частичного (парциального) тромбопластинового времени (АЧТВ/АПТВ) на коагулометре Destiny Plus с оптическим и механическим принципом регистрации образования сгустка.

Принцип метода: определение времени свертывания плазмы крови в условиях стандартизированной контактной и фосфолипидной активации процесса.

Использовали готовые реагенты для определения АЧТВ, высокочувствительный (TriniCLOT aPTT HS), Tsoag, Ирландия.

Общий анализ крови выполняли только в группе с остановкой кровотечения селезенки. Оценивали следующие показатели: гемоглобин, общее количество эритроцитов, цветовой показатель, общее количество лейкоцитов, тромбоцитов и скорость оседания эритроцитов (СОЭ). Производили подсчет лейкограмм.

Для более детального исследования функционального состояния паренхиматозных органов в послеоперационном периоде выполняли магнитно-резонансную томографию (МРТ) печени с контрастным усилением, а также контрастную магнитно-резонансную ангиографию. МРТ-исследования проводили в отдаленные сроки после оперативного вмешательства: на 90-е и 180-е сут, поскольку в ранние сроки присутствует воспаление и полученные данные не являются столь информативными.

МРТ-диагностику проводили на высокопольном магнитно-резонансном томографе Toshiba Excelart Vantage 1.5T (Япония) со скоростью изменения напряженности магнитного поля 50 мТ/м/мс и амплитудой градиентной системы 30 мТ/м. Для обеспечения неподвижности крыс выполняли анестезию однократным внутримышечным введением раствора «Zoletil-100»® (производство «Virbac», Франция) из расчета 2 мг/кг массы тела экспериментального животного в сочетании с препаратом «Xylavet» (производство Венгрия) из расчета 1 мг/кг. Далее животных фиксировали по трое на специальной немагнитной доске и укладывали поперек катушки.

В исследовании использовали катушку для позвоночника с охватом поля зрения всех трех животных одновременно. Контрастное магнитно-резонансное исследование выполнялось в динамическом режиме с получением изображений до введения парамагнетика и на фоне болюсного введения гадолиний содержащего гепатоспецифического парамагнетика в течение 45-55 мин. Для удобства введения парамагнетика в бедренную вену устанавливали периферический катетер размером 24G. В качестве парамагнетика использовался известный и разрешенный для клинического применения гепатоспецифический контрастный препарат «Примовист» (Производитель: Bayer Schering Pharma AG, Ирландия) в концентрации 0,25 ммоль/мл и рекомендованной дозе 0,025 ммоль/кг

веса (около 0,02 мл) с промывкой системы 0,9% раствором натрия хлорида в объеме 0,2 мл, достаточной для «досылки» парамагнетика в магистральные сосуды животного. Протокол магнитно-резонансного исследования включал в себя выполнение динамического МР-ангиографического протокола с использованием техники 3D FFE: TR = 10 мс, TE = 2.7 мс, FA = 20, ST = 2/-1 мм, FOV = 157x188 мм, MX = 192x160 в корональной проекции длительностью одного сканирования TAc = 23 с. Кроме того, быстрые последовательности чередовали с 3D FFE протоколами высокого разрешения с параметрами последовательности: TR = 34 мс, TE = 4.0 мс, FA = 20, ST = 2.8/-1.4 мм, FOV = 263x280 мм, MX = 432x400 в корональной проекции длительностью одного сканирования TAc = 3 мин 25 с. Общая продолжительность сканирования составила от 40 до 60 минут. У всех животных выход из наркоза был с полным возвратом к активности через 3-4 часа. Постпроцессорная обработка полученных динамических МР-ангиограмм включала в себя MIP-реформации МР-ангиограмм всего тела животного. Для оценки контрастирующего эффекта использовался коэффициент контраст-шум (Contrast to Noise Ratio), рассчитываемый как отношение разницы интенсивности области интереса ( $S_{\text{печени}}$ ) и области мышечной ткани ( $S_{\text{мышцы}}$ ), отнесенной к дисперсии от шума, т.е. дисперсии от воздуха ( $D_{\text{воздуха}}$ ):  $\text{CNR} = (S_{\text{печени}} - S_{\text{мышцы}}) / D_{\text{воздуха}}$ . Кроме того, оценивали такие показатели как время достижения максимального значения CNR –  $t_{\text{макс}}$  и само достигаемое значение  $\text{CNR}_{\text{макс}}$  [153; 183; 227; 275; 280; 281; 290].

Магнитно-резонансную ангиографию выполняли для оценки функционального состояния селезенки после резекции и остановки кровотечения аппаратом «ИХП-1».

После введения в наркоз кролика фиксировали на животе и располагали поперек катушки. При выполнении исследования использовалась катушка для позвоночника с охватом поля зрения брюшной полости кролика. Контрастное МР-исследование выполнялось в динамическом режиме с получением изображений до введения парамагнетика и на фоне болюсного введения парамагнетика в течение 1 мин 34 сек. В качестве парамагнетика использовались

известные и разрешенные для клинического применения контрастные препараты «Гадовист» в концентрации 1,0 ммоль/мл (Gd-DO3A (гадопентат-димерглиумин), Bayer-Schering) и «Магневист» (Gd(III)-DTPA) (Производитель: Bayer Schering Pharma AG, Ирландия) в рекомендованных дозах 0,1 мл/кг и 0,2 мл/кг массы тела соответственно с промывкой системы 0,9% раствором натрия хлорида в объеме 0,2 мл, достаточной для «досылки» парамагнетика в магистральные сосуды животных. Протокол МР-исследования включал в себя выполнение динамического МР-ангиографического протокола с использованием техники 3D-FFE: TR = 5,9 мс, TE = 2,7 мс, FA = 20, ST = 2,4/-1,2 мм, FOV = 170 × 225 мм, MX = 110 × 192, количество срезов 25, в коронарной проекции с длительностью 1 сканирования TAc = 8 с. Общая продолжительность сканирования составила 1 мин 34 сек. В определенные сроки после оперативного вмешательства использовался 3D-FFE протокол в режиме высокого пространственного разрешения с параметрами: TR = 5,9 мс, TE = 2,7 мс, FA = 30, ST = 1,4/-0,7 мм, FOV = 170 × 225 мм, MX = 110 × 192, количество срезов 100, со временем исследования 31 секунда общей протяженностью 1 минута и 34 секунды. У всех животных выход из наркоза был с полным возвратом к активности через 3–4 ч. Постпроцессорная обработка полученных динамических МР-ангиограмм включала в себя MIP-реформации МР-томограмм всего тела животного. Для оценки контрастирующего эффекта использовался показатель коэффициента усиления контрастности селезёнки после введения контрастного препарата. Коэффициент рассчитывался как разность между контрастностью селезёнки в определённый временной промежуток после и до введения контрастного препарата, делённая на контрастность селезёнки до введения контрастного препарата и умноженная на 100 %.

Статистическую обработку проводили при помощи пакета программ SPSS. Данные представляли в виде медианы (Me), меру рассеяния – в виде квартильного интервала ( $Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$ ). В связи с тем, что небольшой объем выборки не позволил отнести данное распределение к нормальному закону, статистический анализ осуществляли с использованием непараметрических критериев: для попарно



несвязанных выборок применяли метод Манна – Уитни. Сравнение показателей в трех несвязанных группах проводили дисперсионным анализом ANOVA Крускала – Уоллиса. Критическим уровнем значимости считали значение  $p < 0,05$  [21; 33; 68; 138; 169].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

## 3.1. Разработанные экспериментальные модели оперативных вмешательств на паренхиматозных органах (печень и селезенка)

## 3.1.1. Модель резекции левой доли печени у крыс для последующей коагуляции «неравновесной плазмой» или швом по Оппелю

В соответствии с поставленными задачами была разработана модель резекции левой доли печени крыс для анализа эффективности способа интраоперационной остановки кровотечения с применением «неравновесной плазмы» и наложением гемостатического шва по Оппелю, а также последующей комплексной оценки показателей гемокоагуляции и морфофункционального состояния органа.

При разработке моделей оперативных вмешательств у экспериментальных животных, адаптированных к клиническому применению был использован опыт отечественных и зарубежных авторов [14; 63; 73; 84; 85; 98; 108; 124; 164; 265; 336].

У крыс после верхнесрединной лапаротомии левую долю печени выводили и придерживали в ране. При помощи скальпеля удаляли 2/3 левой доли печени без пережатия сосудистого пучка ворот печени либо ее паренхимы. В дальнейшем остановку кровотечения производили при помощи шва по Оппелю либо аппаратом «Источник холодной плазмы-1»

## 3.1.2. Модель резекции селезенки у кроликов для последующей коагуляции «неравновесной плазмой»

В соответствии с поставленными задачами была разработана модель резекции селезенки для анализа эффективности способа интраоперационной

остановки кровотечения с применением «неравновесной плазмы», а также последующей комплексной оценки показателей гемокоагуляции, морфофункционального состояния органа и возможности ее применения при проведении органосохраняющих операций.

При разработке адаптированной к клиническому применению экспериментальной модели оперативного вмешательства у животных был использован опыт отечественных и зарубежных авторов [4; 9; 14; 17; 49; 63; 73; 82; 98; 124; 130; 146; 147; 164; 336].

После верхнесрединной лапаротомии у кроликов селезенку выводили и придерживали в ране. При помощи скальпеля удаляли 1/3 селезенки без пережатия питающих ее сосудов и паренхимы органа. В дальнейшем остановку кровотечения производили при помощи аппарата «Источник холодной плазмы-1»

### 3.2. Показатели общего анализа крови животных

Результат общего анализа крови кроликов с резекцией печени и последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» приведены в таблице № 2.

Таблица 2

Общий анализ крови кроликов с резекцией селезенки и последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой»,

(Me[Q<sub>0,25</sub>Q<sub>0,75</sub>])

Группа	НЬ, г/л	Эритроциты, Т/л	Тромбоциты, Г/л	Лейкоциты, Г/л	ПЯН, %	ПЯН, Г/л	СЯН, %	СЯН, Г/л	Эозинофилы, %	Эозинофил, Г/л	Базофилы, %	Базофилы, Г/л	Моноциты, %	Моноциты, Г/л	Лимфоциты, %	Лимфоциты, Г/л	Пл.клетки, %	Пл.клетки, Г/л	Нормобласты на 100 лейкоцитов
Контроль	112 [110; 112]	8,1 [7,79; 9,59]	269 [176; 465]	15,3 [14,1; 17,1]	1 [0;1]	0,1 [0; 0,14]	17 [13; 18]	2,5 [2,26; 2,61]	4 [3;6]	0,6 [0,5; 0,98]	0 [0;0]	0 [0;0]	8 [6; 11]	1,3 [1,1; 1,5]	71 [65; 72]	10,8 [10; 11,1]	1 [1;1]	0,2 [0,14; 0,23]	0 [0;1]
3	110 [110; 112]	7,3 [7,24; 7,9]	355 [312; 403]	12,4 [11,8; 13,85]	0 [0;0]	0 [0;0]	38* [24; 39]	4,7* [4,33; 5,3]	1 [0;2]	0,1 [0; 0,37]	0 [0;1]	0 [0; 0,1]	15* [14;1 8]	1,8 [1,7; 2,8]	48* [27; 54]	6* [2,7; 6,3]	0 [0;1]	0 [0; 0,12]	1 [0;1]
7	100* [95; 104]	7,5 [7,22; 7,94]	281 [239; 320]	10,4* [8,5; 12,15]	1,5 [0,5; 2]	0,15 [0,06; 0,21]	27* [22; 36]	3,2 [2,26; 3,68]	1* [0,5; 1,5]	0,12* [0,06; 0,14]	0 [0; 0,5]	0 [0; 0,04]	11 [9; 12]	1 [0,9; 1,1]	54 [47; 64]	5,2* [4,5; 7,1]	1 [1; 3,5]	0,11 [0,08; 0,41]	0 [0;1]
14	114 [112; 115]	9 [8,45; 14,02]	377 [300; 505]	12,6 [11,4; 16,38]	1 [0,5; 1]	0,1 [0,05; 0,16]	24* [21; 28,5]	3,3 [2,96; 3,65]	3 [1,5; 6]	0,4 [0,23; 0,68]	0 [0;0]	0 [0;0]	7,5 [7;9]	1,1 [0,9; 1,3]	60 [54; 69]	7,5 [6,1; 11]	1 [0,5; 1,5]	0,12 [0,05; 0,18]	0 [0;0]
30	114 [113; 116]	8,5 [8,05; 9,02]	345 [241; 488]	14,6 [10; 19,85]	1,5 [1;2]	0,2 [0,18; 0,22]	24,5 [16,5;3 3]	3,1 [2,37; 4,8]	1 [0,5; 3]	0,3 [0,05; 0,44]	1 [0;2]	0,1 [0;0; 4]	6 [5,5; 8]	0,9 [0,8; 1,1]	64 [54; 71]	9 [6,2; 12,8]	0,5 [0;2]	0,09 [0; 0,41]	0 [0;0]

\* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;

### 3.3. Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии интактных животных

Биохимический анализ крови – это лабораторный метод исследования, использующийся в медицине, по результатам которого можно судить о функциональном состоянии органов и систем организма млекопитающих. Он позволяет определить функцию печени, почек, активный воспалительный процесс, ревматический процесс, а также нарушение водно-солевого обмена и дисбаланс микроэлементов с последующей коррекцией патологических состояний (таблица 3)

Таблица 3

Биохимические показатели крови и показателей гемокоагулографии в норме (группа контроля), (Me[Q<sub>0,25</sub>Q<sub>0,75</sub>])

Показатель	Значение
АЛТ (Ед/л)	69[48;80]
АСТ (Ед/л)	61[51;65]
Билирубин общий (мкмоль/мл)	8[8,0;8,3]
Билирубин прямой (мкмоль/мл)	0[0,0;0,0]
$\alpha$ -амилаза (Ед/л)	2645[2500;2756]
ЩФ (Ед/л)	287[209;302]
Общ белок (г/л)	52,6[52;55]
Глюкоза (ммоль/л)	5,1[4,7;5,3]
Мочевина (ммоль/л)	6,3[5,8;7,4]
Фибриноген (г/л)	2,45[2,25;2,5]
АЧТВ (сек)	20[17;20]
Протромбиновое время (сек)	10[10;10]
МНО	0,9[0,9;0,9]

### 3.4. Морфологическое строение печени интактных животных

Печень интактных животных имела обычное гистологическое строение. В гистологических препаратах печени в группе контроля паренхима железы состоит из печеночных долек, разделенных небольшими прослойками соединительной ткани. Каждая печеночная долька состоит из печеночных пластинок (балок), печеночных триад (междольковая артерия, междольковая вена и желчный проток), синусоидных капилляров и центральной вены. Печеночные пластинки представлены двумя слоями гепатоцитов, между которыми находится желчный капилляр. Гепатоциты имеют полигональную форму с центрально расположенным ядром и неоднородной окраской цитоплазмы. Структура хроматина в ядре сетчатая, мелкодисперсная. Ядерная мембрана сохранена и имеет четкие контуры. Цитоплазма гепатоцитов однородно окрашена с мелкой, пылевидной зернистостью. Триады печени располагаются по периферии печеночной дольки и представлены междольковой артерией, веной и междольковым желчным протоком. Желчные протоки содержат большое количество желто-коричневой жидкости – желчи. Желчь определяется также и в желчных капиллярах. В некоторых триадах имеются небольшие участки с умеренным периваскулярным фиброзом.

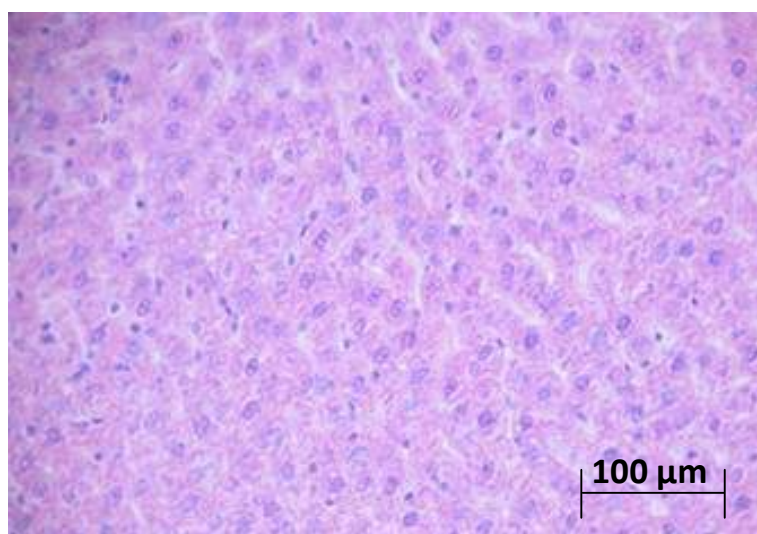


Рисунок 14 – Печень крысы. Обычное гистологическое строение печеночных долек. Окр. гематоксилином-эозином.

В междольковых венах среди эритроцитов выявляются единичные нейтрофилы, лимфоциты и моноциты. Между эндотелиоцитами выявляются звездчатые макрофаги (Купферовы клетки печени). Между гепатоцитами располагались небольшие скопления мелких клеток с пикнотичным ядром (клетки Pit-системы – лимфоциты) (рисунок 14).

### 3.5. Морфологическое строение селезенки интактных животных

Селезенка интактных животных имела обычное гистологическое строение. В препарате определяется паренхима и строма органа. Строма представлена ретикулярной тканью, в которой идентифицировались ретикулярные клетки и ретикулярные волокна. В паренхиме органа можно идентифицировать красную и белую пульпу. Белая пульпа представлена лимфатическими фолликулами. В каждом узелке определялся центр размножения и периферическая часть. Центр размножения представлен лимфобластами и пролимфоцитами. В периферической части определялись зрелые малые лимфоциты. Любой лимфатический фолликул селезенки содержал центральную артерию, локализованную, как правило, эксцентрично.

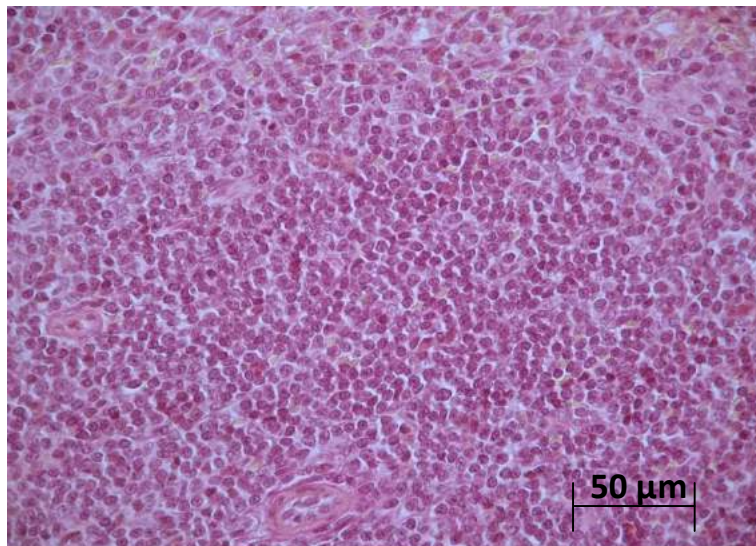


Рисунок 15 – Селезенка интактного кролика. Окр. гематоксилином-эозином. Красная пульпа в основном представлена ретикулярной тканью с большим количеством макрофагов, а также разрушенных эритроцитов (рисунок 15, 16).

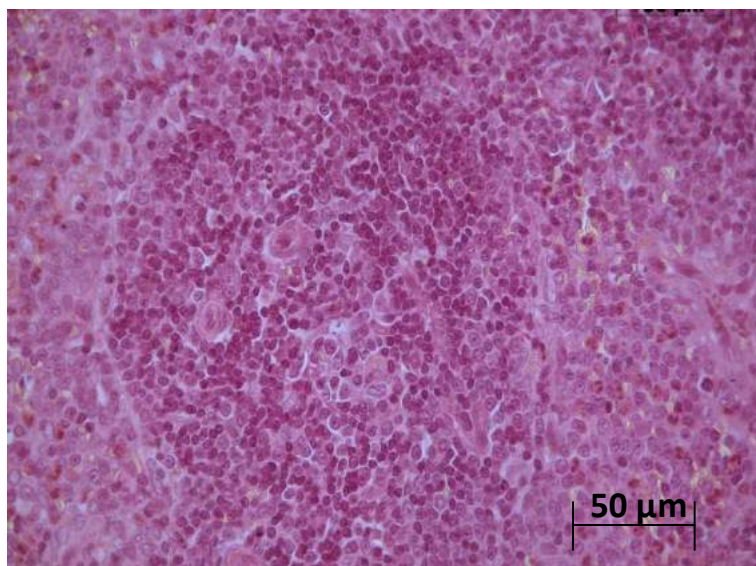


Рисунок 16 – Селезенка интактного кролика. Окр. пикрофуксином по Ван - Гизону.

### 3.6. Магнитно-резонансная томография печени интактных крыс

Динамическая МРТ с контрастированием (рисунок 17). В роли гепатотропного контраста мы применяли препарат «Примовист» в дозе 0,025 ммоль/кг веса. Затем в течение 45-55 минут производили МРТ исследование. После на полученных изображениях в определённые минуты определяли интенсивность контрастирования печени. Для количественной оценки контрастирующего эффекта использовался коэффициент контраст-шум (Contrast to Noise Ratio, CNR), рассчитываемый как отношение разницы интенсивности области интереса  $S_p$  и области мышечной ткани  $S_m$ , отнесенной к дисперсии от шума, т.е. дисперсии от воздуха  $D_{возд}$ :  $CNR = (S_p - S_m) / D_{возд}$ . На основании полученных данных строили график зависимости коэффициента контраст-шум (CNR) от времени. Кроме того, оценивались такие показатели как время достижения максимального значения CNR –  $t_{\text{макс}}$  и само достигаемое значение  $CNR_{\text{макс}}$ .



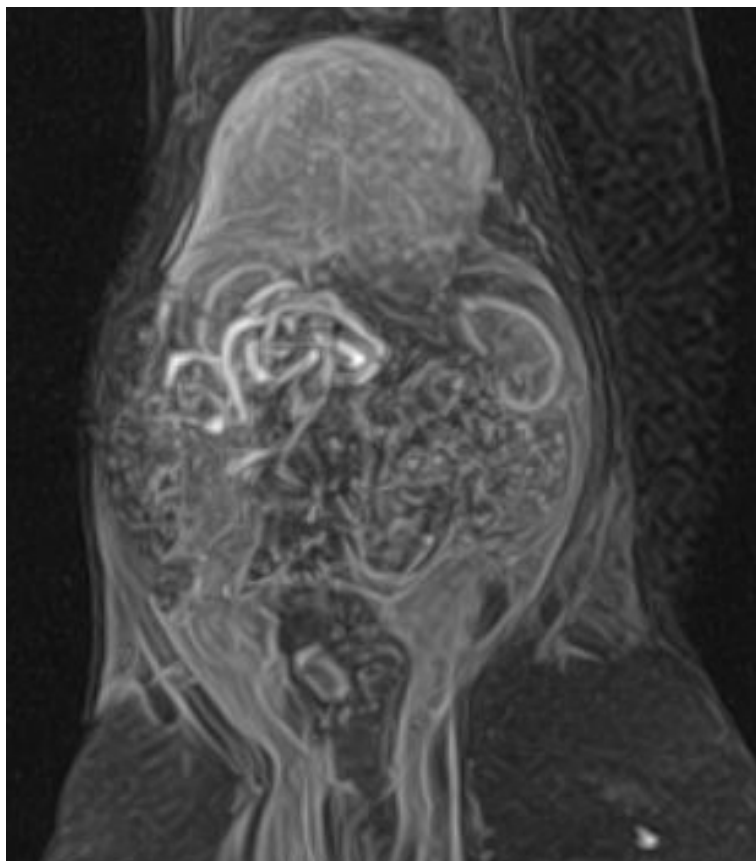


Рисунок 17 – Фрагмент МРТ с препаратом «Примовист». Реформация проекций максимальных интенсивностей FIE3D накопления препарата «Примовист» на 12 мин в группе контроля.

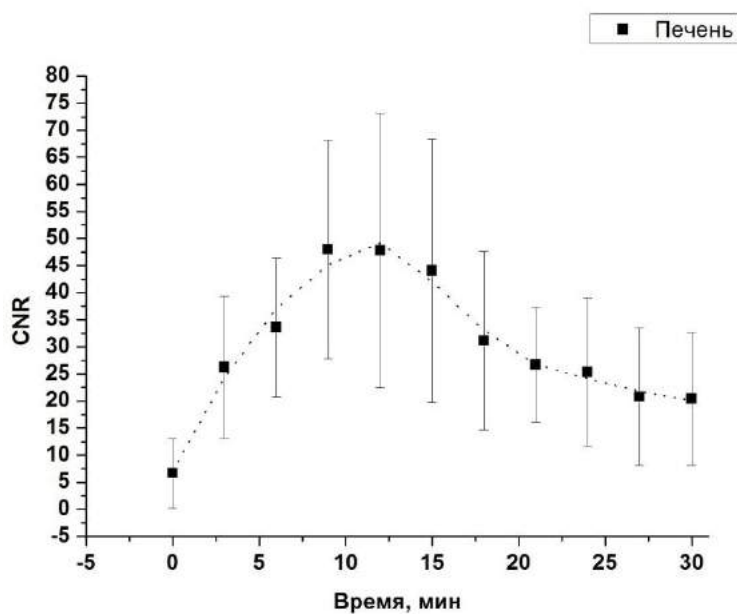


Рисунок 18 – График зависимости коэффициента CNR от времени при динамическом МРТ intactных крыс с использованием в качестве контрастного препарата «Примовист» в группе контроля.

На фрагменте МРТ, в котором показана 12 минута от начала введения контраста (рисунок 17, 18, таблица 7), где CNR – 12 составляет 47,1 [22,0; 48,8]. Четко визуализируется выраженное накопление препарата «Примовист» в области печени и частичный выход контраста в тонкий кишечник (рисунок 17). Контрастный эффект от области почек менее выражен и едва определяется контрастное усиление полости мочевого пузыря.

### 3.7. Магнитно-резонансная томография селезенки интактных кроликов

При оценке результатов контрастной МРА сосудов в каждом случае была получена трехфазная ангиограмма высокого качества, помимо аорты и ее ветвей удовлетворительно визуализировалась селезеночная артерия в артериальную фазу и паренхима селезенки в венозную фазу (рисунок 19, 20).

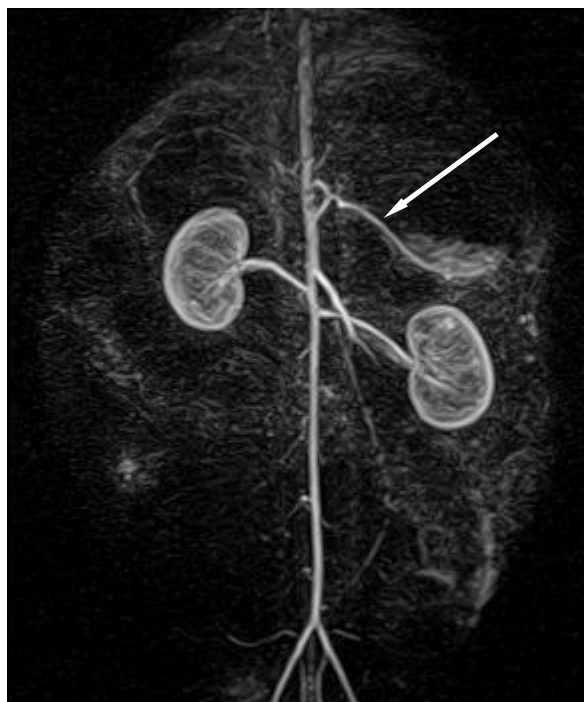


Рисунок 19 – Контрастная МР-ангиограмма сосудов брюшной полости кролика с препаратом «Магневист» в группе контроля. Артериальная фаза. Стрелкой указана селезеночная артерия.



Рисунок 20 – Контрастная МР-ангиограмма сосудов брюшной полости кролика с препаратом «Магневист» в группе контроля. Венозная фаза. Стрелкой указана селезеночная вена.

Коэффициенты усиления интенсивности селезёнки при динамическом контрастном МР-исследовании с внутривенным болюсным введением препарата «Магневист» у кроликов группы контроля в артериальную фазу 56,58 [44,66; 189,91], в венозную фазу 21,14 [14,49;234,69].

### 3.8. Гемостазиологические особенности свойств крови здоровых доноров после обработки «неравновесной плазмой»

Как видно из представленных данных, статистически значимых изменений между группами без выдержки на воздухе и после выдержки на воздухе в течение 90 сек не выявлено (таблица 4). Напротив, после 90 сек воздействия плазмой выявлено статистически значимое усиление этапа пропагации фибриногенеза: КТА увеличена на 59%, ИКД на 66% на фоне 55% сокращения времени наступления «точки желирования» ( $p < 0,05$ ). Хронометрическая гиперкоагуляция

(сокращение T5 на 64%,  $p < 0,05$ ) сопровождается, хоть и в меньшей степени, снижением плотности сгустка (МА уменьшена на 9%,  $p < 0,05$ ), т.е. умеренной структурной гипокоагуляцией (таблица 4, рисунок 21).

Таблица 4

Основные показатели низкочастотной пьезотромбоэластограммы цельной крови здоровых доноров до и после обработки «неравновесной плазмой»,  
(Me [LQ; UQ])

Показатель	Без выдержки на воздухе (n = 18)	После выдержки 90 сек (n = 18)	После 90 сек воздействия «неравновесной» плазмой (n = 18)
A1	78 [65; 169]	264 [41; 311]	190 [53; 254]
T1	1,05 [0,9; 1,55]	0,95 [0,9; 1,3]	1,2 [0,7; 1,4]
ИКК	22,37 [8; 38,89]	40,47 [26,8; 52,22]	46,11 [43,08; 60]
A2	178 [166,5; 268]	362,5 [141; 413]	292,5 [160; 357]
T2	5,05 [4,05; 6,4]	4,65 [3; 4,9]	2,9 [2,2; 3,2]
КТА	27,4 [21,71; 33,12]	35,12 [25,64; 45,45]*	59,65 [50; 76,92]
A3	500,5 [452,5; 568,5]	572 [465; 640]	500,5 [404; 523]
T3	9,95 [7,95; 14,3]	8,35 [7,4; 8,8] *	4,6 [3,9; 5,7]
ИКД	37,63 [28,48; 49,09]	39,98 [34,76; 55,7]*	60,57 [57,75; 86,88]
A4	630 [614,5; 680]	742,5 [629; 788]	658,5 [566; 677]
T4	19,95 [17,95; 24,3]	18,35 [17,4; 18,8]*	14,6 [13,9; 15,7]
ИПС	14,4 [9,95; 17,4]	16,15 [14,8; 17,9]	16,2 [15,4; 16,4]
A5	668 [639; 713]	787 [693; 834]	680,5 [575; 726]
T5	34,25 [29,15; 35,05]	37,35 [28,7; 42,9]*	23,7 [22,3; 25,6]
МА	563,5 [515; 603]	540 [523; 652]*	502,5 [483; 522]
ИТС	17,07 [15,41; 19,1]	16,85 [12,9; 18,74]	20,78 [18,83; 21,76]
A6	660 [608,5; 707,5]	781 [696; 827]	671,5 [577; 705]
T6	44,25 [39,15; 40,05]	47,35 [38,7; 52,9]*	33,7 [32,3; 35,6]
ИРЛС	1,18 [0,6; 1,65]	-0,04 [-0,46; 1,34]	2 [0; 3,93]

Примечание: ^ -  $p < 0,05$  - статистически значимые различия между группами без выдержки на воздухе и после выдержки на воздухе в течение 90 сек; \* -  $p < 0,05$  - статистически значимые различия между группами после выдержки на воздухе в течение 90 сек и после 90 сек воздействия «неравновесной плазмой».

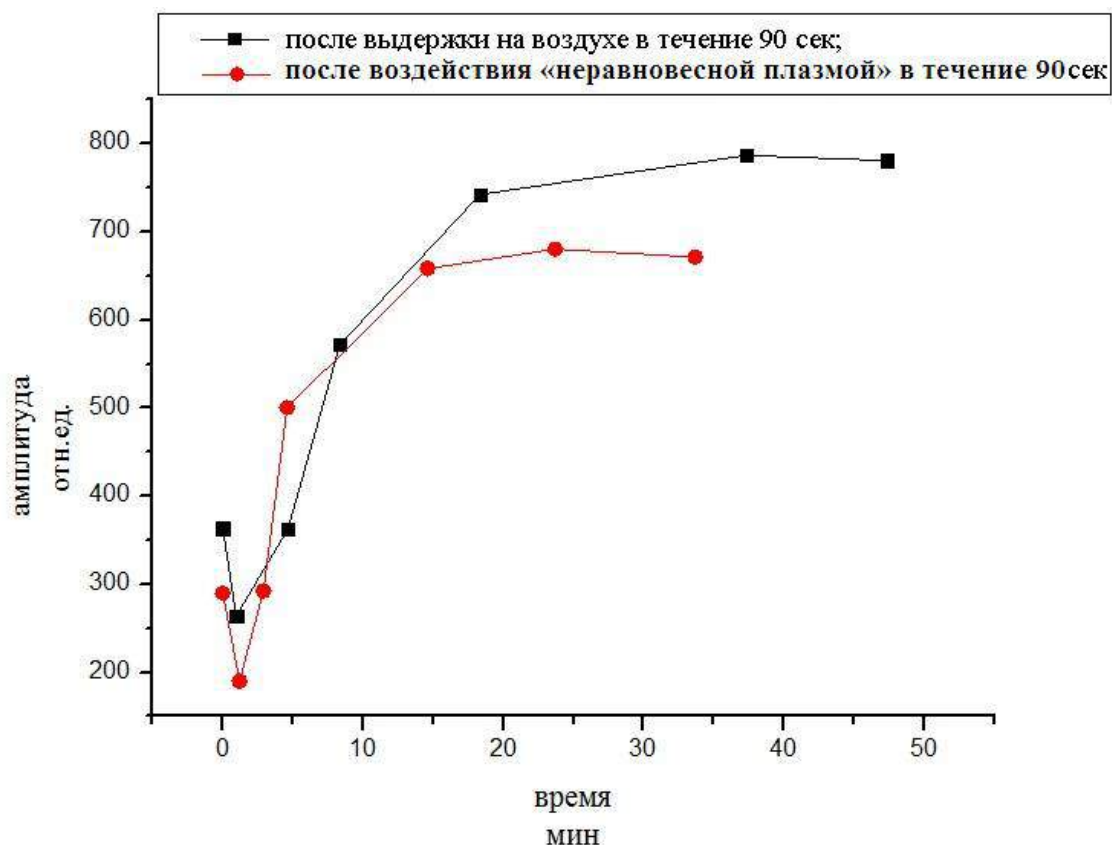


Рисунок 21 – Интегральные показатели низкочастотной пьезотромбоэластографии цельной крови здоровых доноров до и после обработки «неравновесной плазмой».

Воздействие «неравновесной плазмой» на исследуемые образцы крови характеризуется разнонаправленностью действия на скорость латеральной сборки и плотность образования поперечно сшитого фибрина, индуктором которых выступает тромбин.

Ускорение образования сгустка происходит на 65%, однако на 7% уменьшается его прочность, позволяя констатировать достаточно мощный коагулирующий эффект «неравновесной плазмы». «Прочность» тромба в данном случае не играет основной роли, поскольку цель практического применения «неравновесной плазмы» – остановка паренхиматозного кровотечения, где достаточно ускорить образование, пусть и неполноценных, тромбов. Возможно, что *in vivo* прочность тромба будет выше, так как в условиях *in vitro* исключается влияние неравновесной плазмы на эндотелий, который активно участвует в свертывании крови.

### 3.9. Показатели интраоперационного объема кровопотери у экспериментальных животных при различных видах коагуляции во время резекции печени и селезенки

Одним из критериев оценки травматичности методов остановки интраоперационного кровотечения является определение количества потерянной крови в ходе оперативного вмешательства.

При определении интраоперационного объема кровопотери в группе с гемостатическим швом после резекции печени у крыс показатель составил 3,45 [3,31;6,46] мл.

В группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» после резекции печени у крыс показатель объема кровопотери составил 1,15 [1,10;2,15] мл. При сравнении данных обеих групп выявлено, что при коагуляции «ИХП-1» объем кровопотери достоверно ( $p = 0,049$ ) ниже в 3 раза.

После резекции селезенки у кроликов с коагуляцией «неравновесной плазмой» объем кровопотери составил 16,60 [15,98;17,22] мл.

### 3.10. Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии в группе со швами печени по Оппелю

У животных данной экспериментальной группы в динамике послеоперационного периода отмечали незначительные изменения биохимических показателей крови и маркеров гемокоагулографии. При анализе независимых данных с использованием критерия Крускала-Уоллиса было выявлено, что содержание общего билирубина, показатели АЧТВ, протромбинового времени и МНО не имели статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ) во всех контрольных точках (таблица 5). К 3-м сут выявлено снижение ( $p = 0,014$ ) содержания мочевины на 22,5%, возрастание количества единиц тимоловой пробы ( $p = 0,012$ ) на 133% с пиковым увеличением показателя к 7-м сут на 154% при ( $p = 0,008$ ) и концентрации фибриногена ( $p = 0,014$ ) на 63,2% по

отношению к показателям контроля. Также отмечается повышение концентрации глюкозы крови на 96% ( $p = 0,009$ ), активности АЛТ на 94,2% при ( $p = 0,028$ ), активности АСТ на 200% ( $p = 0,012$ ) и прямого билирубина в 7 раз достоверно выше показателей контрольных значений при ( $p = 0,005$ ). На 5-е сут выявлено достоверное снижение ( $p = 0,042$ ) активности  $\alpha$ -амилазы крови на 12,5%, однако, в дальнейшем этот показатель возрастал к 7-м сут на 45,9% ( $p = 0,014$ ) превышал показатели контрольной группы, а к 14-м сут достигал максимального повышения ( $p = 0,014$ ), в сравнении с показателями контроля (таблица 5). Дополнительно на 5-е сут отмечалось снижение концентрации глюкозы крови (7,8[7,8;10,0] при  $p = 0,008$ ), а также показателей прямого билирубина до 5[2,2;6,2] при  $p = 0,001$  и активности АЛТ до (132,0[122,0;155,0] при  $p = 0,002$ ), АСТ – 107,0[50,0;176,0] ( $p = 0,0019$ ). Начиная с 14-х сут все изученные показатели восстанавливались до контрольных значений, за исключением концентрация мочевины крови, которая достоверно ( $p = 0,014$ ) возрастала на 49,2% по отношению к контрольным значениям. На 30-е сут активность  $\alpha$ -амилазы крови несколько снижена ( $p = 0,008$ ) и составила 4596 [4369; 4606] Ед/л. Активность щелочной фосфатазы имела схожую динамику: статистически значимо возрастала ( $p = 0,027$ ) с 5-х сут на 47%, к 7-м сут достоверно ( $p = 0,027$ ) сохранялась повышенной на 67,7% по сравнению с контрольными значениями, а к 14-м сут достоверно ( $p = 0,014$ ) возрастала и достигала максимальных значений, на 52,2% превышая показатели контроля. На 5-е сут концентрация фибриногена и количество единиц тимоловой пробы увеличивались – на 63,2 и 154,%, соответственно ( $p = 0,009$ ), а к 7-м сут сохранялись несколько повышенными по сравнению с контролем (на 44 и 126,3 %%, соответственно). Содержание общего белка снижалось на 2,9% к 30-м сут по отношению к контрольным значениям ( $p = 0,08$ ).

В отдаленные сроки на 90-е и 180-е сут при анализе полученных биохимических показателей крови экспериментальных животных было отмечено, что: согласно тесту Крускала–Уоллиса, во всех группах и по всем показателям статистически значимых различий выявлено не было (таблица 5).

Таблица 5

Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии после резекции печени у крыс с последующей остановкой кровотечения швами по Оппелю, (Me[Q<sub>0,25</sub>Q<sub>0,75</sub>])

Показатели	Показатели группы контроля	Сутки						
		3-и	5-е	7-е	14-е	30-е	90-е	180-е
Глюкоза (ммоль/л)	5,1[4,7;5,3]	10,0*[8,65;11,0]	7,8*[7,7;10,0]	5,5 [7,6;9,85]	4,75 [4,00;5,70]	4,1 [4,0;5,3]	5,10 [4,10; 5,80]	5,10 [4,50;5,5]
АЛТ (Ед/л)	69[48;80]	134*[85;167,5]	132*[122;155]	87*[59,5;116,5]	66,5 [47;75,5]	74 [61;80]	60 [50;75]	62 [55;70]
АСТ (Ед/л)	61[51;65]	183*[161;201,5]	107*[50; 176]	88*[80;98]	63,5[60,5;70,0]	62[50;68]	63[51;75]	67[50;79]
Тимоловая проба, (усл. ед.)	1,33 [1,33;1,56]	3,1*[2,9;3,875]	3,39*[3,12;3,55]	3,01*[2,41;3,63]	2,09*[1,90;2,59]	1,27[1,12;1,3]	1,33[1,11; 1,56]	1,11[0,60; 1,11]
Билирубин общ. (мкмоль/мл)	8,0[7,90;8,5]	10,5[8,5;12,5]	10[9,1; 15]	8,65[8,6; 8,85]	8,85[8,3; 9,25]	8,8[8,5; 9]	7,90[7,80; 8,0]	8,00[7,90; 8,20]
Билирубин пр. (мкмоль/мл)	0	7*[5;10]	5,5*[2,2;6,2]	0	0	0	0	0
$\alpha$ -амилаза (Ед/л)	2645 [2500;2756]	2605,0 [2313,5;3217,5]	2343* [2051;2363]	3860,5* [3737;3999,5]	5245,5* [4934,5;5671,0]	4596* [4369;4606]	2721 [2621;2895]	2567 [2342;2796]
ЩФ (Ед/л)	287 [209;302]	336 [292; 393]	422*[418; 462]	481,5*[384,5;562,5]	437*[399; 475]	346 [333; 351]	360,00 [330,00; 410,00]	360,00 [220,00; 385,00]
Общ белок (г/л)	71,0 [69,0;72,0]	51 [50; 52,5]	55 [54;55]	52,9 [52,05;54,3]	56,65 [54,45;58,35]	69*[65; 79]	71,80 [66,80;82,60]	72,20 [57,80; 72,70]
Мочевина (ммоль/л)	6,3[5,8;7,4]	4,95*[4,55;5,1]	4,9[4,6;6,2]	5,8[4,85;6,35]	9,4*[8,9;9,5]	5,3[4,7; 5,4]	6,5[6,0;7,2]	6,4[5,9;7]
Фибриноген (г/л)	2,45 [2,25;2,5]	3,88*[3,63;4,05]	4*[3,75;4,1]	3,53*[3,15;3,93]	2,45 [2,33;2,75]	2,1 [2; 2,2]	2,4 [2,25;2,65]	2,3 [2,2;2,5]
АЧТВ (сек)	20 [17;20]	21 [20;24]	20 [18;21]	19 [17;21]	20 [19;22]	20 [19; 21]	18 [17;19]	20 [18;21]
Протромбиновое время (сек)	10 [10;10]	8,8 [8,3;9,5]	9 [9;10]	8,5 [7,5;9]	11 [9,5;12,5]	11 [10; 11]	9 [8;10]	10 [9;10]
МНО	0,9 [0,9;0,9]	0,9 [0,9;0,9]	0,9 [0,9;1]	0,9 [0,9;0,95]	0,9 [0,9;0,95]	0,9 [0,9;0,9]	0,9 [0,9;1]	0,9 [0,9;1]

\* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;



3.11. Тканевые особенности печени экспериментальных животных  
в после резекции печени с последующей остановкой кровотечения швами по  
Оппелю

В препаратах печени на 3-и сут после резекции и наложения гемостатических швов по Оппелю определялись морфологические признаки воспаления, дистрофические и некротические процессы. В паренхиме печени выявлялись признаки острого воспаления с диффузным полиморфноклеточным инфильтратом с преобладанием сегментоядерных нейтрофилов (рисунок 22).

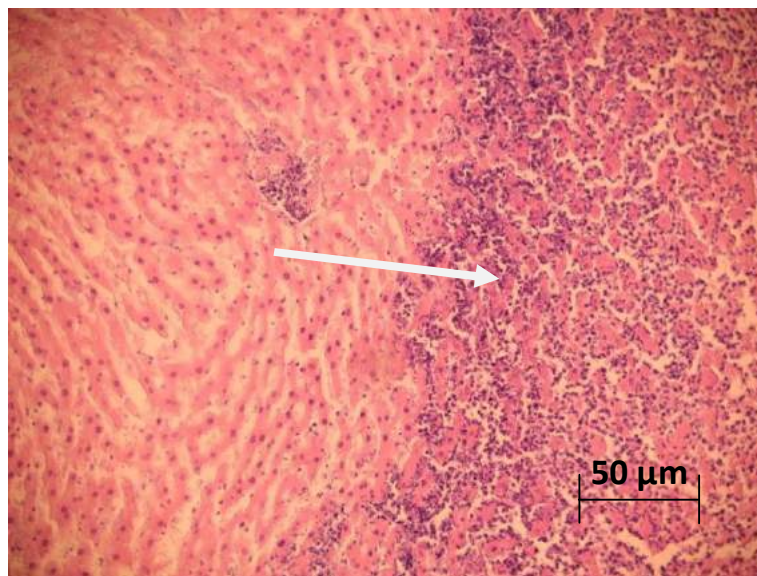


Рисунок 22 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Расширение синусоидных капилляров и диффузный полиморфноклеточный инфильтрат (указан стрелкой) в печеночной дольке. Окр. гематоксилином-эозином.

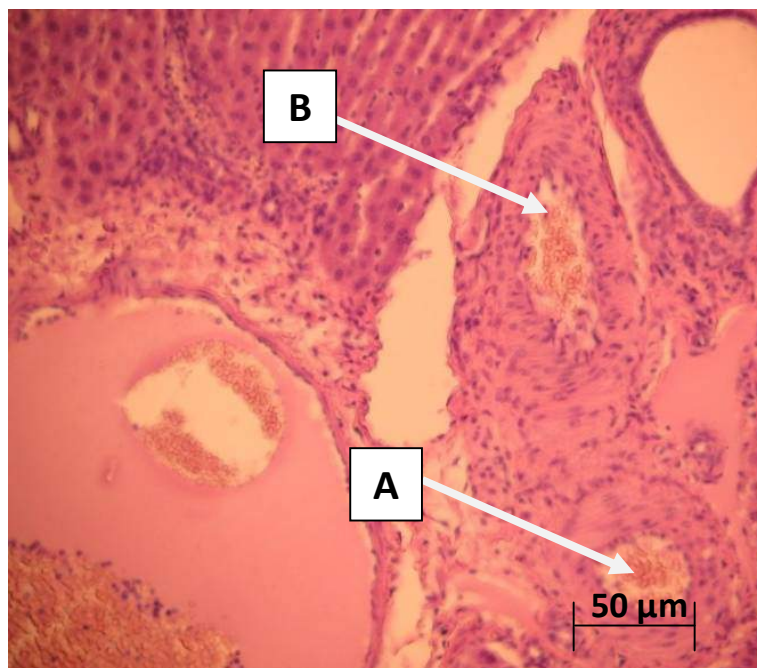


Рисунок 23 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Расширение междольковых артерий (указаны стрелкой), вен (указаны стрелкой) и желчного протока. Периваскулярный отек. Морфологические признаки плазмостаза. А – артерия, В – вена. Окр. гематоксилином-эозином.

Гемодинамические нарушения сопровождались расширением центральной вены, междольковых артерий и вен. В последних нами выявлялись морфологические признаки плазмостаза (в венах определялась бледно-розовая жидкость) и лейкостаза (рисунок 23, 24).

В некоторых участках определялся умеренный, периваскулярный фиброз с небольшим количеством коллагеновых волокон (рисунок 25).

Нередко краевое стояние лейкоцитов в междольковых венах сочеталось с периваскулярным и внутриклеточным отеком с набуханием эндотелиоцитов, уменьшением просвета сосуда с реологическими изменениями в виде стаза, сладжа и тромбоза (рисунок 26).

Синусоидные капилляры расширенные и полнокровные, вокруг них определялись небольшие диапедезные геморрагии и мелкоочаговые кровоизлияния (рисунок 27).

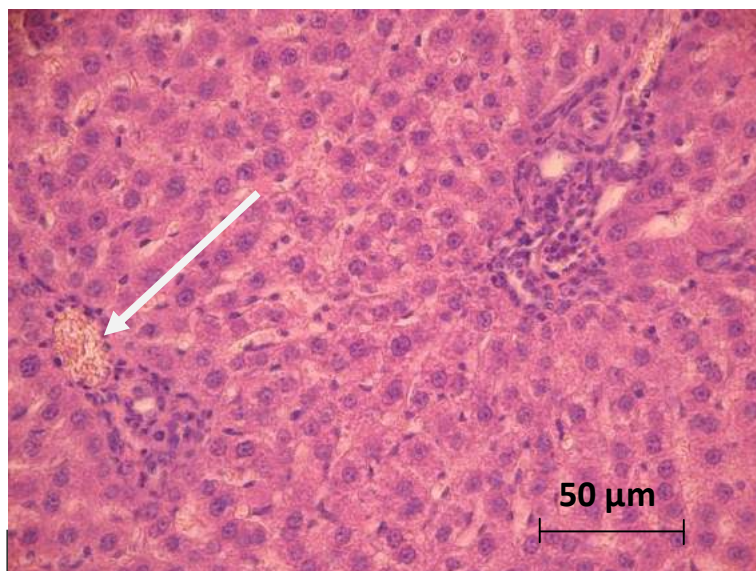


Рисунок 24 – Печень крысы на 3-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Умеренное расширение синусоидных капилляров. Междольковые вены (указана стрелкой) с морфологическими признаками лейкостаза, а также сладжа эритроцитов. Окр. гематоксилином-эозином.

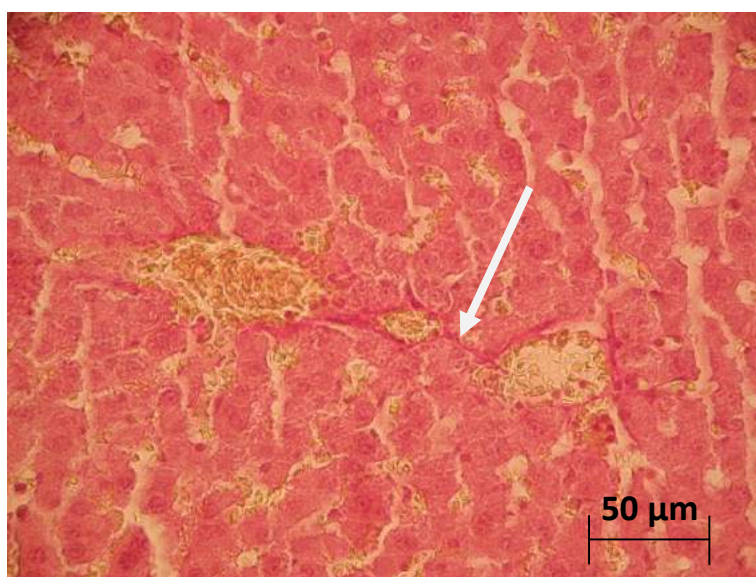


Рисунок 25 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Периваскулярная локализация небольших пучков коллагеновых волокон (указано стрелками). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.



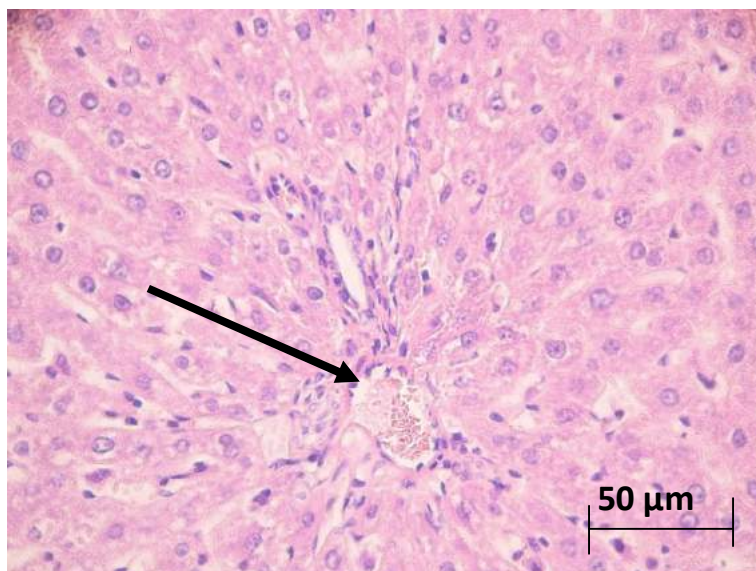


Рисунок 26 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Умеренный периваскулярный отек. Уменьшение просвета междольковой артерии. Стаз и сладж эритроцитов в междольковой вене (указано стрелкой). Окр. гематоксилином-эозином.

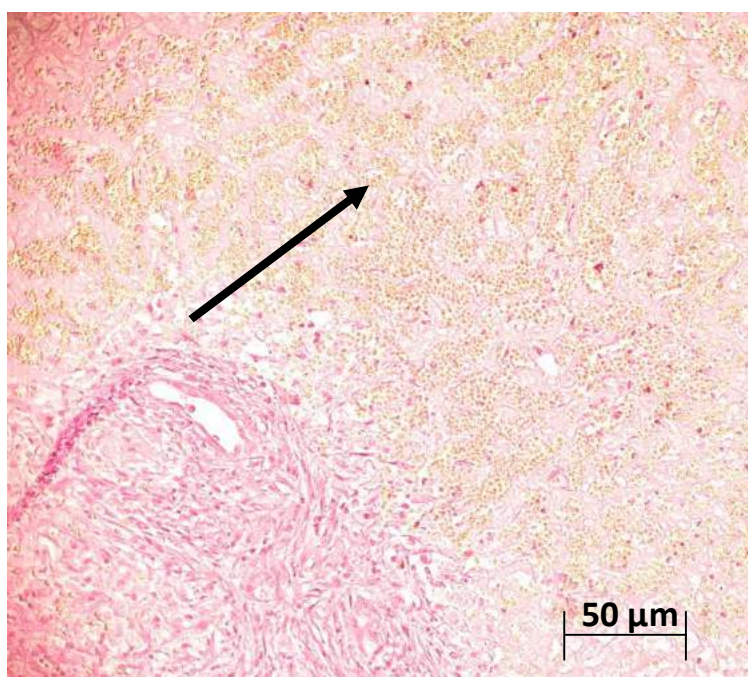


Рисунок 27 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Множественные диапедезные и мелкоочаговые кровоизлияния (указаны стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

Повсеместно определялся отек. Отечная жидкость локализовалась периваскулярно, а также между гепатоцитами сдавливала их.

Печеночные дольки нарушены, печеночные пластинки изменены. Гепатоциты были сформированы в виде неупорядоченных структур либо располагались вообще независимо друг от друга. Среди гепатоцитов определялись клетки полностью разрушенные, в некротическом и дистрофическом состоянии.

Дистрофические изменения цитоплазмы гепатоцитов проявлялись как в образовании мелких, бесцветных вакуолей, так и крупных базофильных гранул (рисунок 28).

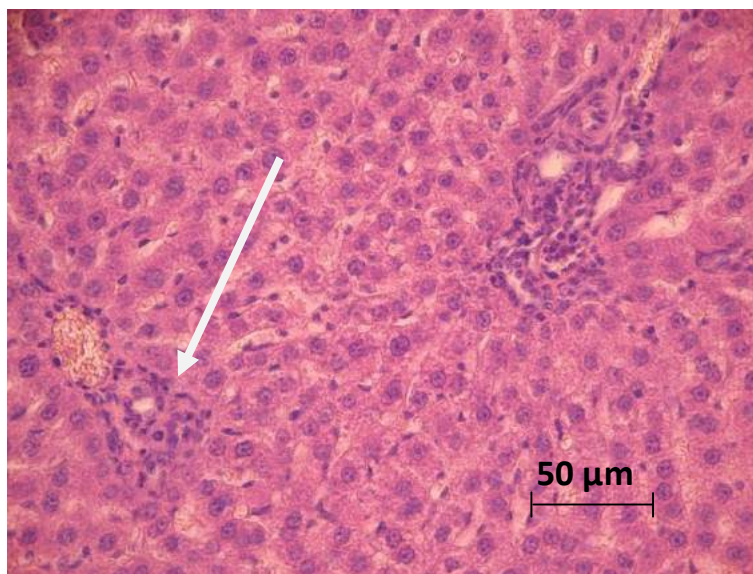


Рисунок 28 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Очаговые периваскулярные полиморфноклеточные инфильтраты (указано стрелкой). Окр. гематоксилином-эозином.

Дегенеративные изменения касались не только цитоплазмы, но и ядра. В этих структурах гепатоцитов отмечается неоднородная окраска хроматина, выявлялась его компактность и глыбчатость. Глыбки этого хроматина концентрировались вдоль ядерной мембраны и формировали плотные комплексы. В некоторых участках паренхимы гепатоцитов выявлялись очаги некроза. Данные клетки уменьшены в объеме, цитоплазма неоднородная, глыбчатая, ядро мелкое, компактное, плотное (рисунок 29).

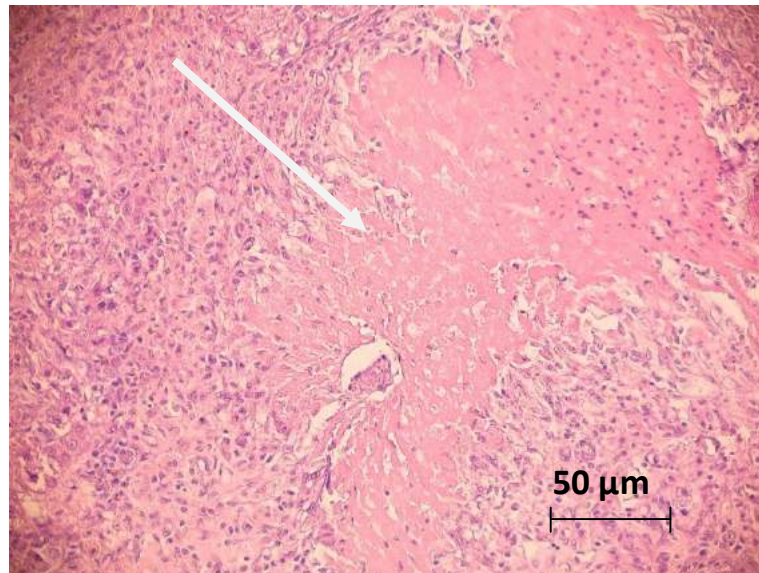


Рисунок 29 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Очаги некроза гепатоцитов (указаны стрелкой). Окр. гематоксилином-эозином.

На 5-е сут в гистологическом препарате паренхимы печени сохранялись сосудистые и воспалительные изменения. Во всех участках печени определялись диффузные полиморфноклеточные инфильтраты. В некоторых участках печеночной доли наблюдались нити шовного материала, которые ограничивались зоной перифокального воспаления, с сегментоядерными нейтрофилами между нитями (рисунок 30).

Воспалительные изменения сопровождалось расширением междольковой артерии и вены, а также признаками венозного полнокровия центральной вены (рисунок 31).



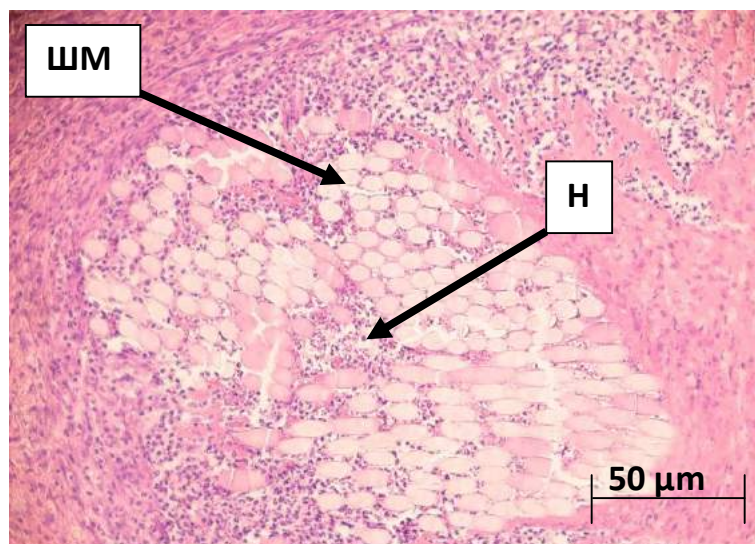


Рисунок 30 – Печень крысы на 5-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Разлитой полиморфноклеточный инфильтрат, окружающий участки шовного материала (указан стрелкой) с проникновением нейтрофилов. ШМ–шовный материал, Н – нейтрофилы. Окр. гематоксилином-эозином.

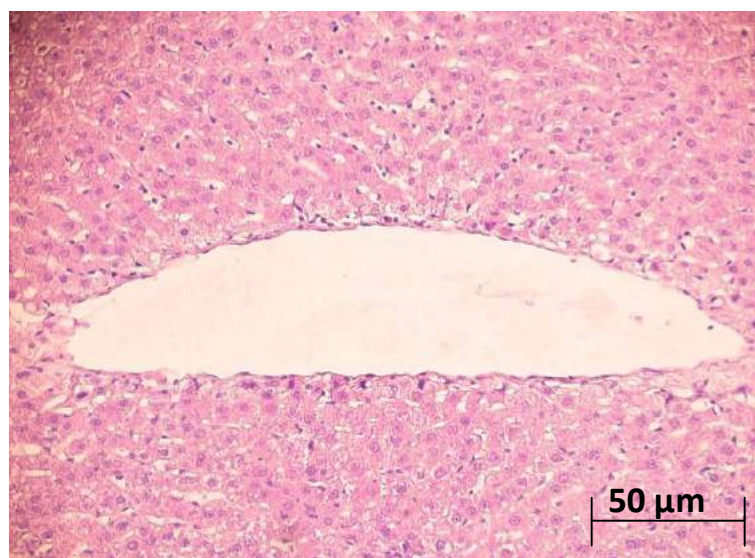


Рисунок 31 – Печень крысы на 5-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Расширение синусоидных капилляров и центральной вены в печеночной дольки. Дистрофические изменения гепатоцитов. Окр. гематоксилином-эозином.

Желчные протоки расширены, содержали большое количество желчи. Желчь определялась и в желчных капиллярах, что свидетельствует морфологическим признакам застоя желчи (рисунок 32).

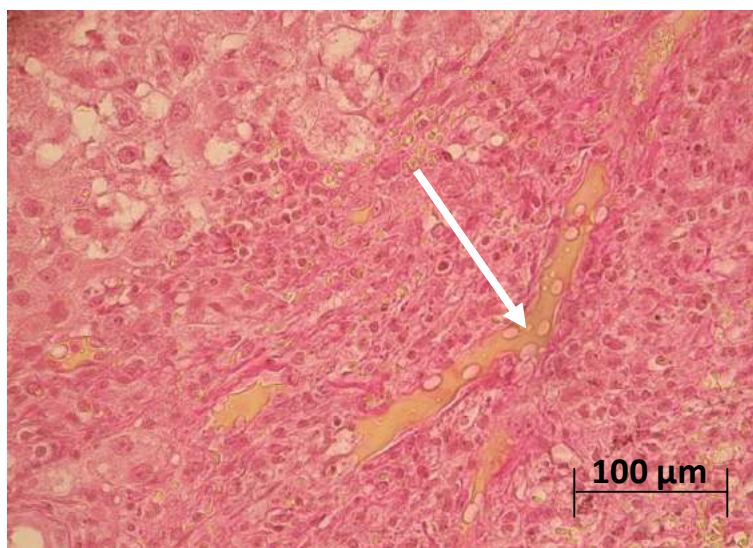


Рисунок 32 – Печень крысы на 5-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Дистрофические изменения в гепатоцитах. Расширение желчных капилляров с морфологическими признаками застоя желчи (указаны стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

Синусоидные капилляры печени расширенные и полнокровные (рисунок 33). Структура печеночных пластинок полностью разрушена. В гепатоцитах выявлялись признаки зернистой и гиалиново-капельной дистрофии, а также небольшие участки некроза печеночных клеток. Между структурами триады выявлялись очаговые мелкие скопления лимфоцитов (вероятно pit-клетки) (рисунок 34).

В некоторых триадах определялись небольшие участки с умеренным периваскулярным фиброзом (рисунок 35).



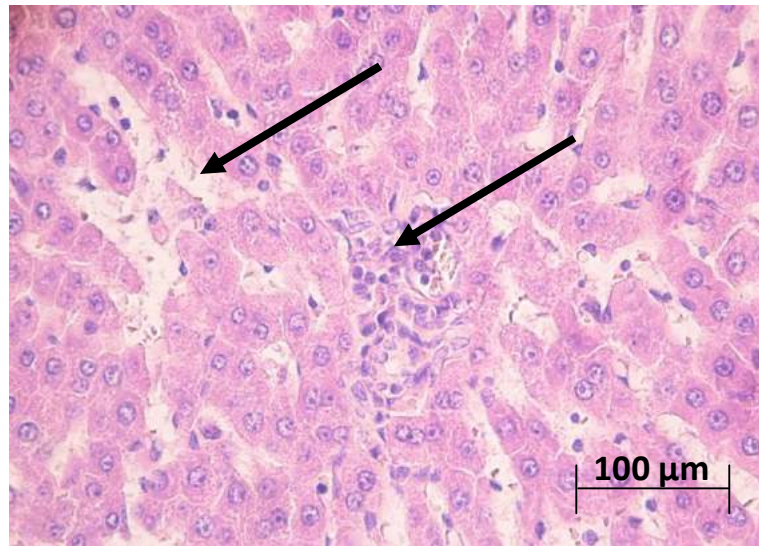


Рисунок 34 – Печень крысы на 5-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Расширение синусоидных капилляров (указано стрелкой). Pit – клетки. Небольшой очаговый периваскулярный лимфоцитарный инфильтрат. Окр. гематоксилином-эозином.

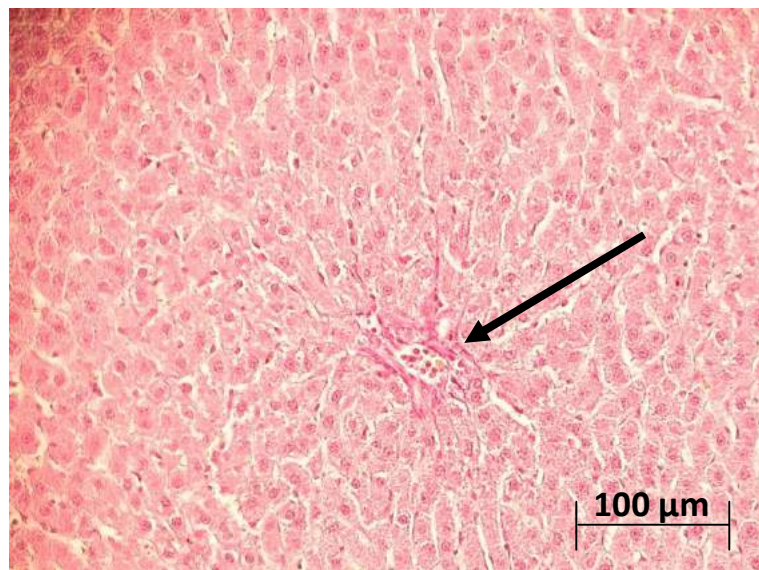


Рисунок 35 – Печень крысы на 5-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Расширение синусоидных капилляров. Небольшой периваскулярный фиброз (указан стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

К 7-м сут в паренхиме печени дифференцировали печеночную дольку с триадами. В некоторых участках отмечали небольшое расширение просвета междольковой артерии и вены с признаками стаза эритроцитов в последней (рисунок 34). Небольшое количество коллагеновых волокон располагалось вокруг

междольковой артерии, вены и желчного протока. Многие гепатоциты в печеночной паренхиме с признаками белковой и жировой дистрофии (рисунок 36). Отмечается крупный очаг некроза, вокруг которого дифференцировалась грануляционная ткань с большим количеством кровеносных сосудов (рисунок 37). Шовный материал ограничивался прослойками грануляционной ткани (рисунок 38).

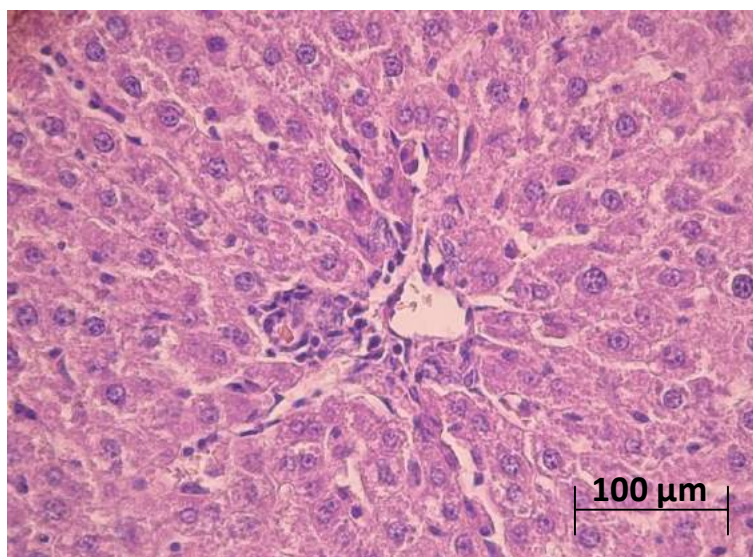


Рисунок 35 – Печень крысы на 7-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Небольшое расширение синусоидных капилляров. Незначительное увеличение просвета междольковой вены, стаз и тромбоз междольковой артерии. Окр. гематоксилином-эозином.

На 14-е сут сосудистые изменения слабо выражены и в основном касались незначительных расширений синусоидных капилляров печени и центральных вен, в некоторых определялся стаз эритроцитов (рисунок 39). Вокруг междольковой артерии, вены и желчного протока выявляли очаговый лимфоцитарный инфильтрат (рисунок 40). В некоторых триадах отмечали выраженный периваскулярный фиброз с окклюзией сосудов. Внутри шовного материала и вокруг нити прорастала соединительная ткань, коллагеновые волокна, которые формировали плотные пучки (рисунок 41). Гепатоциты сохраняли дистрофические изменения ядра и цитоплазмы.



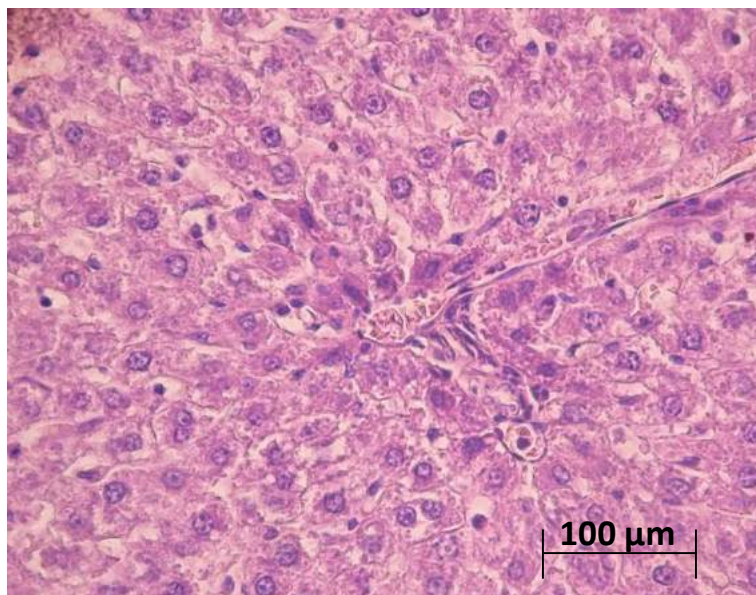


Рисунок 36 – Печень крысы на 7-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Небольшое расширение синусоидных капилляров и центральной вены. Печеночные клетки с признаками белковой и жировой дистрофии. Окр. гематоксилином-эозином.

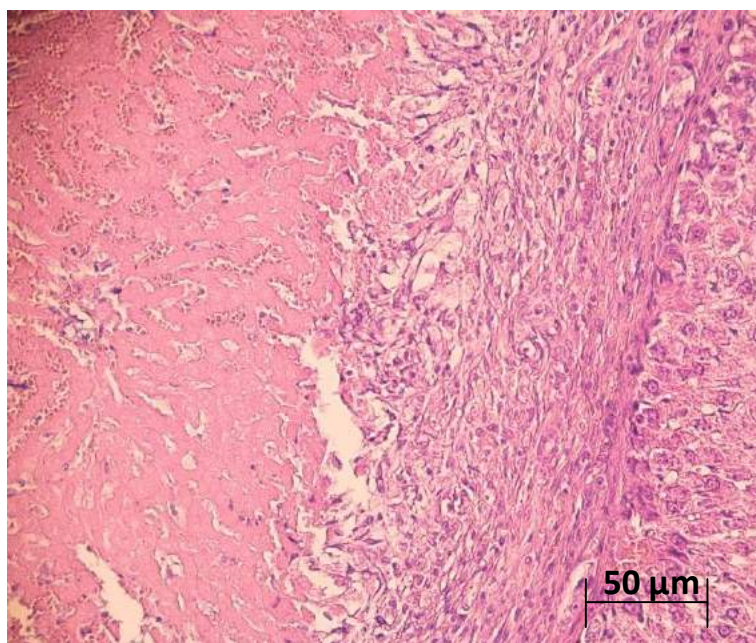


Рисунок 37 – Печень крысы на 7-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Грануляционная ткань с большим количеством кровеносных сосудов, ограничивающая зону некроза. Гепатоциты с признаками белковой дистрофии. Окр. гематоксилином-эозином.

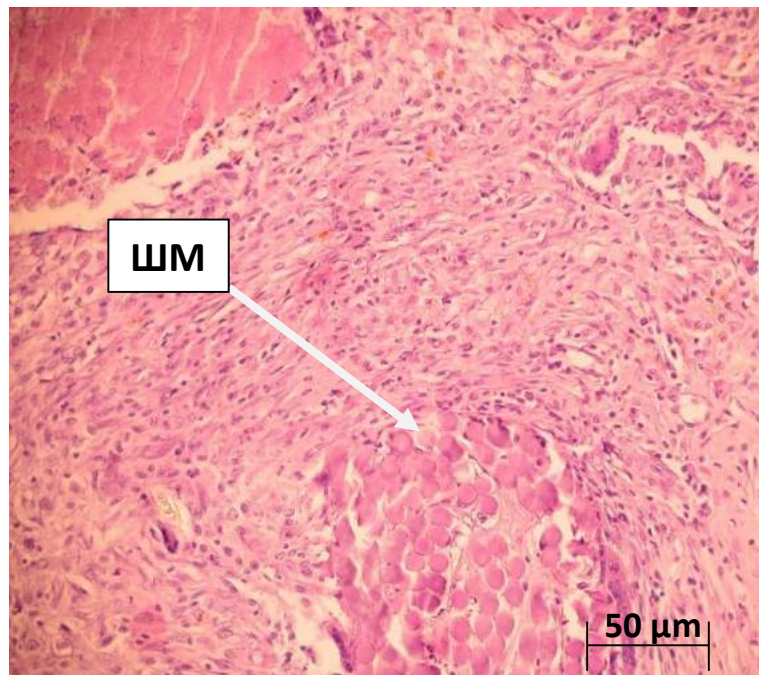


Рисунок 38 – Печень крысы на 7-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Отек и развитие грануляционной ткани вокруг шовного материала (указан стрелкой). ШМ – шовный материал. Окр. гематоксилином-эозином.

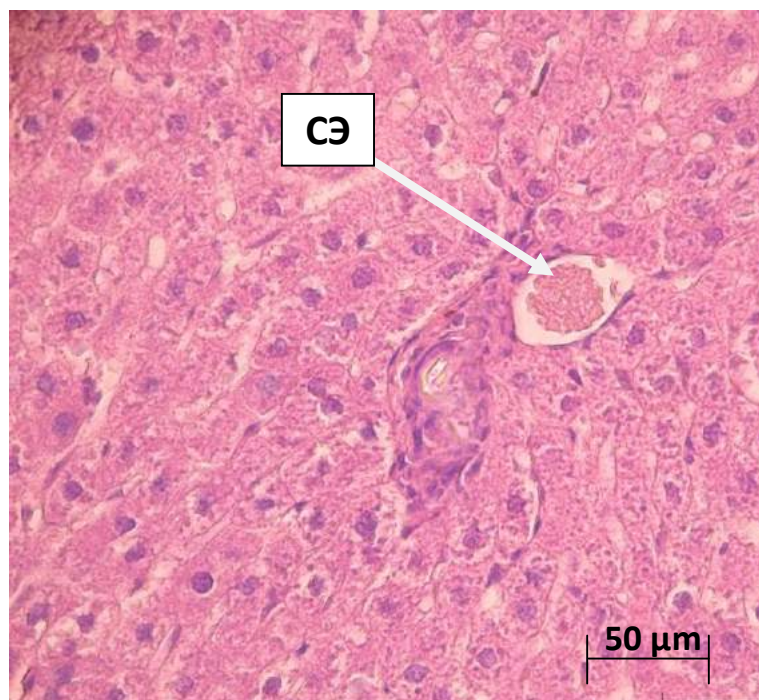


Рисунок 39– Печень крысы на 14-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Незначительное расширение синусоидных капилляров. Стаз эритроцитов в центральной вене (указано стрелкой). Дистрофические изменения в цитоплазме гепатоцитов. СЭ – стаз эритроцитов. Окр. гематоксилином-эозином.



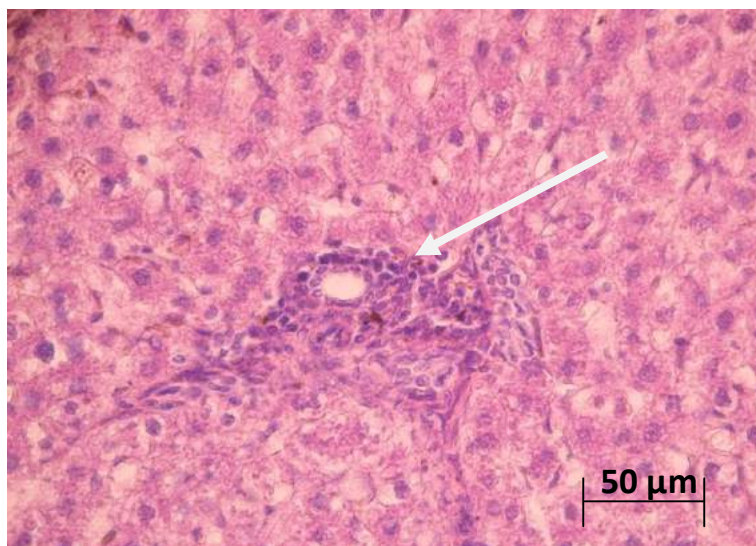


Рисунок 40 – Печень крысы на 14-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Очаговый лимфоцитарный инфильтрат (указан стрелками). Окр. гематоксилином-эозином.

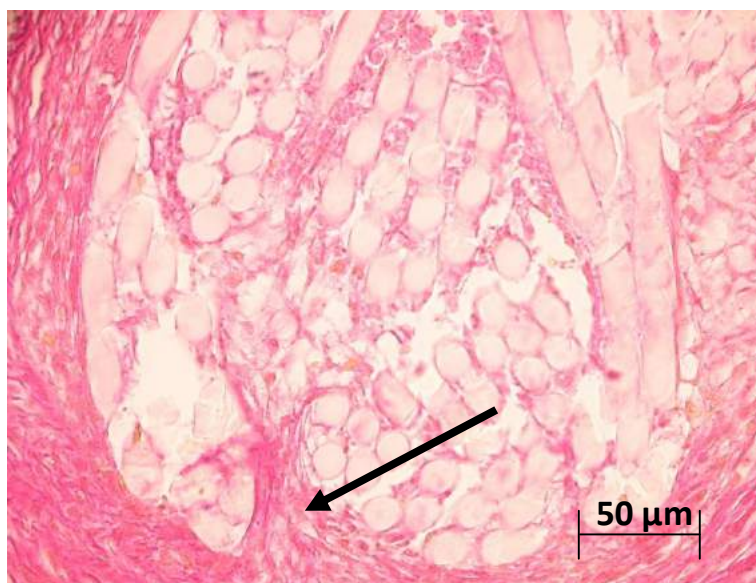


Рисунок 41 – Печень крысы на 14-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Пучки коллагеновых волокон, которые окружают шовный материал и внедряются между его нитями (указаны стрелками). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

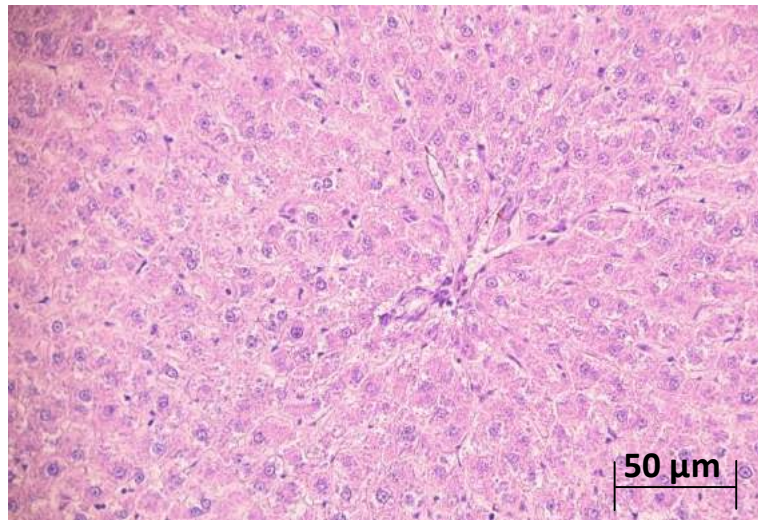


Рисунок 42 – Печень крысы на 30-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Незначительное расширение синусоидных капилляров. Единичные гепатоциты с признаками дистрофии. Окр. гематоксилином-эозином.

К 30-м сут отмечали восстановление структуры печени, лишь только изредка можно было визуализировать гепатоциты с дистрофическими изменениями (рисунок 42). В некоторых участках паренхимы печени синусоидные капилляры расширены. В большом количестве появлялись гепатоциты с признаками пролиферации и двухядерные клетки (рисунок 43).

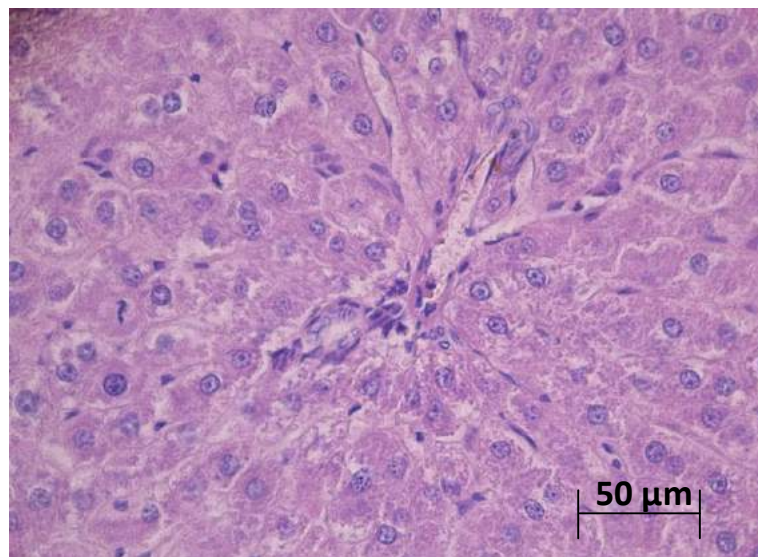


Рисунок 43 – Печень крысы на 30-е сут после остановки кровотечений швами по Оппелю. Единичные печеночные клетки с признаками пролиферации и двухядерные гепатоциты. Незначительное расширение синусоидных капилляров. Окр. гематоксилином-эозином.



В паренхиме печени идентифицировали небольшие прослойки соединительной ткани между шовным материалом (рисунок 44, 45).

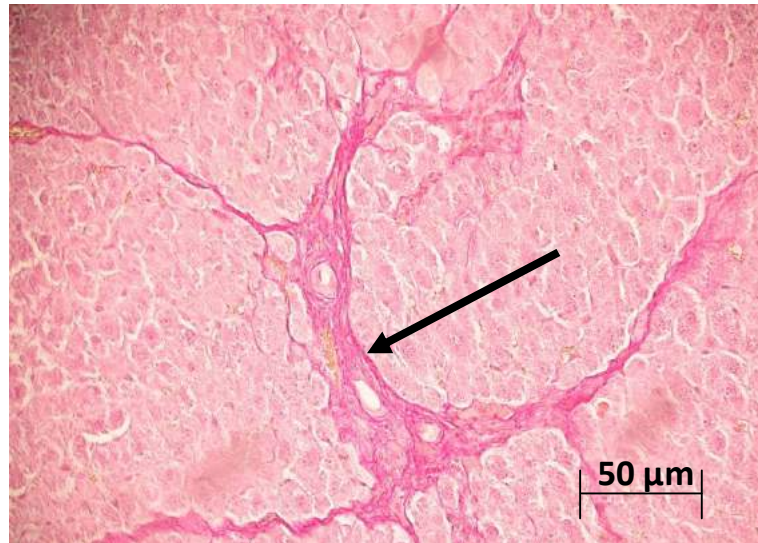


Рисунок 44 – Печень крысы на 30-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Небольшие прослойки соединительной ткани (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

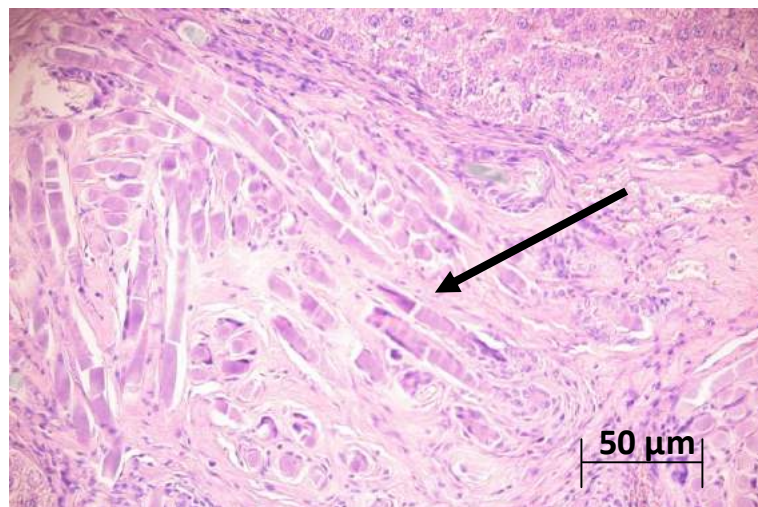


Рисунок 45– Печень крысы на 30-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Коллагеновые волокна, расположенные между остатками шва печени (указаны стрелкой). Окр. гематоксилином-эозином.

На 90-е сут в гистологических препаратах паренхима органа состояла из печеночных долек, разделенных небольшими прослойками соединительной ткани (рисунок 46, 47).

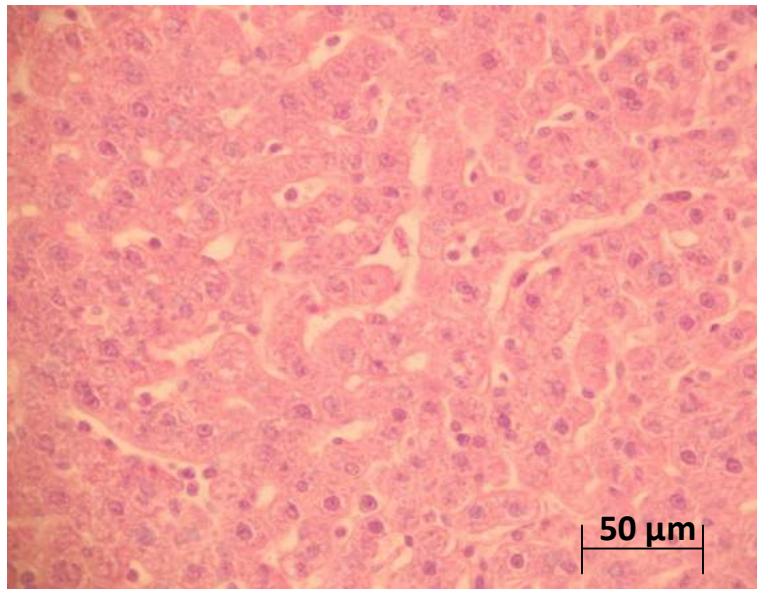


Рисунок 46 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

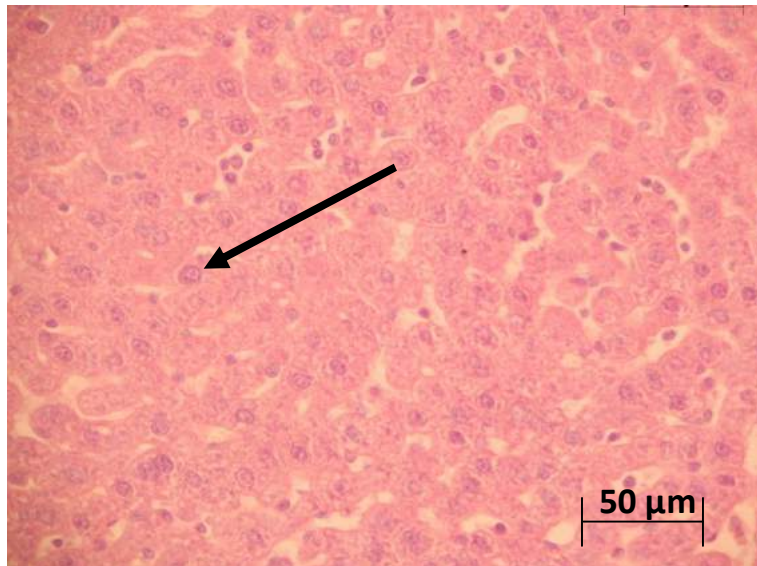


Рисунок 47 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Двухядерные гепатоциты (указаны стрелкой). Расширение капилляров. Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

Среди гепатоцитов определяли двухядерные клетки, а также клетки с признаками белковой дистрофии, крупные базофильные зерна и жировой дистрофии (бесцветные вакуоли). Синусодные капилляры состоят из одного слоя эндотелиоцитов на базальной мембране. Капилляры были расширенные, с признаками отека (рисунок 48, 49).



В некоторых сосудах определяли картину внутрисосудистого свертывания с отложением нитей фибрина и формирования тромбов (рисунок 50).

Также в отдельных участках паренхимы отмечали единичные круглоклеточные инфильтраты. Лимфогистиоцитарные инфильтраты нередко имели периваскулярную и перибилиарную локализацию (рисунок 51, 52).

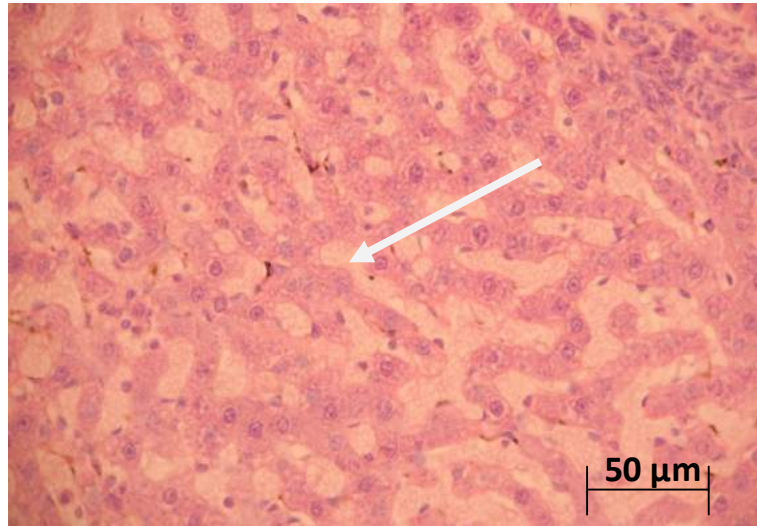


Рисунок 48 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Признаки отека (указаны стрелками). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

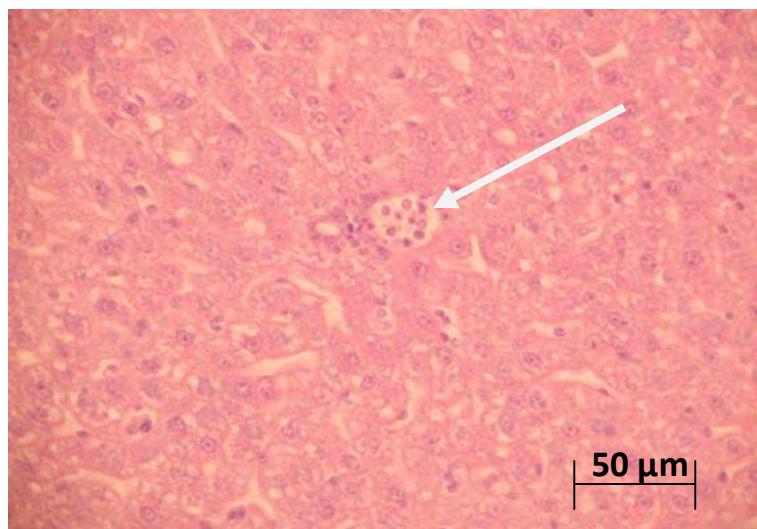


Рисунок 49 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Полнокровная вена печени (указаны стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

Во многих препаратах определяли признаки венозного полнокровия – выраженное расширение междольковых вен с признаками краевого стояния лейкоцитов

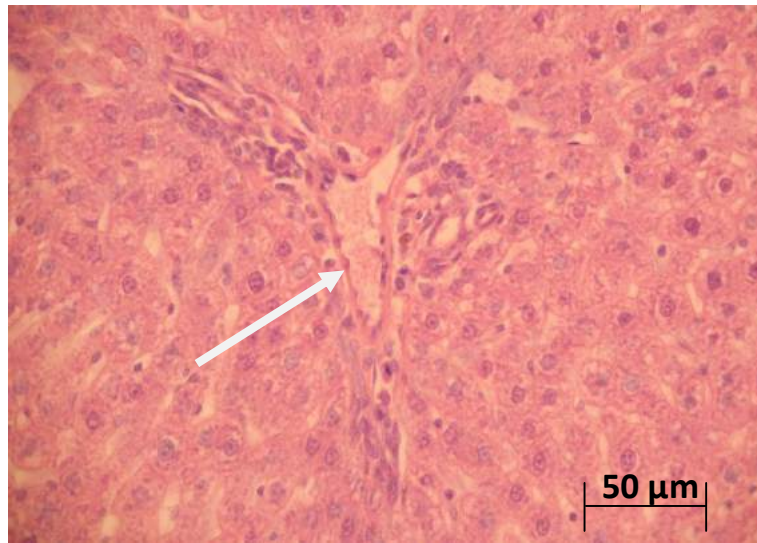


Рисунок 50 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Внутрисосудистый тромб (указан стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

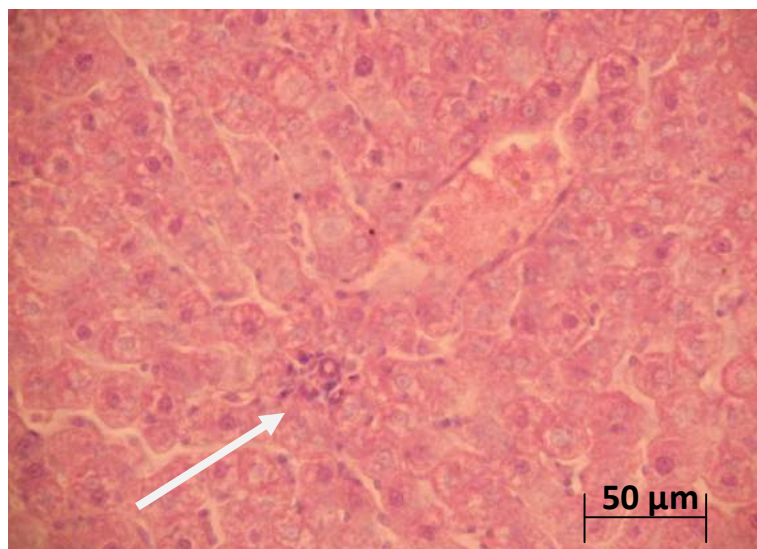


Рисунок 51 – Печень крысы через 90-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Лимфоцитарногистиоцитарная инфильтрация (указана стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

Важно отметить, что в перипортальной области (соединительная ткань) между междольковой венной определяли большое количество гемосидерофагов, что может свидетельствовать о развитии диапедезных или очаговых

кровоизлияний с последующим разрушением эритроцитов в макрофагах и превращении последних в гемосидерофаги (рисунок 53). Триады печени располагались по периферии печеночной долилки и были представлены междольковой артерией, веней и междольковым желчным протоком. Желчные протоки содержали большое количество желчи. Желчь определяли и в желчных капиллярах. В некоторых триадах определяли небольшие участки с умеренным периваскулярным фиброзом (рисунок 54).

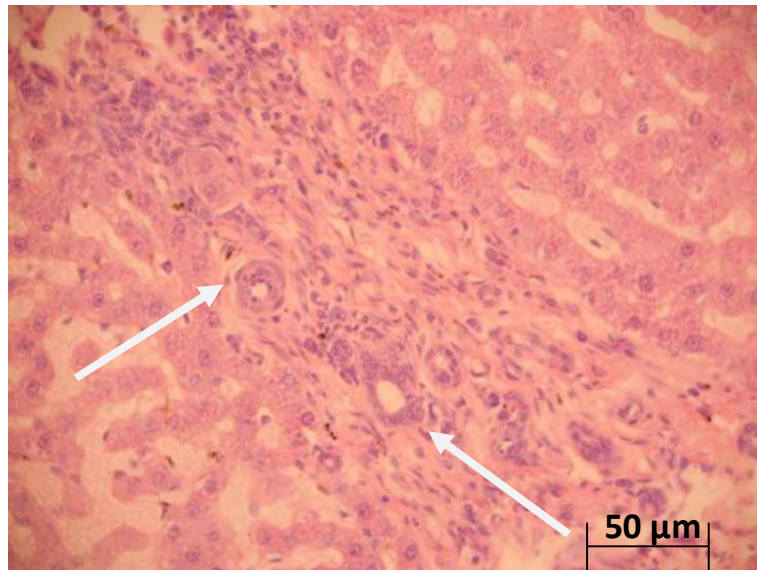


Рисунок 52 – Печень крысы через 90-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Лимфоцитарногистиоцитарная инфильтрация (указана стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

Между эндотелиоцитами выявляли звездчатые макрофаги (Купферовы клетки печени). Между гепатоцитами располагались небольшие скопления мелких клеток с пикнотичным ядром. Предположительно, эти клетки относятся к Pit-системе (лимфоциты) (рисунок 55).



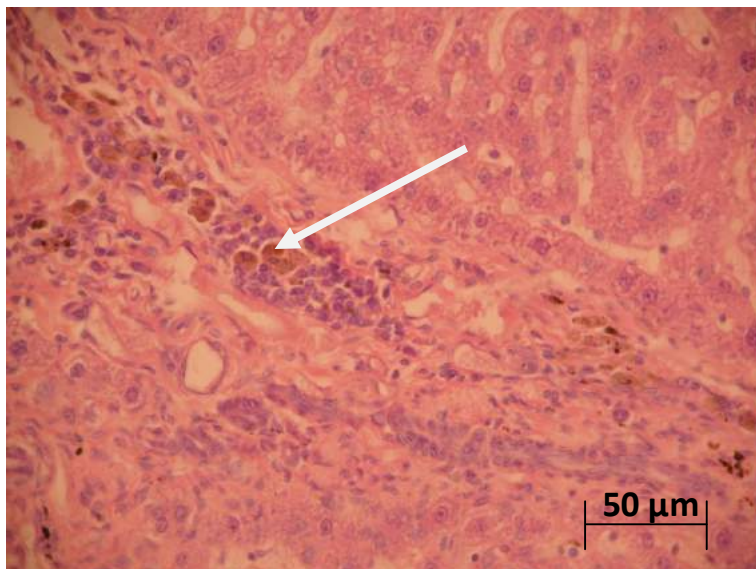


Рисунок 53 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Гемосидерофаги (указаны стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

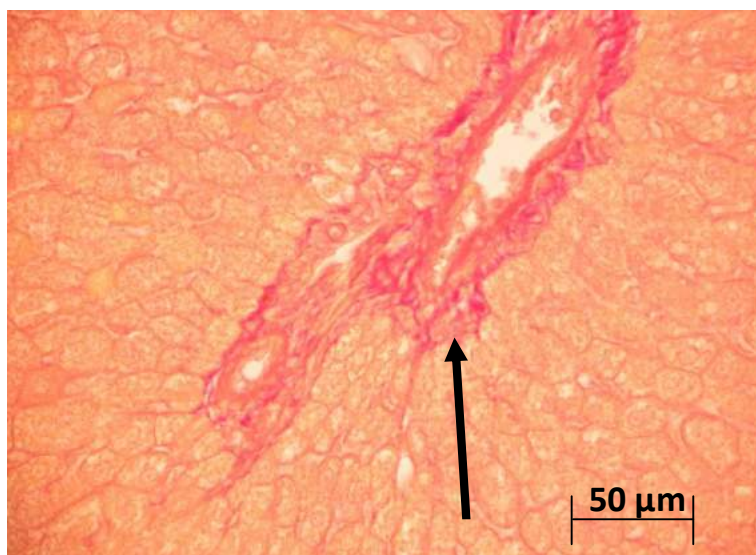


Рисунок 54 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Периваскулярный фиброз (указан стрелкой). Окр. гематоксилином и эозином.

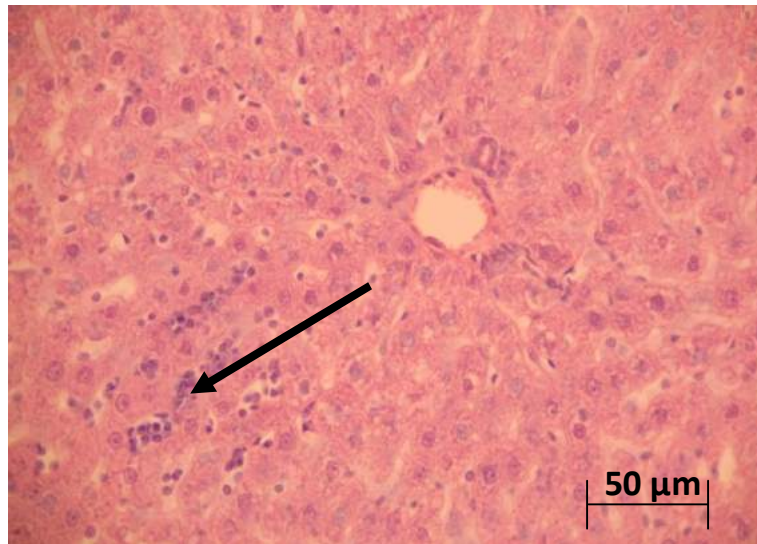


Рисунок 55 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Клетки Pit – системы (лимфоциты) (указаны стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

В некоторых участках выявляли очаги некрозов с формированием гепатоцитов с более светлой цитоплазмой и мелким пикнотичным ядром (рисунок 56).

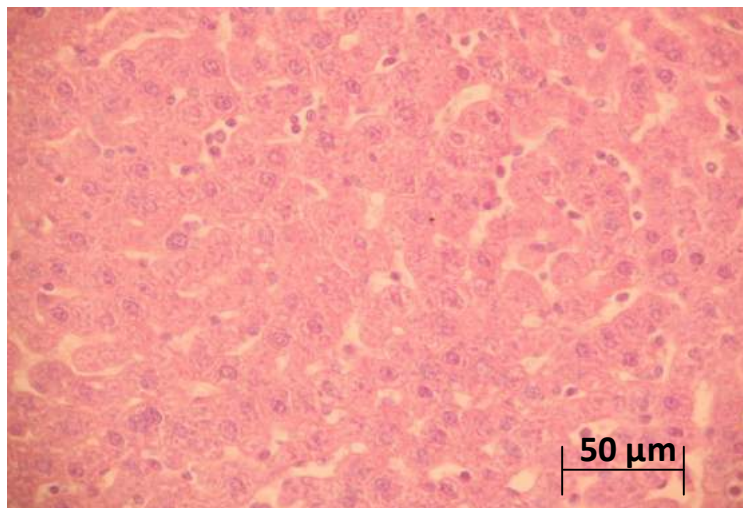


Рисунок 56 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

На 180-е сут в препарате определяли признаки полнокровия с расширением синусоидных капилляров и центральных вен (рисунок 57). В гепатоцитах

сохранялись дегенеративные изменения с выраженными признаками белковой дистрофии (рисунок 58). Фиброз выражен периваскулярно (рисунок 59).

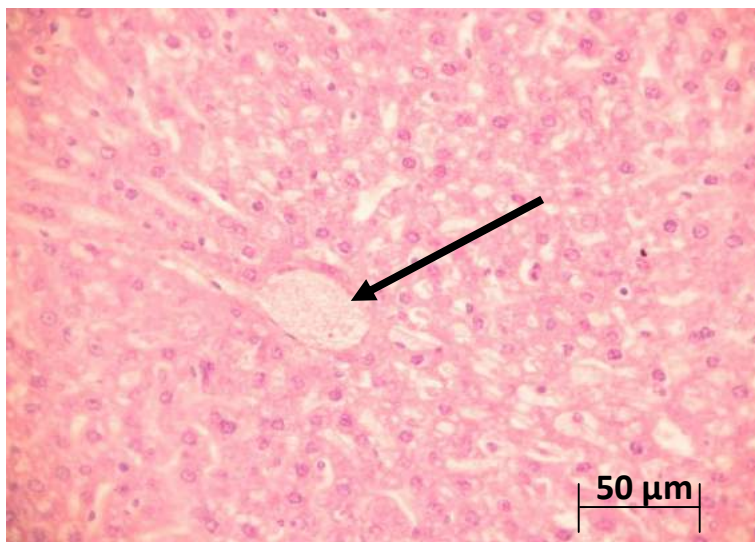


Рисунок 57 – Печень крысы на 180-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Полнокровная центральная вена (указана стрелкой). Окр. гематоксилином и эозином.

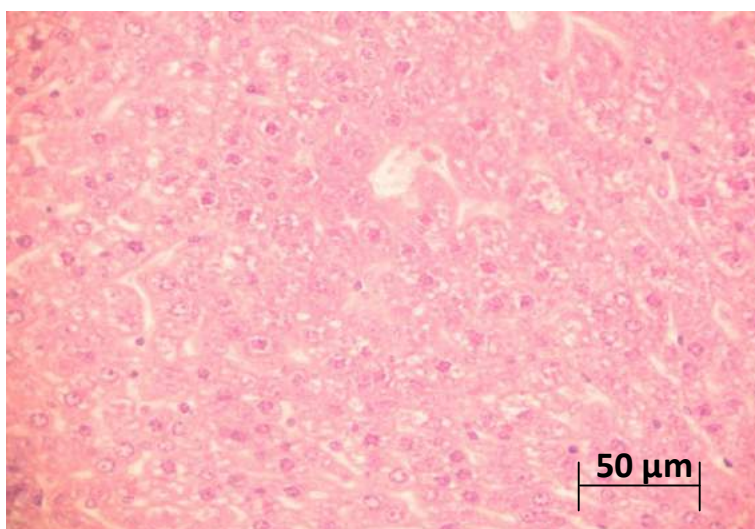


Рисунок 58 – Печень крысы на 180-е сут после резекции и остановки кровотечения швами по Оппелю. Окр. гематоксилином и эозином.



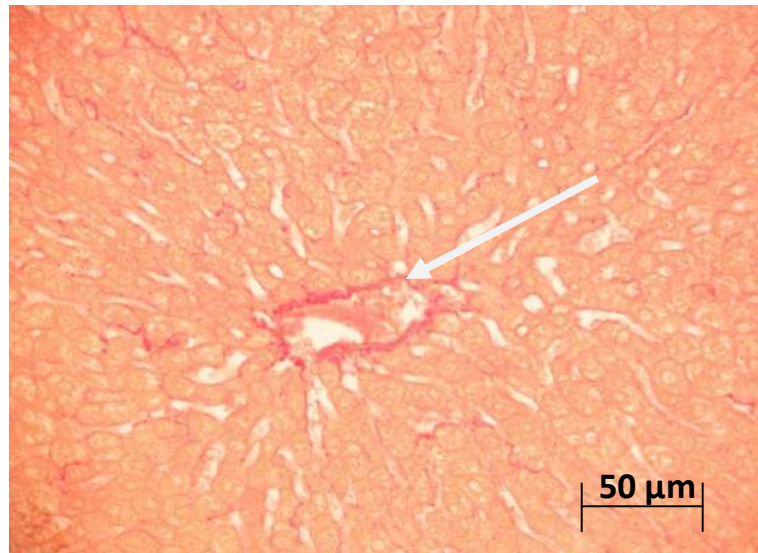


Рисунок 59 – Печень крысы на 180-е сут после остановки кровотечений швами по Оппелю. Периваскулярный фиброз (указан стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

При анализе независимых данных с использованием критерия Крускала-Уоллиса было выявлено, что все морфометрические показатели имеют статистически значимые различия во всех группах ( $p = 0,001$  и  $p = 0,0001$ ). Поэтому был проведен попарный анализ исследуемых групп и группы контроля методом Манна-Уитни (таблица 5).

Сравнивая показатели группы с гемостатическим швом печени к 3-м сут, 5-м сут и группы контроля выявлено статистически значимое различие по всем морфометрическим показателям (на 3-е сут  $p = 0,011$ , на 5 сут  $p = 0,011$  и  $p = 0,018$  (для показателя удельного объема двухядерных гепатоцитов)). Показатель удельного объема двухядерных гепатоцитов снизился в сравнении с группой контроля на 57,9% и 37,4% соответственно, а остальные показатели возросли. Показатель плотности инфильтрата в  $1 \text{ мм}^2$  достигал своего максимального значения 4496,06 [4250,33; 6833,29] (таблица 5). На 7-е сут, сравнивая морфологические показатели экспериментальной группы с показателями группы контроля, отмечено статистически значимое различие ( $p = 0,011$ ) по значениям: удельного объема гепатоцитов с признаками дистрофии, удельного объема гепатоцитов с некротическими изменениями, плотности инфильтрата и удельного

объема соединительной ткани. Данные показатели возросли до 13,915 [8,24;18,46], 10,91 [6,24; 14,31], 415,175 [325,120; 531,250] и 16,19 [13,99;18,24], соответственно. Величина удельного объема двухядерных гепатоцитов статистически значимо не изменилась ( $p = 0,397$ ) (таблица 5). При сравнении показателей группы гемостатического шва печени на 14-е сут и 30-е сут и показателей контроля выявлены статистически значимые различия по всем морфометрическим показателям (на 14-е сут  $p = 0,011$  и  $p = 0,028$  (для показателя удельного объема двухядерных гепатоцитов), на 30-е сут  $p = 0,011$ ). Сохраняется выраженная статистически достоверная тенденция к увеличенным морфологическим показателям (таблица 6).

Оценивая результаты морфологического исследования в отдаленные сроки, также сохраняется их статистически значимое увеличение, а именно при сравнении группы шва печени на 90-е сут и группы контроля выявлено статистически значимое различие по показателям удельного объема гепатоцитов с признаками дистрофии, он увеличен до 63 [52; 74], удельный объем гепатоцитов с некротическими изменениями снижается в сравнении с предыдущими сроками, однако остается повышенным до 11 [7; 14], показатели плотности инфильтрата и удельного объема соединительной ткани остаются достоверно ( $p = 0,005$ ) повышенными до 2144 [1434; 2643] и 12 [8; 16], соответственно. Показатель объема двухядерных гепатоцитов на 90-е и 180-е сут не имеет статистически достоверных изменений ( $p = 0,409$ ;  $p = 0,553$ ) (таблица 6).



Таблица 6

Гистологические показатели паренхимы печени после резекции с различными вариантами остановки кровотечений, (Me[Q<sub>0,25</sub>Q<sub>0,75</sub>])

Показатели	Удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии, (мм <sup>3</sup> /мм <sup>3</sup> )	Удельный объем двуядерных гепатоцитов, (мм <sup>3</sup> /мм <sup>3</sup> )	Удельный объем гепатоцитов с некротическими изменениями, (мм <sup>3</sup> /мм <sup>3</sup> )	Плотность инфильтрата в 1 мм <sup>2</sup>	Удельный объем соединительной ткани, мм <sup>3</sup> /мм <sup>3</sup>
Показатели группы контроля	1,14 [0,28;1,24]	8,30 [7,33;12,55]	1,75 [1,25; 2,28]	13,39 [12,5;23,7]	0,00 [0,00;0,00]
Группа со швом по Оппелю 3-и сут	33,54* [19,72; 47,24]	3,54* [3,25; 4,28]	117,475* [88,25; 128,33]	4496,065* [4250,33; 6833,29]	8,56* [7,42; 11,34]
Группа со швом по Оппелю 5-е сут	37,68* [23,22;48,55]	5,28* [4,26;6,25]	212,48* [175,25; 223,26]	4687,31* [2541,24; 5452,3]	11,35* [6,25;12,62]
Группа со швом по Оппелю 7-е сут	52,675* [41,67;85,21]	7,92 [6,39;9,37]	144,92* [122,6; 149,67]	3472,055* [1882,04; 4038,7]	53,27* [33,93;66,04]
Группа со швом по Оппелю 14-е сут	31,77* [24,63;43,22]	15,39* [12,91;17,82]	57,28* [42,62; 68,45]	1282,14* [882,04; 1582,21]	56,85* [43,33;68,24]
Группа со швом по Оппелю 30-е сут	20,47* [15,21;22,82]	32,83* [27,82;39,91]	22,43* [18,26;38,22]	502,95* [428,48;632,34]	65,42* [62,28;74,66]
Группа со швом по Оппелю 90-е сут	63,00* [52,00;74,00]	8,00 [5,00;9,00]	11,00* [7,00; 14,00]	2144,00* [1434,00; 2643,00]	12,00* [8,00; 16,00]
Группа со швом по Оппелю 180-е сут	72,50* [58,00; 82,00]	7,50 [3,00; 11,00]	5,00* [4,00; 6,00]	1293,50* [916,00; 1350,00]	15,00* [9,00; 38,00]
Группа с коагуляцией «неравновесной плазмой» 3-и сут	15,77* [9,22; 19,22]	3,24* [2,28; 4,25]	22,53*^ [12,44; 34,22]	508,48*^ [433,38; 754,33]	9,44* [5,43; 10,44]
Группа с коагуляцией «неравновесной плазмой» 5-е сут	15,215*^ [8,88;20,82]	5,20* [4,12;6,16]	19,17*^ [12,28; 24,12]	523,305*^ [402,45;625,210]	7,93* [5,33;10,22]
Группа с коагуляцией «неравновесной плазмой» 7-е сут	13,91*^ [8,24;18,46]	8,39 [7,02;9,44]	10,91*^ [6,24; 14,31]	415,17*^ [325,12; 531,25]	16,19*^ [13,99;18,24]
Группа с коагуляцией «неравновесной плазмой» 14-е сут	8,60*^ [6,35;9,38]	13,58* [11,68;17,82]	5,48*^ [3,22; 8,24]	219,895*^ [149,870; 362,520]	35,93* [24,46;44,39]
Группа с коагуляцией «неравновесной плазмой» 30-е сут	4,16*^ [3,28;4,66]	23,995* [18,84;28,25]	3,235*^ [1,46;6,22]	88,040*^ [28,480;123,700]	25,99*^ [22,32;41,26]
Группа с коагуляцией «неравновесной плазмой» 90-е сут	27,50*^ [25,00; 34,50]	5,00 [3,50;9,50]	8,00* [4,00; 20,00]	1297,00*^ [1083,00; 1665,50]	9,50* [8,00;13,00]
Группа с коагуляцией «неравновесной плазмой» 180-е сут	10,00*^ [8,00; 14,00]	9,50 [8,00; 16,00]	3,00^ [1,50; 4,00]	1237,50* [1062,00; 1519,00]	9,50* [5,50; 13,00]

\* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля; ^ -  $p < 0,05$  при сравнении с показателями группы после наложения шва по Оппелю; ○ -  $p < 0,05$  при сравнении с показателями группы после коагуляции «неравновесной плазмой»;

К 180-м суткам такие показатели, как число гепатоцитов с признаками дистрофии, плотность инфильтрата, удельный объем соединительной ткани ( $p = 0,011$ ) и удельный объем гепатоцитов с некротическими изменениями ( $p = 0,010$ ) остаются выше показателей контрольной группы (таблица 5).

### 3.12. Динамическое магнитно-резонансное исследование печени с контрастным усилением в группе крыс с резекцией печени и последующей остановкой кровотечения швами по Оппелю

При МРТ – исследовании на 90-е сутки после резекции левой доли печени с остановкой кровотечения швами по Оппелю выявлено заметное снижение накопления парамагнетика в печени (рисунок 60). На представленном фрагменте исследования показана 12-я минута от начала введения парамагнетика. До оперативного вмешательства хорошо видны достаточно выраженное накопление Gd-EOB-DTPA в области печени и частичный выход его в полость тонкой кишки. Контрастный эффект от области почек был менее выражен и едва определялось контрастное усиление полости мочевого пузыря. На 90-е сутки после оперативного вмешательства видимое визуальное снижение контрастного эффекта от области печени сочеталось с повышением контрастности от области почек, а также с достаточно интенсивным контрастным усилением полости мочевого пузыря. Также отсутствовало контрастное усиление полости тонкой кишки. На 180-е сутки после оперативного удаления левой доли печени и швами по Оппелю при введении Gd-EOB-DTPA на 12-й минуте заметно снизился контрастный эффект от области почек при сохраняющемся достаточно интенсивном контрастном усилении полости мочевого пузыря и отсутствии контрастного усиления полости тонкой кишки (рисунок 60). При статистическом анализе данных МРТ (таблица 7; рисунки 60, 61) установлено, что, согласно тесту Крускала–Уоллиса (при пороговом уровне значимости  $p = 0,05$ ), выявлены значимые различия коэффициентов CNR в следующих случаях: до контрастного усиления ( $p = 0,01$ ) и на 26-й минуте после контрастного усиления ( $p = 0,049$ ).

При использовании парного критерия Манна–Уитни (при пороговом уровне значимости  $p = 0,05$ ) выявлено значимое повышение контрастности печени между доконтрастными изображениями на 180-е сутки по отношению к контролю ( $p = 0,014$ ) и 90-м суткам ( $p = 0,009$ ). На 90-е сутки значимых различий контрастного усиления по отношению к контролю не выявлено ( $p > 0,05$ ), хотя визуально видно снижение максимального контрастного эффекта  $CNR_{\max}$  и сокращение времени его наступления  $t_{\max}$ .

Таблица 7

Результаты полученных коэффициентов CNR от области печени при динамическом контрастном МР-исследовании после резекции печени у крыс с различными видами остановки кровотечений с внутривенным болюсным введением контраста «Примовист» (Bayer-Schering), ( $Me[Q_{0,25}Q_{0,75}]$ )

Показатель Сутки	CNR-0	CNR-1	CNR-12	CNR-21	CNR-26	CNR-28
Контроль	3,7 [3,1; 7,1]	27,5 [16,3; 28,5]	47,1 [22,0; 48,8]	21,2 [19,2; 34,1]	15,7 [13,3; 20,0]	18,7 [13,0; 22,8]
90-е швы печени по Оппелю	9,6 [7,2; 12,3]	27,9 [26,5; 32,0]	23,1 [16,9; 25,0]	18,2 [16,2; 20,6]	15,1 [12,8; 17,2]	15,3 [11,2; 18,0]
180-е швы печени по Оппелю	21,8* [18,4; 28,4]	43,6* [41,2; 47,5]	42,6 [38,4; 48,4]	35,6 [33,4; 40,6]	32,5 [30,4; 39,4]	31,3 [30,2; 41,7]
90-е коагуляция «неравновесной плазмой»	11,7 [6,3; 12,1]	27,1 [11,9; 28,8]	31,2 [13,8; 33,4]	28,5 [7,2; 33,0]	22,4 [20,6; 24,9]	24,7 [8,5; 30,3]
180-е Коагуляция «неравновесной плазмой»	9,7 [5,4; 16,9]	31,2 [29,2; 98,0]	48,6 [37,2; 92,9]	44,7* [40,8; 66,1]	38,8* [32,7; 98,7]	21,5 [18,7; 46,0]

\* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;

При сравнении контрастного эффекта между группами на 90-е и 180-е сутки выявлено значимое повышение CNR на всем протяжении контрастного

исследования ( $p < 0,05$ ), что подтверждает наше предположение о значимости снижения CNR печени на 90-е сутки не только на доконтрастных изображениях, но и в течение контрастного исследования. При сравнительном анализе максимальных значений CNR<sub>макс</sub> и времени наступления максимума  $t_{макс}$  установлено, что по уровню максимального контрастного эффекта значимых различий на 90-е и 180-е сутки не было ( $p > 0,5$ ), а при сравнении времени наступления максимального контрастного эффекта выявлено значимое сокращение времени максимального контрастного эффекта на 90-е и 180-е сутки по отношению к контролю, причем между группами оперированных животных значимого различия времени наступления CNR<sub>макс</sub> не обнаружено ( $p > 0,05$ ) (таблица 7).

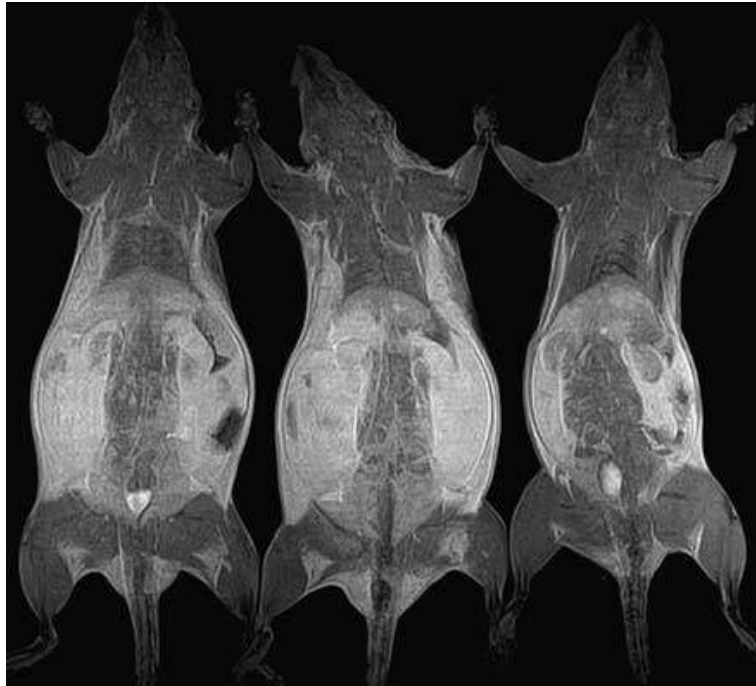


Рисунок 60 – Фрагмент МР-исследования с Gd-EOB-DTPA: реформация проекций максимальных интенсивностей FFE-3D накопления Gd-EOB-DTPA на 12-й минуте крыс с резекцией левой доли печени и остановкой кровотечения швами по Оппелю.

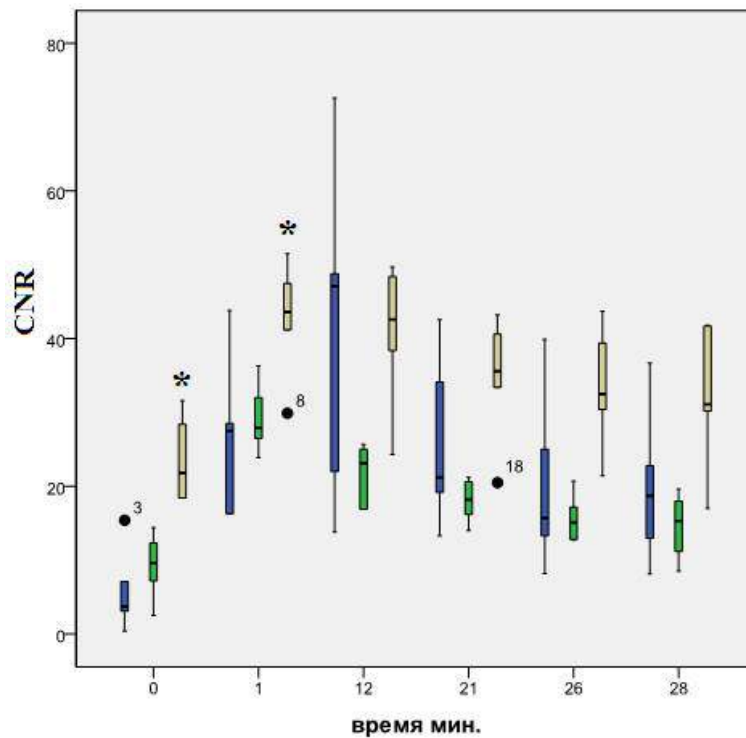


Рисунок 61 – Графики зависимости коэффициента CNR от времени при динамическом МРТ исследовании крыс с резекцией левой доли печени и остановкой кровотечения швами по Оппелю. Контрастный препарат «Примовист». ◆ – показатель в группе контроля; ◆ – показатель в группе со швом по Оппелю на 90-е сут; ◆ – показатель в группе со швом по Оппелю на 180-е сут.

### 3.13. Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии экспериментальных животных в группе с резекцией печени и последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой»

Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии в данной экспериментальной группе имели незначительные колебания. При анализе независимых данных с использованием критерия Крускала-Уоллиса было выявлено, что такие показатели, как концентрация фибриногена, АЧТВ, протромбинового времени, МНО, не имели статистически значимых различий во все сроки исследования ( $p > 0,05$ ).

На 3-и сут отмечались статистически значимые увеличения таких показателей в сравнении с контрольными значениями: концентрации глюкозы

крови на 98% при  $p = 0,002$ , активности АСТ ( $p = 0,021$ ) на 31,1 и АЛТ на 53% при  $p = 0,009$ , активности  $\alpha$ -амилазы крови ( $p = 0,009$ ) на 26%. Концентрация общего белка крови достоверно снизилось ( $p = 0,009$ ) на 8,5%, а количество единиц тимоловой пробы достоверно ( $p = 0,008$ ) увеличилось на 140% по отношению к контролю. Возрастание концентрации прямого билирубина отмечалось на 3-и сут 5,0 [3,0;6,2] мкмоль/л при  $p = 0,002$ , а к 5-м сут данный показатель снижался до 2,0 [1,0;2,2] при  $p = 0,009$  с последующим восстановлением до контрольных значений в оставшиеся сроки.

К 5-м сут имело место статистически значимое снижение следующих показателей: активности ЩФ крови и концентрации общего белка (при  $p = 0,009$ ) на 45,3 и 23 %%, соответственно. Концентрация глюкозы крови оставалась выше показателей контроля на 52%. В дальнейшие сроки (с 7-х сут) концентрация глюкозы крови восстанавливалась до контрольных значений. Однако, величины активности АЛТ и АСТ возрастали в сравнении с показателями контрольной группы (на 91% при  $p = 0,008$  и 65% при  $p = 0,021$ , соответственно).

Начиная с 7-х сут активность АЛТ и АСТ постепенно, но достоверно снижалась вплоть до контрольных значений в отдаленные сроки. Активность  $\alpha$ -амилазы крови, напротив, статистически значимо увеличивалась на 43% ( $p = 0,009$ ) в сравнении с показателями контрольной группы. В дальнейшем активность  $\alpha$ -амилазы продолжала увеличиваться ( $p = 0,009$ ) и к 14-м сут достигала пикового значения в 4111 [3950; 4200] Ед/л, что на 55,4% было выше показателей контроля. В данный срок также восстанавливалось содержание общего белка до контрольных значений, а концентрация мочевины крови оставалась достоверно ( $p = 0,047$ ) повышенной на 26,9%, также как и количество единиц тимоловой пробы (на 65,4% в сравнении с показателями контрольной группы,  $p = 0,05$ ) (таблица 8).

Таблица 8

Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии после резекции печени крыс с последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой», (Me[Q<sub>0,25</sub>Q<sub>0,75</sub>])

Показатели	Контроль	Сроки исследования						
		3-и	5-е	7-е	14-е	30-е	90-е	180-е
Глюкоза (ммоль/л)	5,1[4,7;5,3]	10,1*[9,9;10,5]	7,8[4,7;5,3]	5,0*[4,4;5,5]	5,2[5,1;5,8]	5,0[4,5;5,8]	4,2[3,8;4,3]	4,3[4,7;5,3]
АЛТ (Ед/л)	69[48;80]	106*[90;110]	132*[115;180]	84*[71;102]	70[50;75]	62[59;75]	65[50;80]	62[58;69]
АСТ (Ед/л)	61[51;65]	80*[70;93]	101*[100; 134]	75*[64;90]	65[50;75]	62[60;80]	61[58;72]	63[58;66]
Тимоловая проба, усл. ед.	1,33 [1,33;1,56]	3,20 [2,80;4,55]	3,12 [2,51;3,67]	3,15 [1,95;4,12]	2,20 [1,83;2,99]	1,27 [0,95;1,67]	1,29[1,22;1,68]	1,11 [0,67;1,68]
Билирубин общ. мкмоль/мл	8,0[7,90;8,5]	9[8,5; 9,1]	8,1[8; 8,1]	8,3[8,3; 8,8]	7,5[7; 7,5]	8,8[8,5; 9]	7,0[7,0;8,8]	7,9[7,2;8,8]
Билирубин пр. мкмоль/мл	0	5,0*[3,0;6,2]	2,0*[1,0;2,2]	0	0	0	0	0
$\alpha$ -амилаза (Ед/л)	2645[2500;2756]	3337*[3120;3516]	3428*[3247;3845]	3791*[3683;3930]	4111*[3950;4200]	3724*[3625;3819]	2721[2621;2895]	2567[2342;2796]
ЩФ (Ед/л)	287[209;302]	246[230; 266]	157* [135; 169]	175*[162;187]	230[230;270]	368*[364; 370]	270,0[210,0;360,0]	220,0[220,0;270,0]
Общ белок (г/л)	71,0[69,0;72,0]	65*[62,3; 67]	61,8*[60,9;64,8]	66,2[64,8;66,8]	72[70,5;73]	69[55; 70]	76,3[75,8;85,8]	85,5[67,0; 90,3]
Мочевина (ммоль/л)	6,3[5,8;7,4]	7,9[7,4;8,1]	7,9*[7,7;8]	9,5*[8,6;10,4]	8*[7,5;9,1]	7,9[6,5; 8]	6,8[6;7,4]	6[5,5;6,5]
Фибриноген (г/л)	2,45[2,25;2,5]	1,75[1,5;2]	2,0[1,75;2,1]	1,8[1,5;2]	2,0[1,75;2,0]	2,1[2; 2,2]	2,3[1,85;2,7]	2[1,5;2,4]
АЧТВ (сек)	20[17;20]	20[19;23]	20[19;21]	21[20;21]	21[19;23]	19[19; 20]	20[19;21]	21[18;22]
Протромбиновое время (сек)	10[10;10]	10[9;10]	10[9;11]	9[9;9]	10[10;10]	11[10; 11]	10[9; 11]	10[10; 11]
МНО	0,9[0,9;0,9]	0,9[0,9;0,9]	0,9[0,9;1]	0,9[0,9;0,9]	0,9[0,9;0,9]	0,9[0,9;0,9]	0,9[0,9;1]	0,9[0,9;0,9]

\* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;

$\wedge$  -  $p < 0,05$  при сравнении с показателями группы после наложения шва по Оппелю;

### 3.14. Тканевые особенности печени экспериментальных животных в группе крыс с резекцией печени и последующей остановкой кровотока «неравновесной плазмой»

В препарате печени крыс на 3-и сут после резекции с коагуляцией «неравновесной плазмой» невозможно было идентифицировать структурно-функциональную единицу печени – печеночную дольку. В гистологическом препарате четко определяли обширный участок некроза, который представлен аморфной ярко оксифильной массой, состоящий из погибших гепатоцитов. Некротизированные гепатоциты уменьшены в объеме, цитоплазма неоднородная, глыбчатая, ядро мелкое, компактное, плотное (рисунок 62).

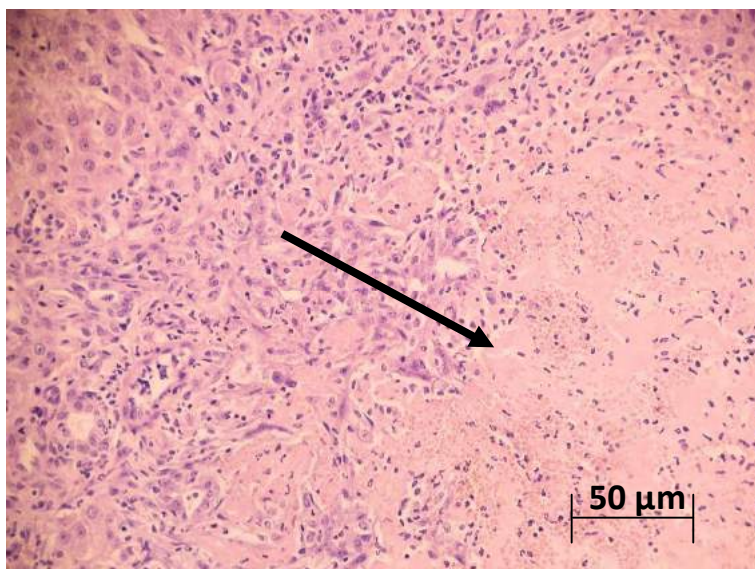


Рисунок 62 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотока «неравновесной плазмой». Участок некроза гепатоцитов печеночной дольки, окруженный полиморфноклеточным инфильтратом (указано стрелками). Окр. гематоксилином-эозином.

По периферии этот участок, ограниченный демаркационной линией, состоял преимущественно из сегментоядерных нейтрофилов с морфологическими признаками дегрануляции (рисунок 63). В триадах имелись признаки полнокровия с расширением венозных сосудов, в которых визуализировался плазмостаз (в венах определялась бледно-розовая жидкость). В некоторых



междольковых венах определялись морфологические признаки краевого стояния лейкоцитов. Эндотелиальные клетки с морфологическими признаками внутриклеточного отека сопровождалось увеличением размера клетки, преимущественно за счет ядра (рисунок 64). Гемодинамические нарушения также захватывали синусоидные капилляры и центральные вены, которые нередко расширены, с признаками стаза и полнокровия (рисунок 65).

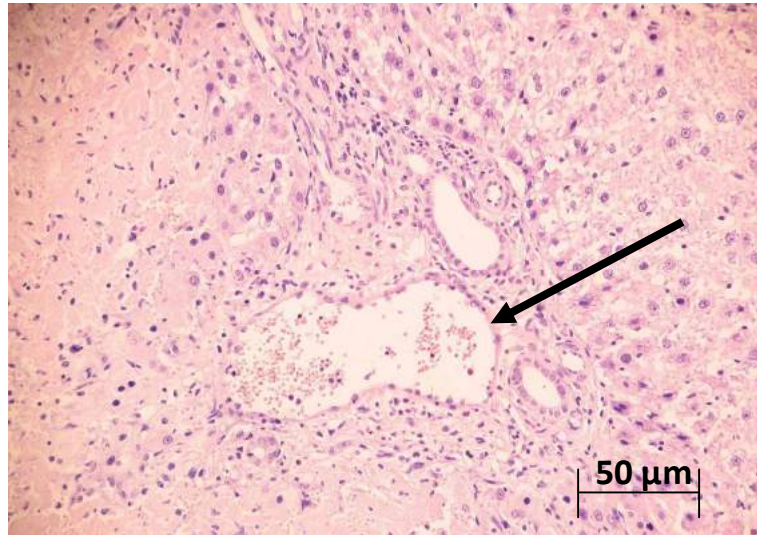


Рисунок 63 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Венозное полнокровие с гемодинамическими изменениями в сосудах триады печеночной дольки (указано стрелкой). Диффузный полиморфноклеточный инфильтрат. Окр. гематоксилином-эозином.

Перисинусоидальные макрофаги (Купферовские клетки печени) с высокой функциональной активностью, что сопровождалось расширением цитоплазмы клетки, которая содержала мелкие пылевидные полиморфные темные включения (рисунок 66). Вокруг междольковой артерии, вены и желчного протока локализовался выраженный полиморфноклеточный инфильтрат (рисунок 67).

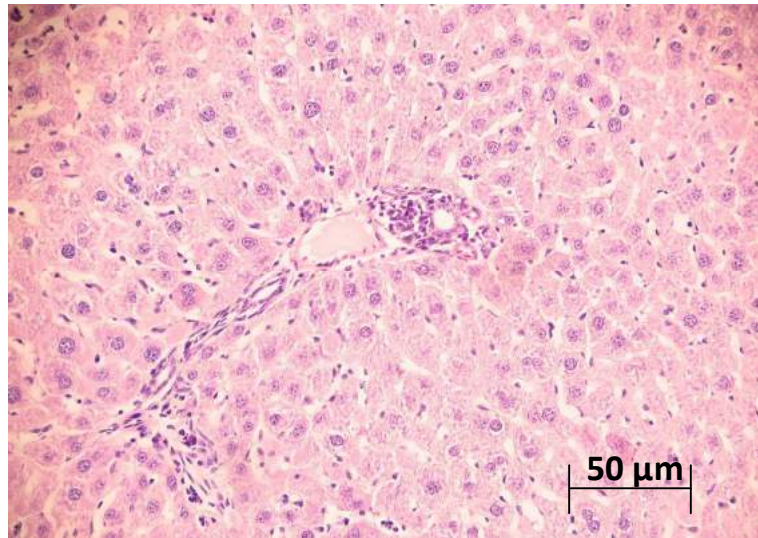


Рисунок 64 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширение венул в триаде печеночной дольки с морфологическими признаками плазмо - и лейкостаза. Окр. гематоксилином-эозином.

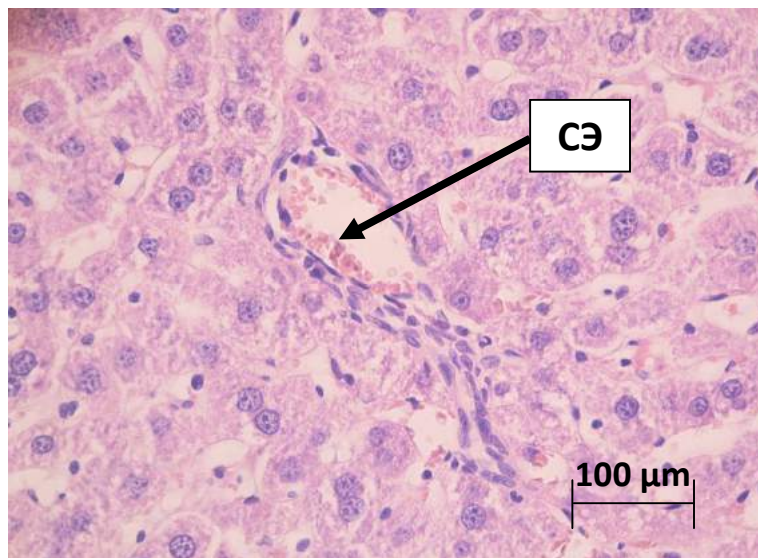


Рисунок 65 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширение синусоидных капилляров и междольковой вены с субэндотелиальным отеком, стазом и сладжем эритроцитов в них. СЭ – сладж эритроцитов. Окр. гематоксилином-эозином.

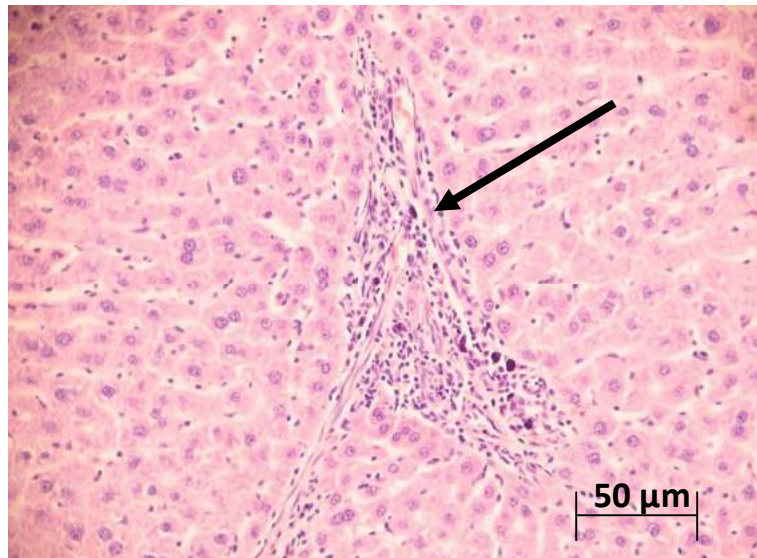


Рисунок 66 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Выраженный периваскулярный инфильтрат в печеночной дольке (указано стрелкой). Купферовские клетки печени. Окр. гематоксилином-эозином.



Рисунок 67 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Выраженный периваскулярный полиморфноклеточный инфильтрат в печеночной дольке (указано стрелкой). Окр. гематоксилином-эозином.

Большое число гепатоцитов с дегенеративными изменениями как ядра, так и цитоплазмы. В последней идентифицировались мелкие бесцветные вакуоли и крупные базофильные везикулы (рисунок 68).



Яркая базофилия этих гранул указывала на принадлежность их к коагулированному белку, а сами клетки подверглись белковой (зернистой) дистрофии. Дегенеративные нарушения ядра проявлялись в неоднородной окраске его хроматина, наблюдались его компактность и глыбчатость. Глыбки хроматина концентрировались вдоль ядерной мембраны и формировали плотные конгломераты (рисунок 69).

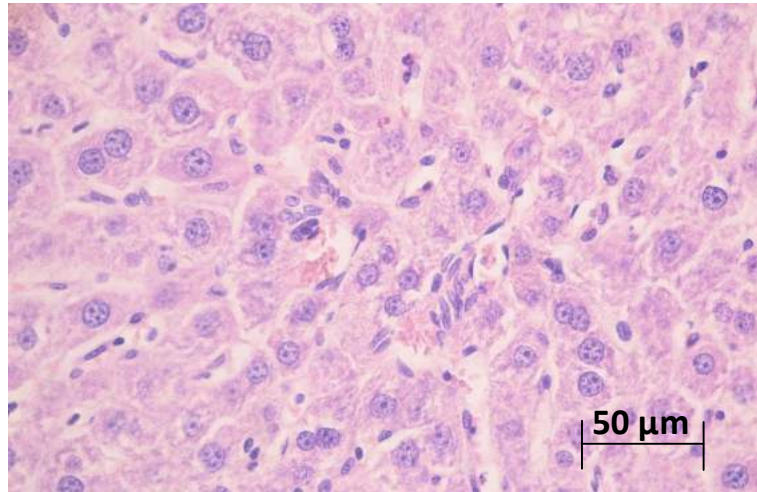


Рисунок 68 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширение просвета синусоидов в печеночной дольке. Дистрофические изменения ядра и цитоплазмы гепатоцитов. Окр. гематоксилином-эозином.

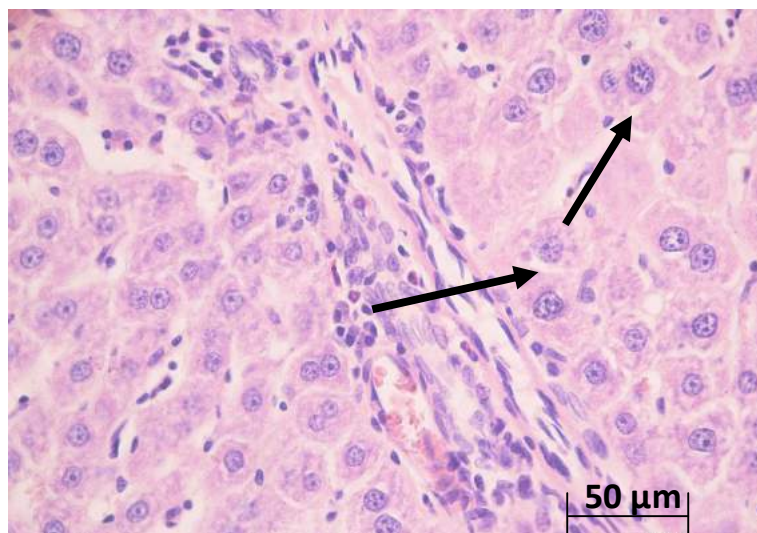


Рисунок 69 – Печень крысы на 3-и сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Выраженные сосудистые изменения в триадах печеночных долек. Гепатоциты с признаками зернистой дистрофии (указаны стрелками). Окр. гематоксилином-эозином.

В соединительной ткани, расположенной преимущественно вокруг печеночных долек, выявлялись морфологические признаки отека с увеличением доли волокнистых структур за счет их разволокнения. Тонкие пучки коллагеновых волокон локализовались периваскулярно (рисунок 70).

В препарате печени на 5-е сут после резекции сохранялись воспалительные и дистрофические изменения паренхимы печени, что затрудняло идентификацию структурно-функциональной единицы печени – печеночной дольки. Гемодинамические нарушения проявлялись в выраженном расширении синусоидных капилляров и центральных вен (рисунок 71).

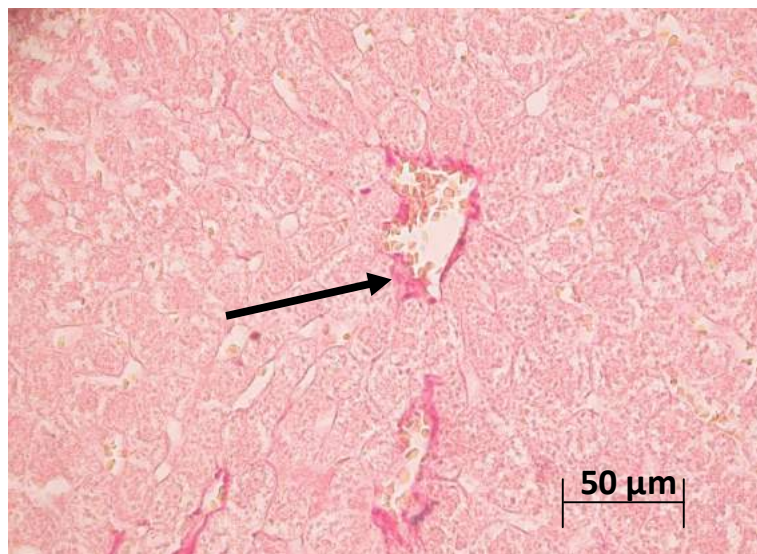


Рисунок 70 – Печень крысы на 3 сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Периваскулярная локализация тонких пучков коллагеновых волокон (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

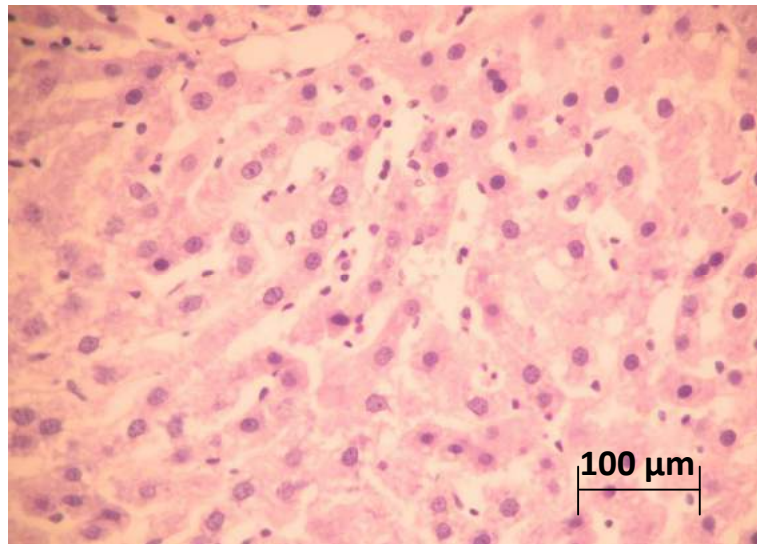


Рисунок 71. Печень крысы на 5-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширение синусоидных капилляров и центральной вены в печеночной дольке. Окр. гематоксилином-эозином.

Междольковые вены с признаками полнокровия, а также стаза, сладж комплексов и тромбоза (рисунок 72).

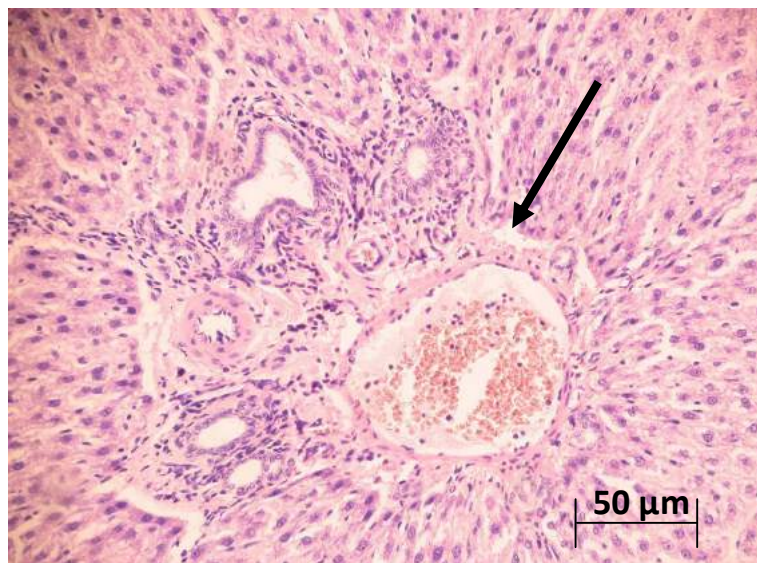


Рисунок 72 – Печень крысы на 5-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Морфологические признаки сосудистых изменений в триадах печеночной дольки. Периваскулярный отек (указан стрелкой) и полиморфноклеточный инфильтрат. Окр. гематоксилином-эозином.



Выраженный периваскулярный очаговый лимфоплазмочитарный инфильтрат локализовался, преимущественно, вокруг печеночных триад (рисунок 73). Нередко между печеночными триадами можно было увидеть мелкоочаговые кровоизлияния.

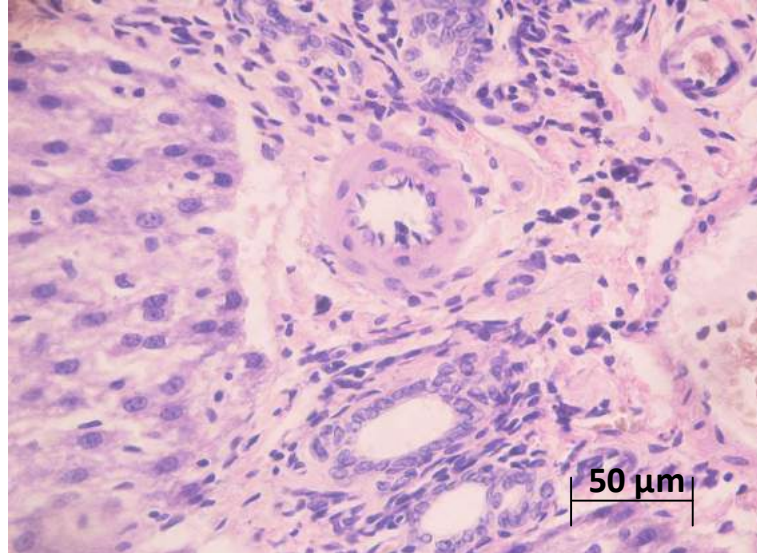


Рисунок 73 – Печень крысы на 5-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Лимфоплазмочитарный инфильтрат вокруг триад в печеночной дольке. Дистрофические изменения гепатоцитов. Окр. гематоксилином-эозином.

Большая часть гепатоцитов с признаками жировой дистрофии, при этом в цитоплазме клетки определялись мелкие светлые вакуоли, нередко можно было идентифицировать печеночные клетки, цитоплазма которых полностью занята одной крупной бесцветной вакуолью (рисунок 74).

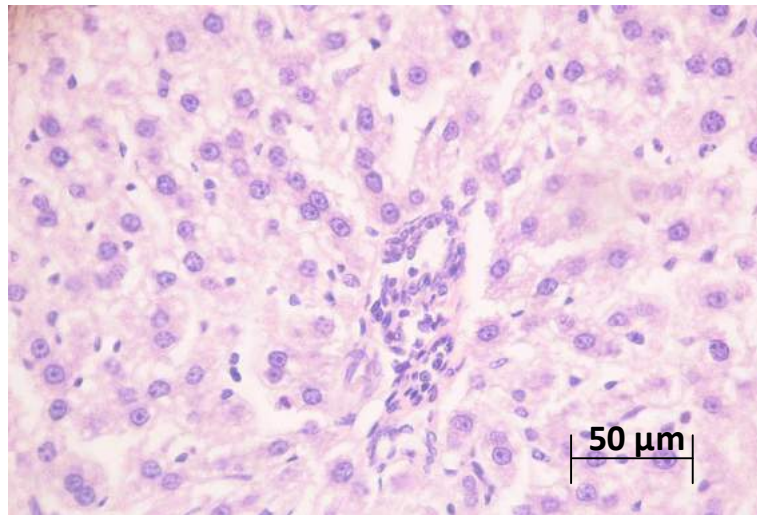


Рисунок 74 – Печень крысы на 5-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширение синусоидных капилляров в печеночной дольке. Гепатоциты с признаками жировой дистрофии. Окр. гематоксилином-эозином.

Среди печеночных клеток с признаками дистрофии определялись клетки обычного строения. Эти клетки имели полигональную форму с центрально расположенным ядром и неоднородной окраской цитоплазмы. Структура хроматина в ядре сетчатая, мелкодисперсная. Ядерная мембрана сохранена и имеет четкие контуры. Цитоплазма гепатоцитов однородна, окрашена, с мелкой, пылевидной зернистостью. Разволокненные коллагеновые волокна локализовались преимущественно периваскулярно.

В гистологическом препарате на 7-е сут исследования воспалительные изменения уменьшены, а диффузный полиморфноклеточный инфильтрат сменяется на очаговый периваскулярный круглоклеточный инфильтрат (рисунок 75).



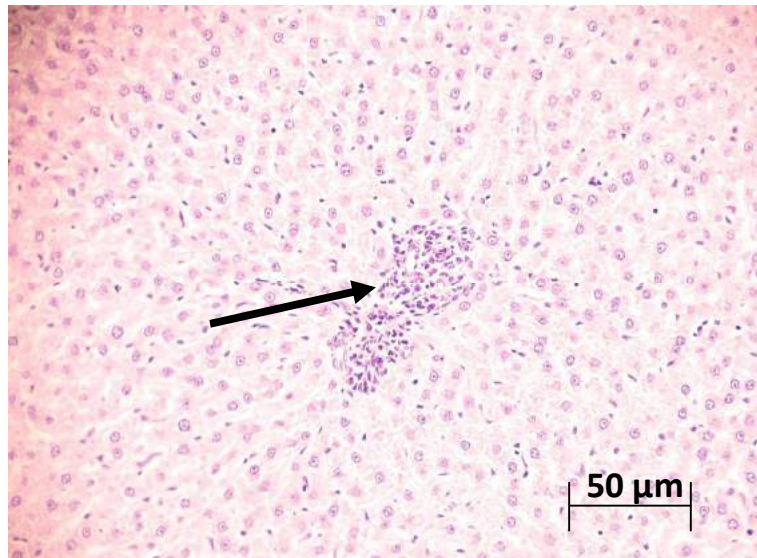


Рисунок 75 – Печень крысы на 7-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Очаговый круглоклеточный инфильтрат в печеночной дольке (указано стрелкой). Окр. гематоксилином-эозином.

В тоже время в некоторых гистологических препаратах на данных сроках можно было четко идентифицировать погибшие гепатоциты, которые окружены полиморфноклеточным инфильтратом (рисунок 76). В гепатоцитах сохранялись признаки белковой и жировой дистрофии, а также в большом количестве выявлялись печеночные клетки обычного строения (рисунок 77).

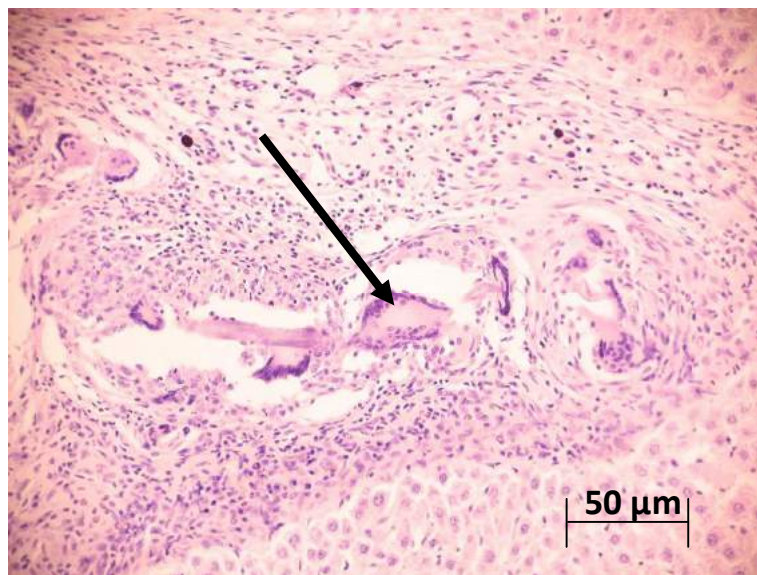


Рисунок 76 – Печень крысы на 7-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Полиморфноядерные лейкоциты с признаками дегрануляции (указано стрелкой). Окр. гематоксилином-эозином.

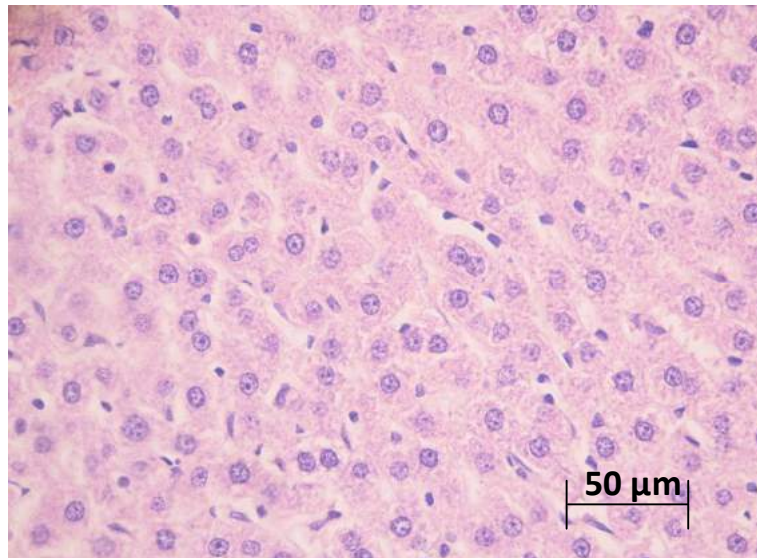


Рисунок 77 – Печень крысы на 7-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Умеренное расширение просвета синусоидных капилляров. Печеночные клетки с признаками дистрофии и обычного строения. Окр. гематоксилином-эозином.

Тонкие коллагеновые волокна расположены как между триадами, так и между печеночными клетками (рисунок 78). В гистологическом препарате печени к 14-м сут исследования можно было идентифицировать небольшие участки грануляционной ткани с большим количеством кровеносных сосудов и молодых клеток фибробластического ряда (рисунок 79). Эти морфологические признаки достаточно хорошо идентифицируются при окраске по Ван-Гизону. Незначительные сосудистые изменения в печеночной дольке проявляются расширением синусоидных капилляров и центральных вен (рисунок 80).



Рисунок 78 – Печень крысы на 7-е сут после остановки кровотока «неравновесной плазмой». Коллагеновые волокна между триадами в печеночной дольке. Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

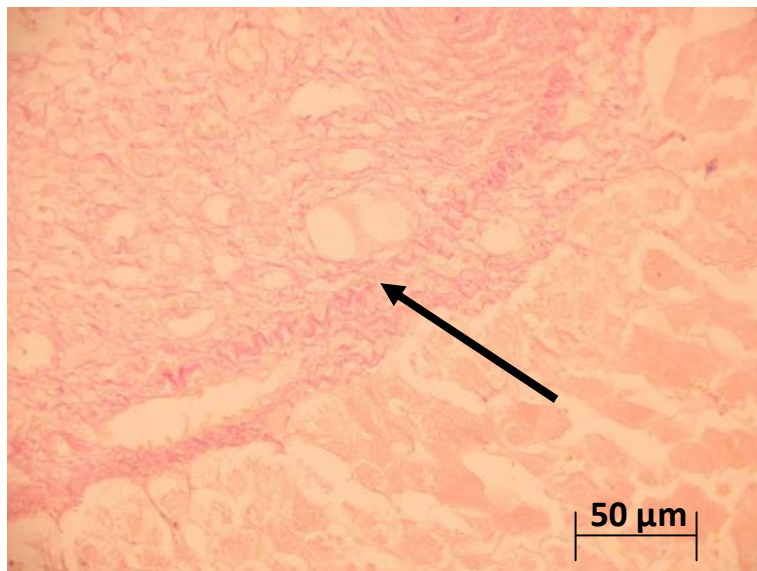


Рисунок 79 – Печень крысы на 14-е сут остановки резекции и кровотока «неравновесной плазмой». Молодая соединительная (грануляционная) ткань (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.



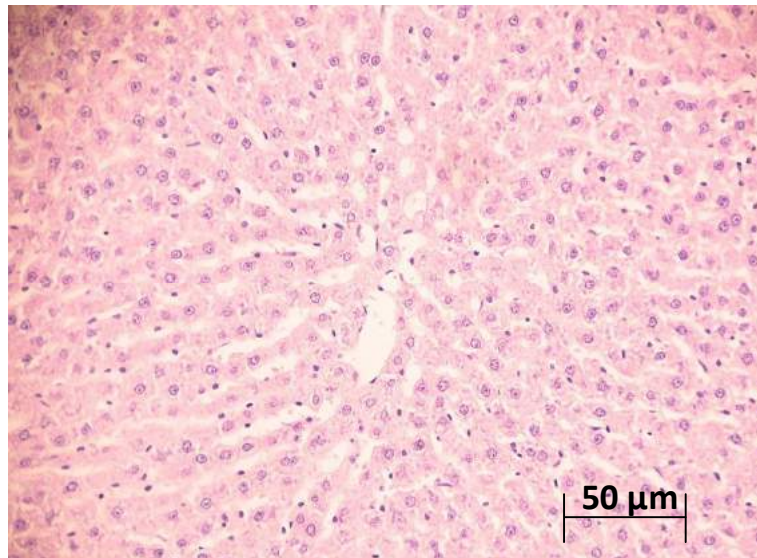


Рисунок 80 – Печень крысы на 14-е сут после резекции и остановки кровотока «неравновесной плазмой». Расширение синусоидов и центральной вены в печеночной дольке. Окр. гематоксилином-эозином.

Вокруг синусоидов можно было обнаружить небольшое количество макрофагов, некоторые из них с признаками высокой функциональной активности. В паренхиме печени определялись гепатоциты обычного строения, а также в большом количестве двухядерные печеночные клетки. Важно отметить, что морфологические признаки белковой и жировой дистрофии сохранялись в некоторых гепатоцитах (рисунок 81).

В гистологических препаратах на 30-е сут эксперимента идентифицировалась паренхима железы, состоящую из печеночных долек, разделенных небольшими прослойками соединительной ткани (рисунок 82).

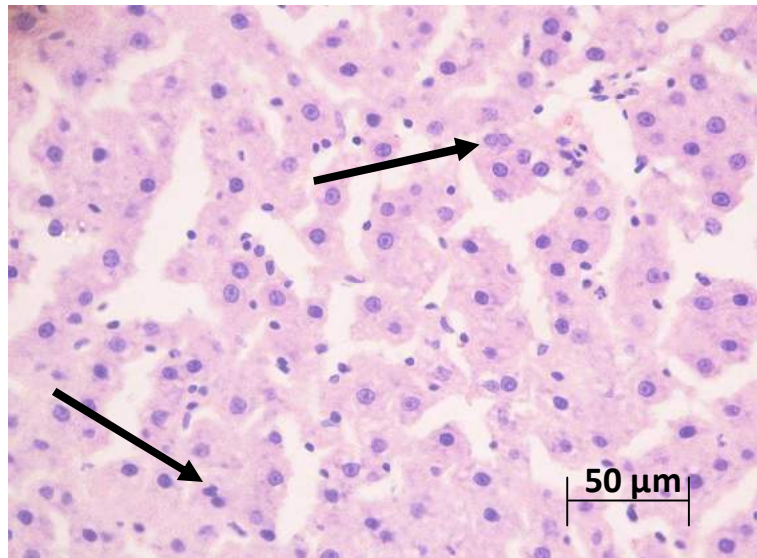


Рисунок 81 – Печень крысы на 14-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширение синусоидов в печеночной дольке. Дистрофические изменения и двухядерные гепатоциты (указаны стрелками). Окр. гематоксилином-эозином.

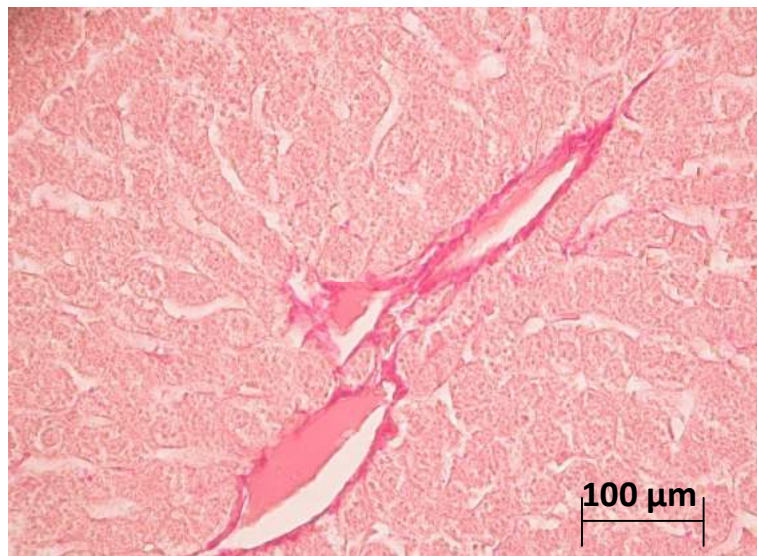


Рисунок 82 – Печень крысы на 30-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Умеренный фиброз с периваскулярной локализацией соединительной ткани. Тонкие прослойки соединительной ткани между гепатоцитами в печеночной дольке. Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

В некоторых участках гистологического препарата можно было обнаружить капсулу печени, которая незначительно утолщена. Печеночная долька восстанавливалась до нормального строения и состояла из печеночных пластинок

(балок), печеночных триад (междольковая артерия, междольковая вена и желчный проток), синусоидных капилляров и центральной вены. Некоторые синусоидные капилляры были незначительно расширены (рисунок 83).

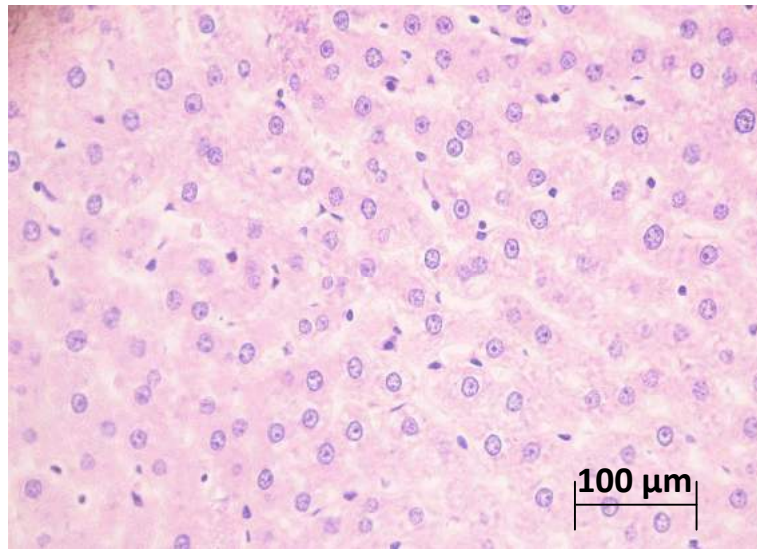


Рисунок 83 – Печень крысы на 30-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Печеночные пластинки обычного строения. Незначительное расширение синусоидных капилляров в печеночной дольке. Окр. гематоксилином-эозином.

Печеночные пластинки были представлены двумя слоями гепатоцитов между которыми находился желчный капилляр. Сами гепатоциты имеют полигональную форму с центрально расположенным ядром и неоднородной окраской цитоплазмы. Структура хроматина в ядре сетчатая, мелкодисперсная. Ядерная мембрана сохранена и имеет четкие контуры. Цитоплазма гепатоцитов однородно окрашена с мелкой, пылевидной зернистостью (рисунок 84). В некоторых участках определялись гепатоциты с морфологическими признаками гипертрофии. Эти печеночные клетки увеличены в размерах, с крупным ядром и сетчатой структурой хроматина, нередко в ядре этих клеток можно идентифицировать укрупненные ядрышки. В данном гистологическом препарате при окраске по Ван-Гизону визуализировался незначительный междольковый и периваскулярный фиброз (рисунок 85).



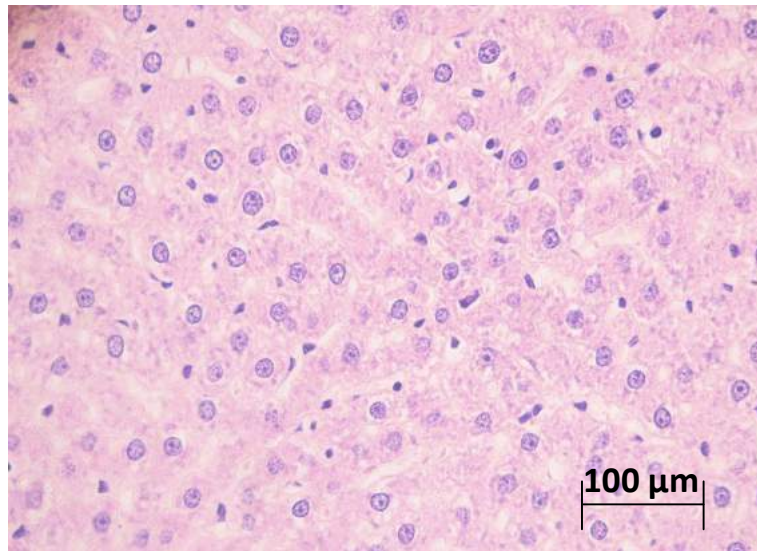


Рисунок 84 – Печень крысы на 30-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Типичное строение печеночной дольки. Окр. гематоксилином-эозином.



Рисунок 85 – Печень крысы на 30-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Умеренный периваскулярный фиброз в триадах печеночных долек (указан стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

К 90-м сут в гистологических препаратах сохранялись сосудистые нарушения, проявляющиеся в расширении центральных и междольковых вен (рисунок 86). Синусоиды незначительно расширены, отмечаются умеренные признаки отека (рисунок 87).

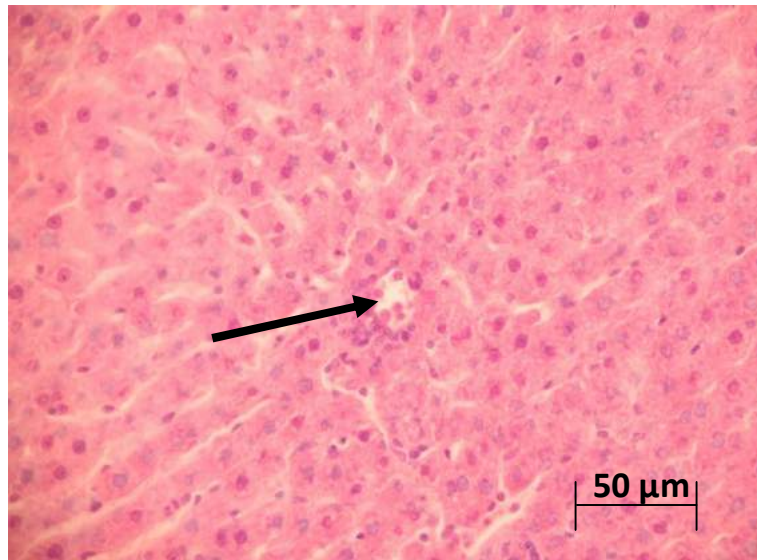


Рисунок 86 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширены центральные междольковые вены (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону

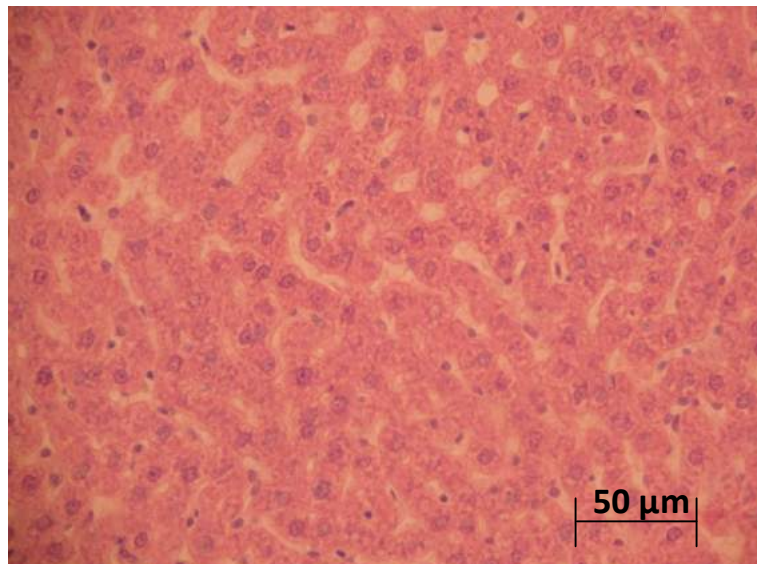


Рисунок 87 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширение синусоидов, явления отека. Окр. гематоксилином и эозином.

В некоторых участках определялись гепатоциты с выраженными признаками белковой и жировой дистрофии (рисунок 88). В некоторых участках наблюдались единичные круглоклеточные инфильтраты (рисунок 89).



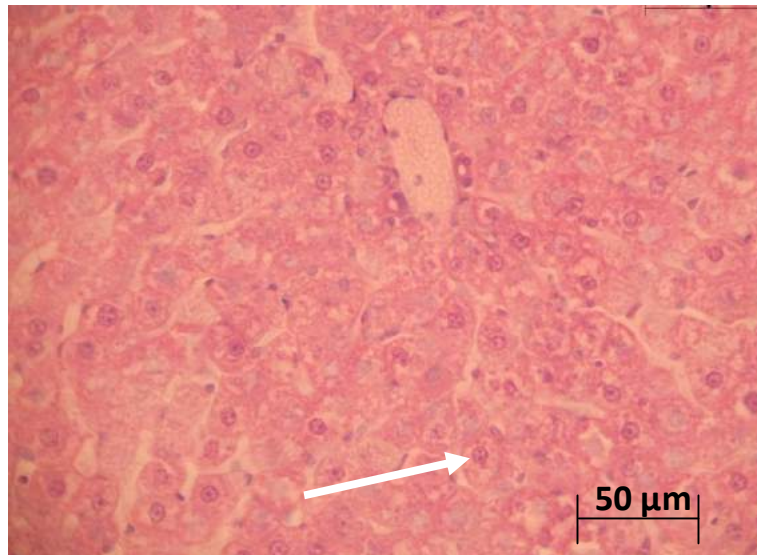


Рисунок 88 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Гепатоциты с признаками дистрофии (указаны стрелкой). Окр. гематоксилином и эозином.

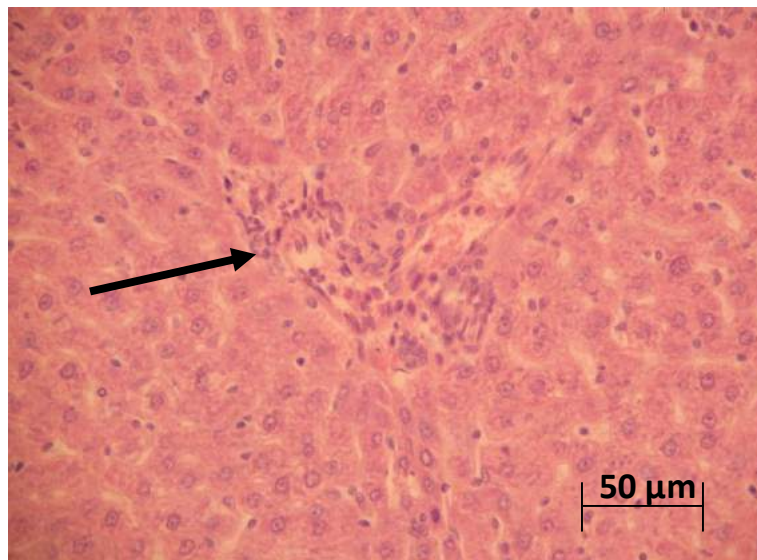


Рисунок 89 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Единичные инфильтраты в печеночной паренхиме (указано стрелкой). Окр. гематоксилином и эозином.

Дополнительно отмечался незначительный перибилиарный и перипортальный фиброз, коллагеновые волокна разволокнены, набухшие (рисунок 90).

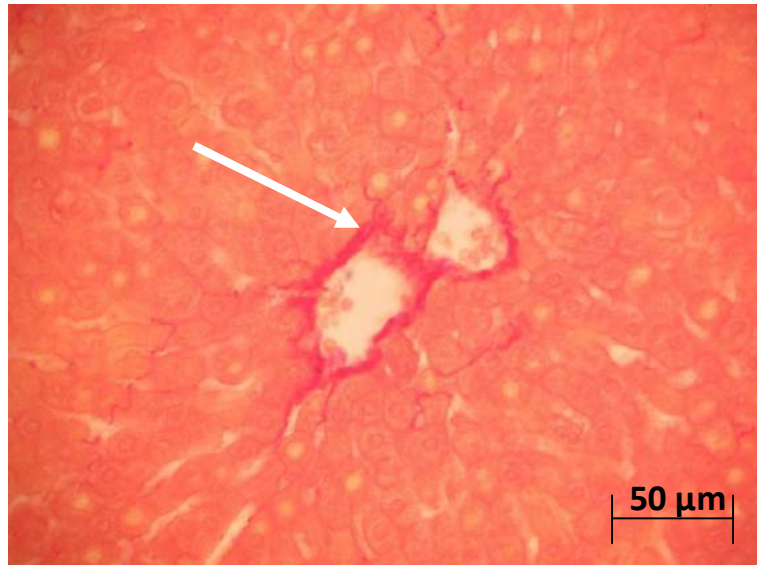


Рисунок 90 – Печень крысы на 90-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Перипортальный фиброз (указано стрелками). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

На 180-е сут паренхима печени состояла из печеночных долек обычного строения, разделенных небольшими прослойками соединительной ткани (рисунок 91), а каждая печеночная долька – из печеночных пластинок (балок), печеночных триад (междольковая артерия, междольковая вена и желчный проток), синусоидных капилляров и центральной вены (рисунок 92).

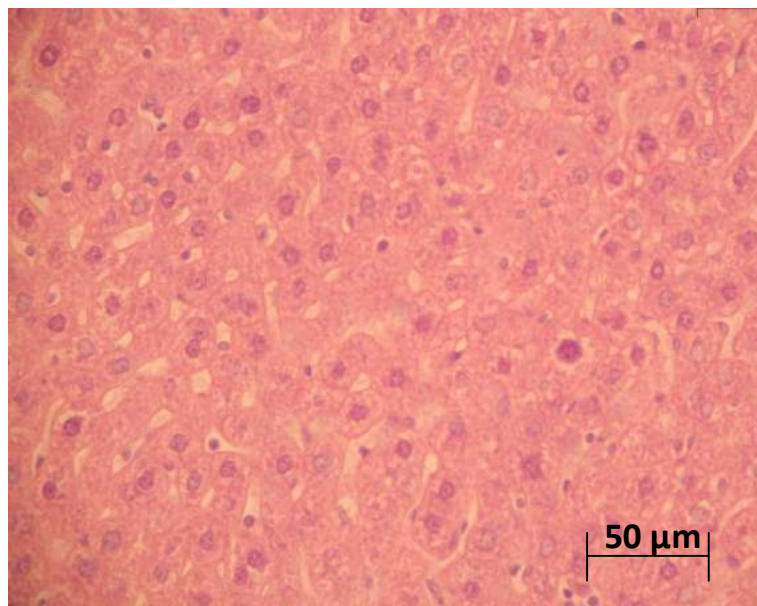


Рисунок 91 – Печень крысы на 180-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Окр. гематоксилином и эозином.

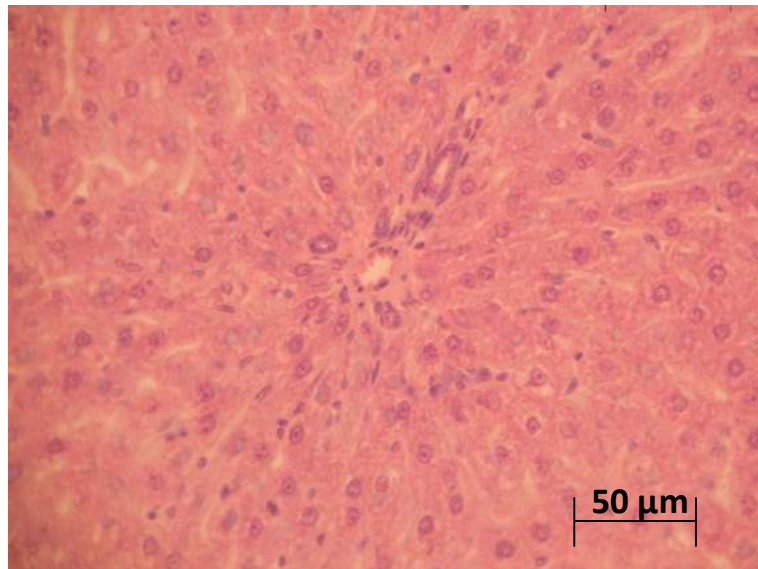


Рисунок 92 – Печень крысы на 180-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Окр. гематоксилином и эозином.

Печеночные пластинки были представлены двумя слоями гепатоцитов между которыми находится желчный капилляр. Сами гепатоциты имеют полигональную форму с центрально расположенным ядром и неоднородной окраской цитоплазмы. Структура хроматина в ядре сетчатая, мелкодисперсная. Ядерная мембрана сохранена и имеет четкие контуры. Цитоплазма гепатоцитов однородная, окрашена с мелкой, пылевидной зернистостью (рисунок 93).

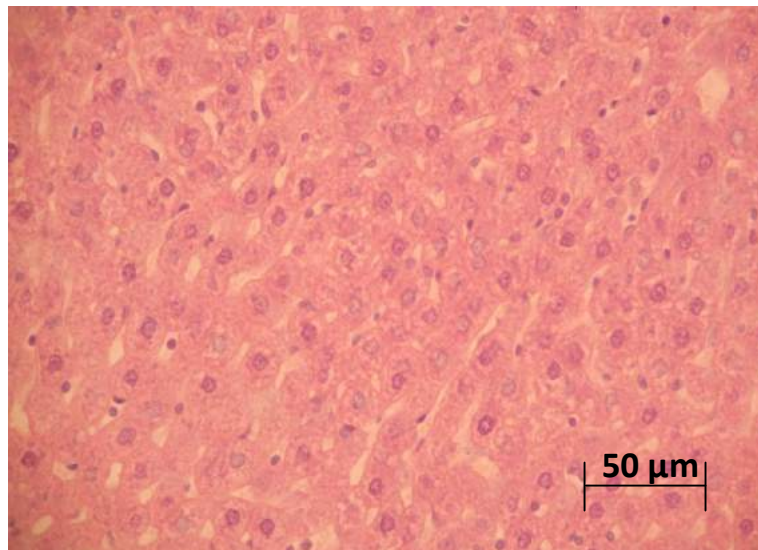


Рисунок 93 – Печень крысы на 180-е сут после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Окр. гематоксилином и эозином.

При анализе независимых данных с использованием критерия Крускала-Уоллиса было выявлено, что все морфометрические показатели имеют статистически значимые различия во всех группах ( $p < 0,05$ ). Требовалось провести попарный анализ групп методом Манна-Уитни. Проводили анализ исследуемых групп и группы контроля.

При сравнении группы с коагуляцией «неравновесной плазмой» на 3-и сут, 5-е сут с группой контроля выявлено статистически значимое различие по всем морфометрическим показателям ( $p < 0,05$ ). Такой показатель как удельный объем двухядерных гепатоцитов, уменьшился по сравнению с группой контроля на 61,5% и 37,4%, соответственно, однако остальные показатели увеличились в десятки и сотни раз.

К 7-м сут при сравнении показателей группы с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» с контрольной группой выявлены достоверно статистически значимые различия по всем критериям ( $p < 0,05$ ), кроме удельного объема двухядерных гепатоцитов ( $p > 0,05$ ). Все показатели патологического процесса достоверно увеличились в сравнении с показателями группы контроля (таблица 6).

Анализ морфологических показателей экспериментальной группы на 14-е сутки, 30-е сут с показателями контроля выявил достоверное статистически значимые ( $p < 0,05$ ) различия по всем морфометрическим критериям, сохраняется выраженное увеличение показателей (таблица 6).

При сравнении морфологических данных группы с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» на 90-е сут и группы контроля выявлены статистически значимые различия по всем морфометрическим показателям –  $p = 0,006$  (для показателей «удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии», «плотность инфильтрата», «удельный объем соединительной ткани») и  $p = 0,015$  (для показателя «удельный объем гепатоцитов с некротическими изменениями»), показатели остаются повышенными, а плотность инфильтрата достигает своего максимального значения и составляет 1297 [1083; 1665,5]. Такой

показатель, как «объем двухядерных гепатоцитов» не имеет статистически значимых различий ( $p = 0,268$ ).

К 180-м сут в данной экспериментальной серии отмечается незначительное снижение значений изученных показателей по сравнению с предыдущими сроками, однако в сравнении с группой контроля выявлены статистически значимые различия по таким показателям, как «число гепатоцитов с признаками дистрофии», «плотность инфильтрата» и «удельный объем соединительной ткани» ( $p = 0,006$ ). Показатели «объем двухядерных гепатоцитов» и «удельный объем гепатоцитов с некротическими изменениями» не имеют статистически значимых различий:  $p = 0,430$  и  $p = 0,114$  соответственно.

### 3.15. Динамическое магнитно-резонансное исследование с контрастным усилением печени в группе с резекцией печени и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой»

При магнитно-резонансной томографии на 90-е сут после оперативного удаления левой доли печени крыс с коагуляцией «неравновесной плазмой» выявлено снижение накопления препарата «Примовист» в печени (рисунок 94). На фрагменте (рисунок 95 А) показана контрольная группа, 12-я минута от начала введения парамагнетика. Хорошо видно накопление препарата в области печени и частичный выход парамагнетика в просвет кишечника. Контрастный эффект от области почек менее выражен и едва определяется контрастное усиление полости мочевого пузыря. К 90-м суткам после оперативного вмешательства (рисунок 95 Б) наблюдается незначительное снижение контрастного эффекта от области печени, что сочетается с повышением контрастности от области почек и с достаточно интенсивным контрастным усилением полости мочевого пузыря. Также отсутствует контрастное усиление просвета тонкого кишечника.



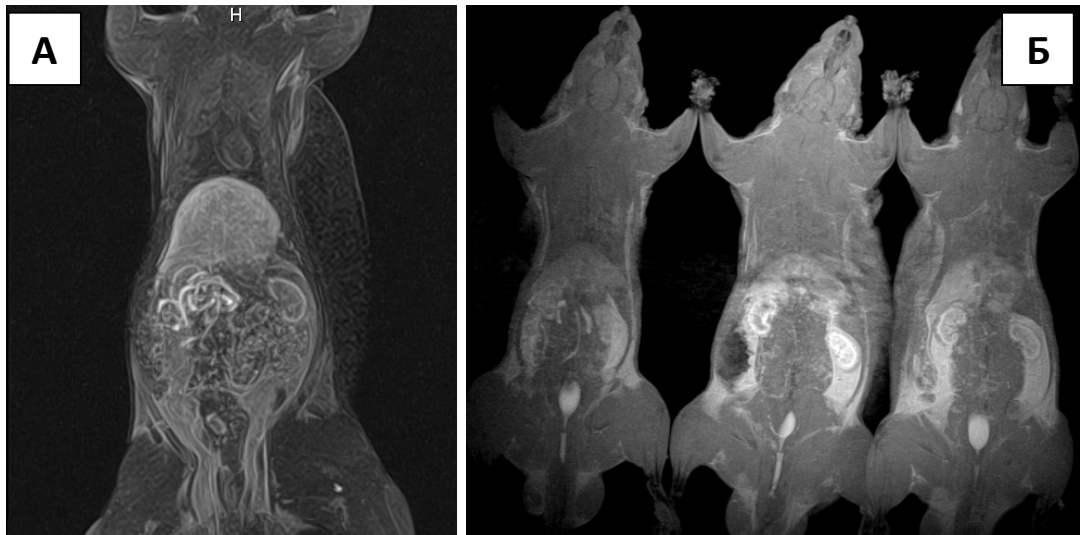


Рисунок 94 – Фрагмент МРТ оперированных крыс с коагуляцией «неравновесной плазмой»: А) – реформация проекций максимальных интенсивностей FFE3D накопления Gd-EOB-DTPA на 12 мин до оперативного вмешательства, Б) исходные 3D FFE изображения после оперативного вмешательства на 90-е сут на 12 минуте.

К 180-м сут после оперативного удаления участка левой доли с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» при введении препарата «Примовист» на 12-й мин. заметно усилился контрастный эффект от области почек при сохраняющемся, достаточно интенсивном, контрастном усилении полости мочевого пузыря (рисунок 95).

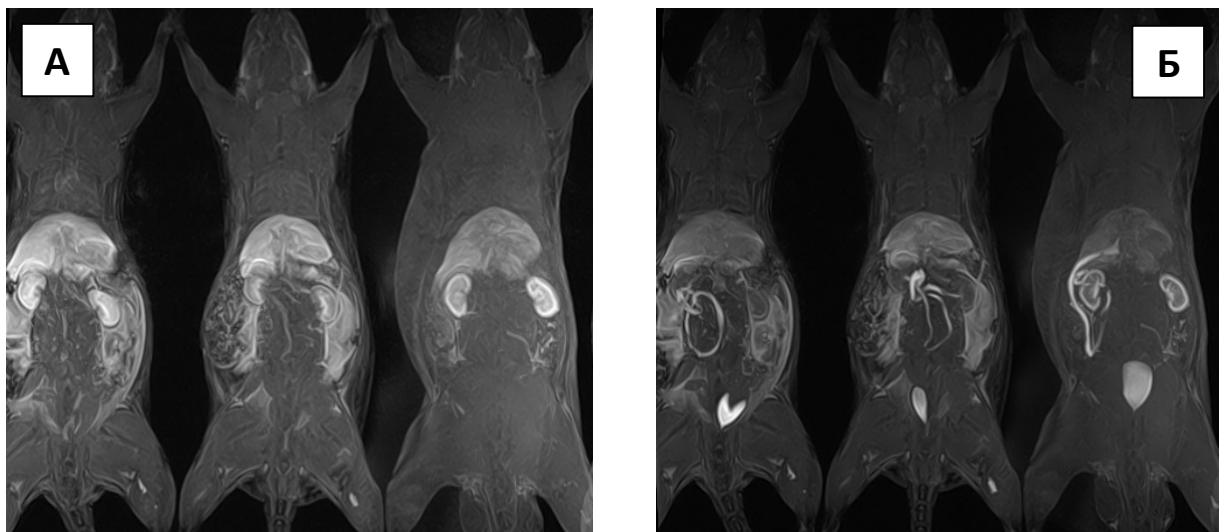


Рисунок 95 – МРТ крыс после оперативного вмешательства на печени, 180-е сут. Реформация проекций максимальных интенсивностей FFE3D накопления Gd-EOB-DTPA: а) на 5 мин после введения, б) на 12 мин.

При статистическом анализе данных магнитно-резонансной томографии (таблица 7, рисунок 96) выявлены значимые различия ( $p < 0,05$ ). По результатам критерия Крускала-Уоллиса можно сказать, что все три группы неоднородны и имеют статистически значимые различия по значению CNR на 26-й мин ( $p = 0,037$ ) (таблица 7, рисунок 96).

По результатам парных анализов (критерий Манна-Уитни) делаем вывод, что на уровне значимости  $p < 0,05$  различаются значения CNR в группе контроля и оперированных крыс на 180-е сут после операции на 1-ой, 21-ой и 26-ой минутах ( $p = 0,047$ ), где CNR увеличился в группе на 180-е сут после оперативного вмешательства (таблица 7). Так же имеются различия между группами крыс после операции на 90-е и на 180-е сут по значению CNR на 12-ой ( $p = 0,028$ ), 21-ой ( $p = 0,047$ ) и 26-ой ( $p = 0,016$ ) мин. Показатель CNR также увеличился в группе на 180-е сут после оперативного вмешательства (таблица 7).

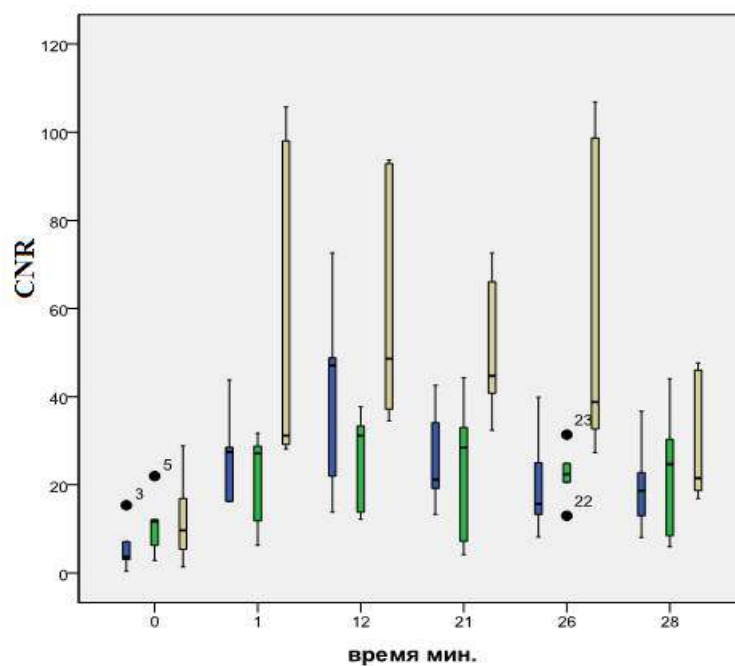


Рисунок 96 – Зависимость коэффициента CNR от времени при динамическом магнитно-резонансном исследовании оперированных крыс с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» при резекции печени. Контрастный препарат «Примовист». ◆ – показатель в группе контроля; ◆ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой» на 90-е сут; ◆ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой» на 180-е сут;

### 3.16. Показатели общего анализа крови экспериментальных животных (кроликов) в группе с резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой»

Взятие крови осуществляли в группе с обработкой раневой поверхности селезенки до 30-х сут (таблица 2).

В группе экспериментальных животных наблюдали небольшое снижение общего количества эритроцитов и концентрации гемоглобина после проведения операции и до 7-х сут эксперимента. Так, содержание гемоглобина в крови кроликов к 7-м сут достигало 100 г/л [113; 117], что было на 11 % ниже контрольных значений (112 [110; 112] г/л,  $p = 0,016$ ) (таблица 3).

Количество эритроцитов также было в этот период снижено, однако всё же не выходило за границы аналогичного значения в контрольной группе животных. Отмечалось снижение общего количества лейкоцитов в крови кроликов вплоть до 7-х сут эксперимента, когда изученный показатель достигал своего минимального значения и был на 32 % ниже, чем в контроле (10,4 [8,5; 12,5] Г/л против 15,3 [14,1; 17,1] Г/л, соответственно;  $p = 0,016$ ). При этом наблюдалось перераспределение в соотношении отдельных видов лейкоцитов. К 3-м сут эксперимента в крови у экспериментальных животных произошло увеличение относительного и абсолютного количества сегментоядерных нейтрофилов на 124 и 88 % соответственно ( $p = 0,016$ ), относительного количества моноцитов на 88 % ( $p = 0,016$ ) при снижении относительного и абсолютного количества лимфоцитов на 32 и 44 % соответственно ( $p = 0,016$ ). К 7-м сут наблюдения относительное количество сегментоядерных нейтрофилов в крови прооперированных животных было на 59 % выше контрольных показателей ( $p = 0,016$ ), абсолютное количество лимфоцитов на 52 % ниже соответствующих показателей в контрольной группе ( $p = 0,016$ ). Плавное снижение относительного и абсолютного количества эозинофилов в крови у кроликов из опытной группы, достигало своих минимальных значений к 7-м сут наблюдения, когда эти



изученные показатели были на 75 и 80 % ниже контрольных ( $p = 0,016$ ) (таблица 3).

### 3.17. Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии в группе с резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой»

Исследуя биохимические показатели крови (таблица 9) в группе с резекцией селезенки и последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой», определялись только показатели гемокоагулографии.

При статистическом анализе независимых данных с использованием критерия Крускала-Уоллиса выявлено, что такие гемокоагулографические показатели крови, как протромбиновое время, МНО, не имеют статистически значимых различий во всех группах ( $p > 0,05$ ). Для остальных показателей требуется провести попарный анализ групп методом Манна-Уитни (таблица 9).

К 5-м сут отмечается достоверное ( $p < 0,05$ ) повышение фибриногена до 3,5 [3,37;3,5]. В остальные контрольные точки данный показатель не имел статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ) (таблица 9).

Для АЧТВ требуется провести попарный анализ групп методом Манна-Уитни. Проводится анализ исследуемых групп и группы контроля. Статистически значимые различия по сравнению с группой контроля имеются на 90-е сутки ( $p = 0,043$ ) и 180-е сутки ( $p = 0,046$ ), показатели незначительно уменьшились по сравнению с нормой (таблица 9).

Таблица 9

Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии после остановки кровотечения «неравновесной плазмой» при резекции селезенки у кроликов, (Me[Q<sub>0,25</sub>Q<sub>0,75</sub>]).

Показатели	Показатели группы контроля	Сроки исследования, сутки						
		3-и	5-е	7-е	14-е	30-е	90-е	180-е
Фибриноген (г/л)	2,2 [1,7;2,3]	1,5 [1,4; 1,65]	3,5* [3,3; 3,5]	2,00 [1,70; 2,15]	1,50 [1,35; 1,50]	2,50 [2,37; 2,50]	2,00 [1,95; 2,05]	1,60 [1,75; 1,77]
АЧТВ (сек)	19,0 [19,0; 19,5]	20 [19; 20,5]	22,0 [21,0; 22,5]	20,0 [19,5; 20,5]	20,0 [18,0; 20,5]	21,0 [20,5; 21,5]	18,0* [17,5; 18,0]	15,0* [13,5; 15,5]
Протромбиновое время (сек)	10,0 [10,0; 10,5]	11 [10; 5;11]	10,0 [10,0; 10,5]	10,0 [10,0; 10,5]	12,0 [11,5; 12,5]	11,0 [10,7; 11,0]	11,0 [10,5; 11,0]	11,0 [10,5; 11,5]
МНО	1,00 [1,00; 1,06]	1,12 [1,06; 1,12]	1,00 [1,00; 1,06]	1,00 [1,00; 1,06]	1,24 [1,18; 1,30]	1,12 [1,12; 1,12]	1,12 [1,06; 1,12]	1,12 [1,06; 1,18]

\* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;

### 3.18. Тканевые особенности селезенки экспериментальных животных в группе с резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой»

В препарате через 60 мин после воздействия выявлялась паренхима и строма органа. Строма была представлена ретикулярной тканью, в которой идентифицировались ретикулярные клетки и ретикулярные волокна. В паренхиме органа определялась красная и белая пульпа. Белая пульпа была представлена лимфатическими фолликулами. В каждом узелке определялся центр размножения и периферическая часть. В центре размножения определялись преимущественно лимфобласты и пролимфоциты. В периферической части идентифицировались зрелые малые лимфоциты. Центральная артерия локализовалась эксцентрично, в ней выявлялись морфологические признаки полнокровия с краевым стоянием лейкоцитов, нередко идентифицировался периваскулярный отек (рисунок 97).



Рисунок 97 – Селезенка кролика через 60 мин после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Центральная артерия (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

На 3-и сут в гистологическом препарате селезенки определялось разрушение красной и белой пульпы за счет множественных отеков. Отечная жидкость бледно-розового цвета локализовалась между фолликулами (рисунок 98), а также между синусоидными капиллярами красной пульпы (рисунок 99). Красная пульпа в основном была представлена ретикулярной тканью с большим количеством макрофагов, эллипсоидов (комплекс макрофагов и лимфоцитов), разрушенных эритроцитов.

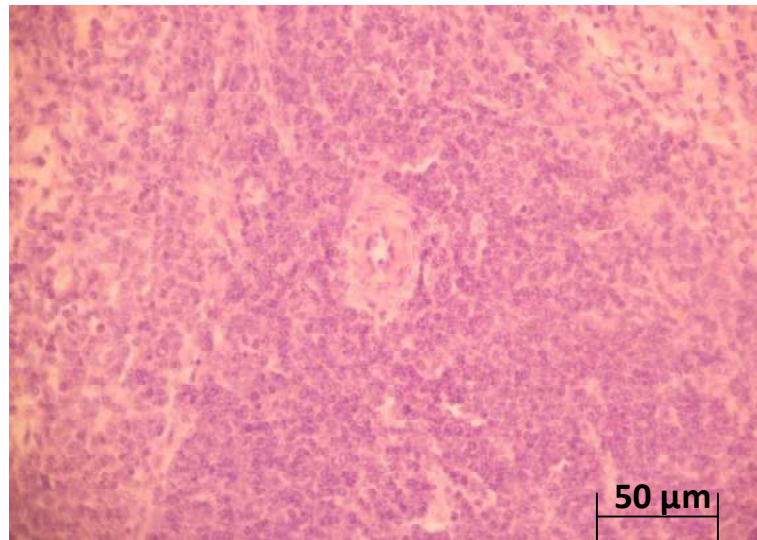


Рисунок 98 – Селезенка кролика на 3-и сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Патологические изменения в структуре красной и белой пульпы селезенки. Скопление отечной жидкости в красной пульпе селезенки. Окр. гематоксилином-эозином.

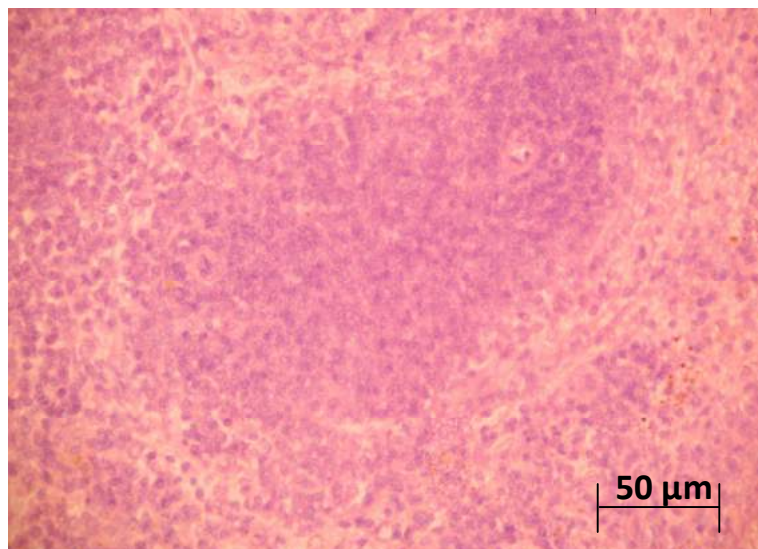


Рисунок 99 – Селезенка кролика на 3-и сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Патологические изменения в структуре красной и белой пульпы селезенки. Скопление отечной жидкости в красной пульпе селезенки. Окр. гематоксилином-эозином.

В белой пульпе определялись очаги кровоизлияний, в красной пульпе – большое количество гемосидерофагов. Центральная вена в фолликулах селезенки расширена, в некоторых участках выявлялся периваскулярный отек (рисунок 100).

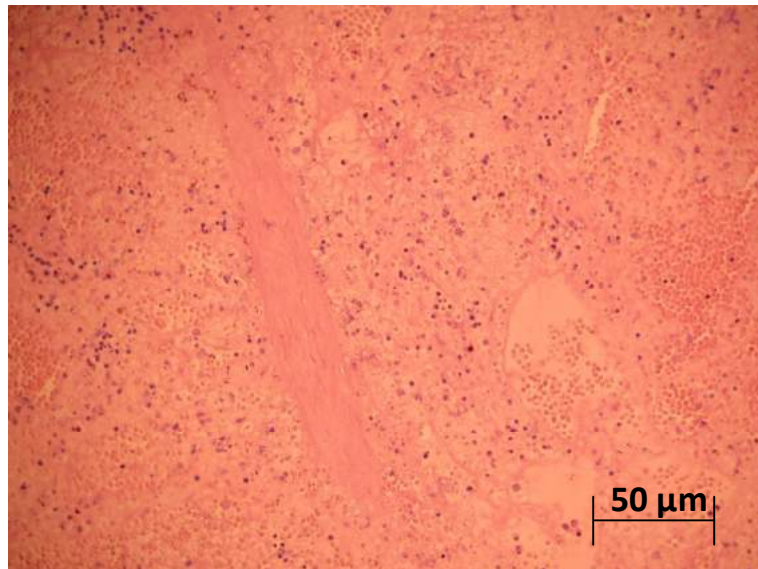


Рисунок 100 – Селезенка кролика на 3-и сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Патологические изменения в структуре красной и белой пульпы селезенки. Скопление отечной жидкости в красной пульпе селезенки. Окр. гематоксилином-эозином.

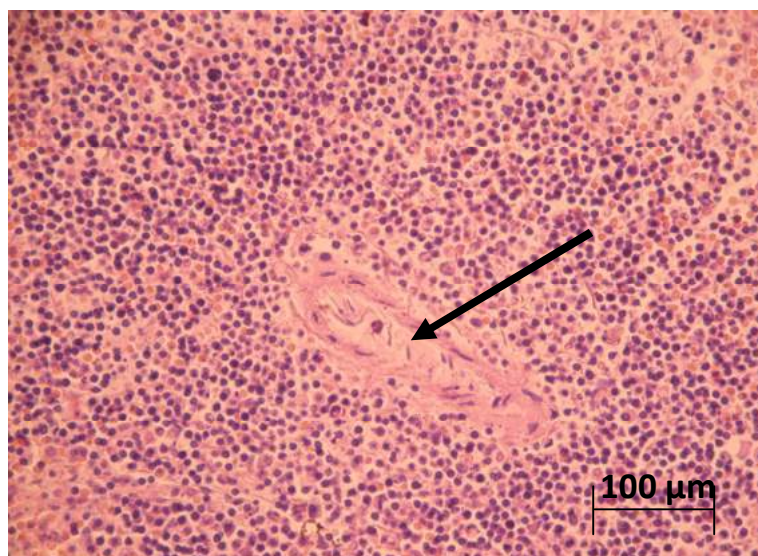


Рисунок 101 – Селезенка кролика на 3-и сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширение центральной вены (указано стрелкой) в фолликулах селезенки. Окр. гематоксилином-эозином.

Вокруг центральной вены определялись единичные разволокненные коллагеновые волокна (рисунок 102), сама центральная вена расширена (рисунок 101).



Коллагеновые волокна соединительнотканной капсулы и трабекул селезенки набухшие, разволокненные за счет подкапсулярного и перитрабекулярного отека (рисунок 103).

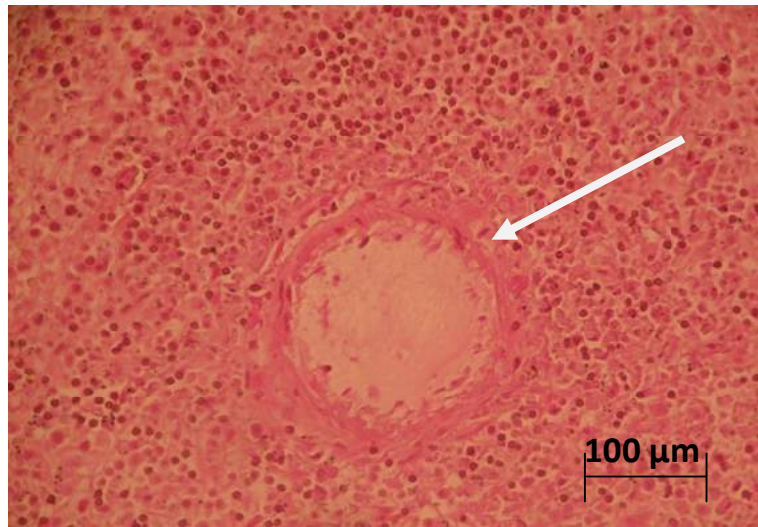


Рисунок 102 – Селезенка кролика на 3-и сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Значительное расширение центральной вены белой пульпы селезенки с небольшим количеством коллагеновых волокон вокруг (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

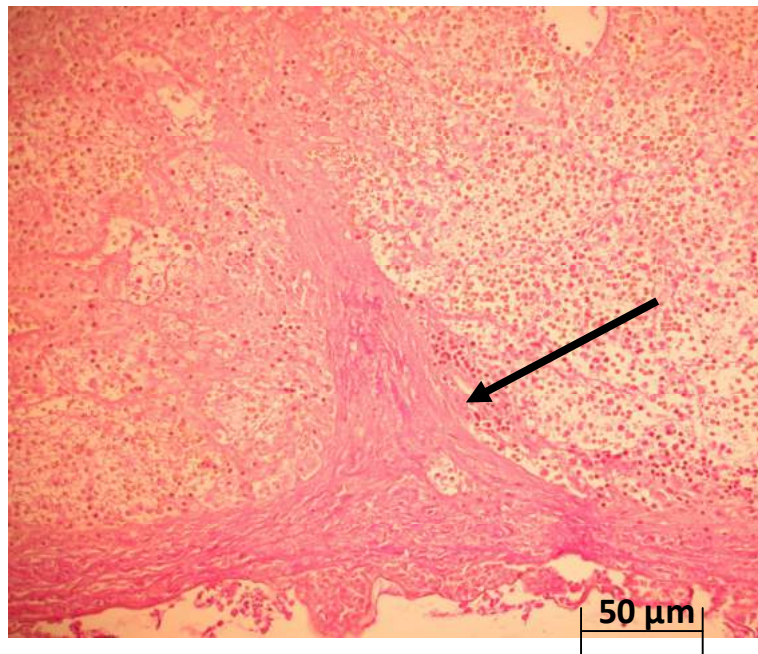


Рисунок 103 – Селезенка кролика на 3-и сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Разволокнение коллагеновых волокон соединительнотканной капсулы и трабекул (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

В гистологическом препарате на 5-е сут выявлено изменение структуры красной и белой пульпы за счет выраженного отека. В белой пульпе отечная жидкость локализовалась вокруг лимфатических фолликулов (рисунок 104). В некоторых участках органа выявлялось выраженное расширение центральной артерии, эндотелиоциты в ней набухшие, в некоторых артериях определялся стаз эритроцитов (рисунок 105). Гладкомышечные клетки в центральной артерии селезенки гипертрофированные с правильными округлыми ядрами.

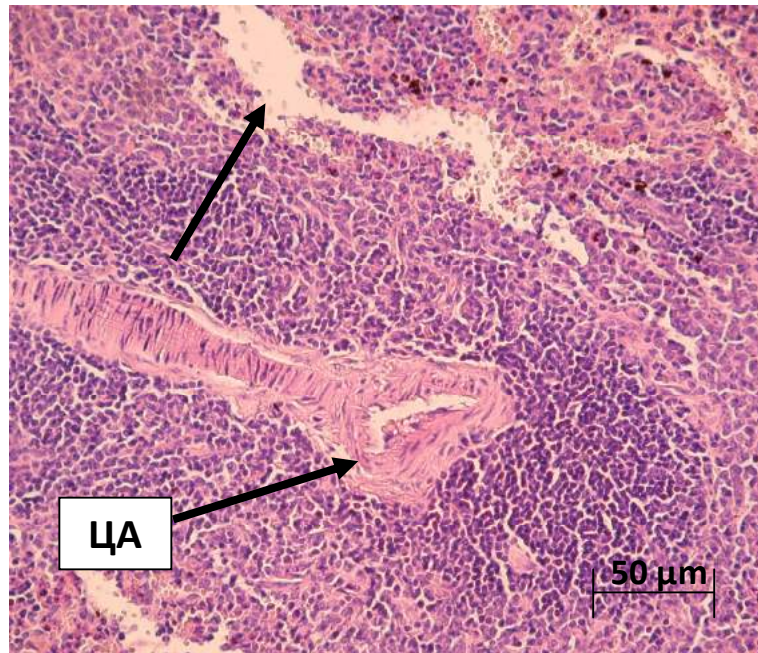


Рисунок 104 – Селезенка кролика на 5-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Перифолликулярная локализация отечной жидкости в белой пульпе селезенки (указано стрелкой). Расширение центральной артерии фолликула селезенки (указано стрелкой). ЦА – центральная артерия. Окр. гематоксилином-эозином.



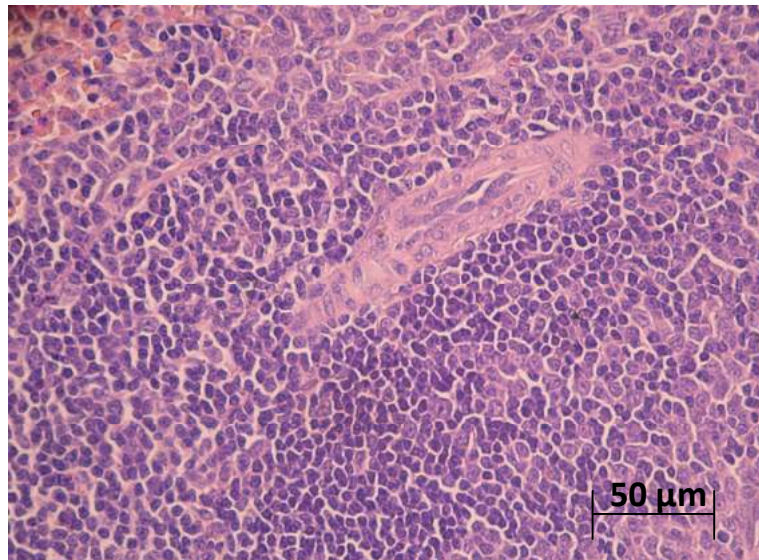


Рисунок 105 – Селезенка кролика на 5-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширение просвета, набухание эндотелиальных клеток и укрупнение ядер гладких миоцитов в центральной вене селезенки. Окр. гематоксилином-эозином.

Вокруг центральной артерии местами определялись небольшие прослойки соединительной ткани (рисунок 106). В части лимфатических фолликулов, напротив, просвет центральной артерии сужен (рисунок 107).

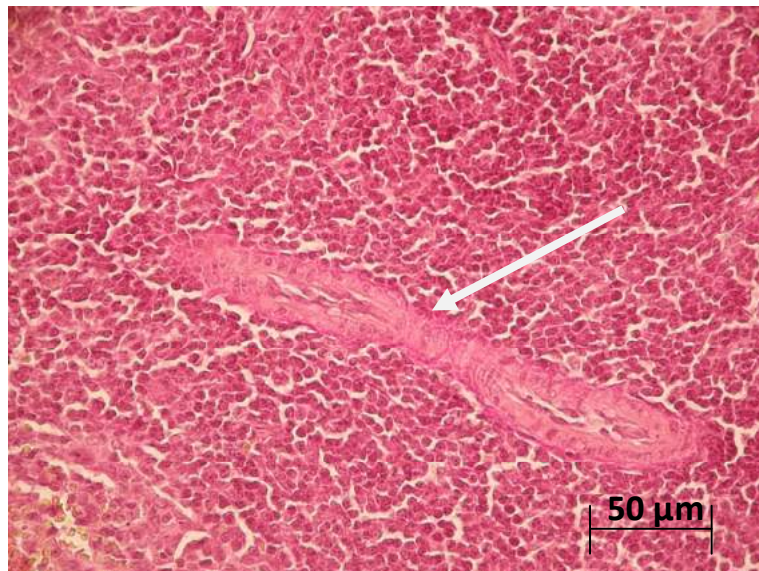


Рисунок 106 – Селезенка кролика на 5-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Небольшие пучки коллагеновых волокон локализованные вокруг центральной артерии (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.



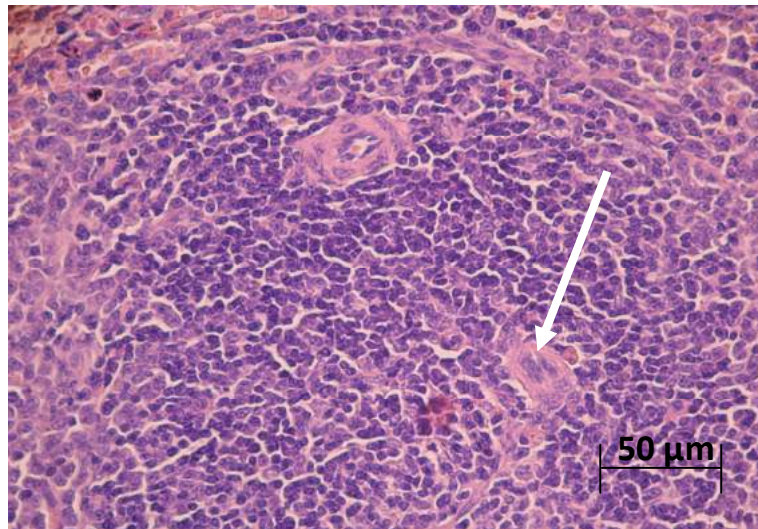


Рисунок 107 – Селезенка кролика на 5-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Сужение и полная окклюзия просвета центральной артерии селезенки (указано стрелкой). Окр. гематоксилином-эозином.

В красной пульпе синусоидные капилляры были расширены и полнокровны, в большом количестве определялись макрофаги и гемосидерофаги (рисунок 108). В красной пульпе, в большинстве случаев, выявлялись крупные очаги разрушенных эритроцитов. Коллагеновые волокна капсулы селезенки были разволокнены, трабекулы расширены за счет отека (рисунок 109).

К 7-м сут в селезенке отмечались умеренные признаки отека, что нарушает типичное строение красной и белой пульпы. Некоторые лимфатические фолликулы в белой пульпе были увеличены за счет гиперплазии лимфобластов и пролимфоцитов герминативного центра (рисунок 110). Капсула селезенки утолщена за счет разволокнения коллагеновых волокон (рисунок 111).

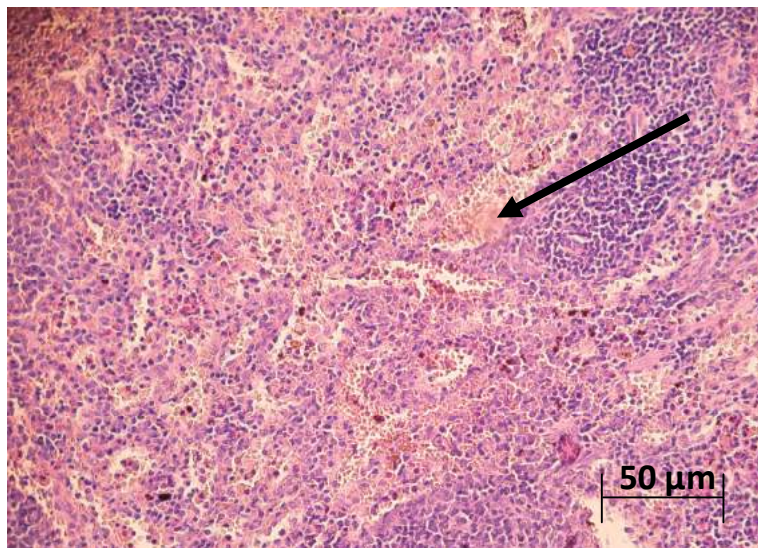


Рисунок 108 – Селезенка кролика на 5-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширение и полнокровие синусоидных капилляров (указано стрелкой). Большое количество гемосидерофагов. Окр. гематоксилином-эозином.



Рисунок 109 – Селезенка кролика на 5-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Отек и разволокнение коллагеновых волокон капсулы селезенки (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.



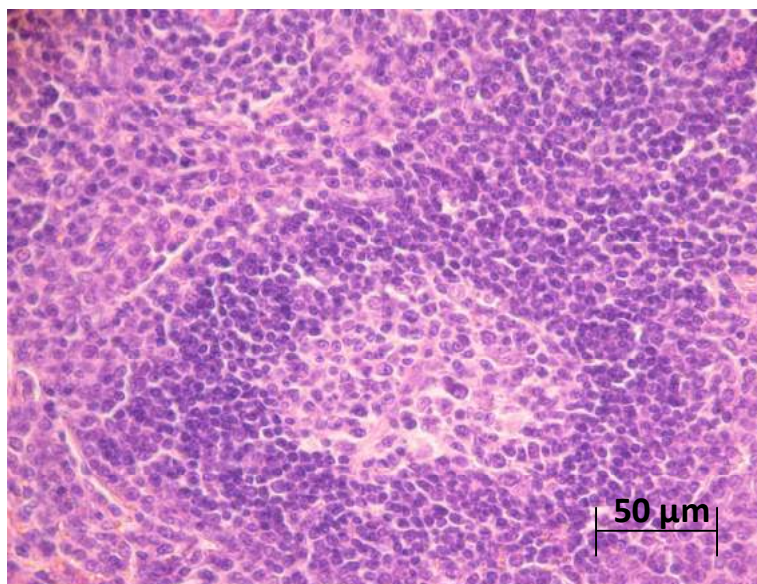


Рисунок 110 – Селезенка кролика на 7-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Увеличение размера фолликула в белой пульпе селезенки за счет расширения его герминативного центра. Окр. гематоксилином-эозином.

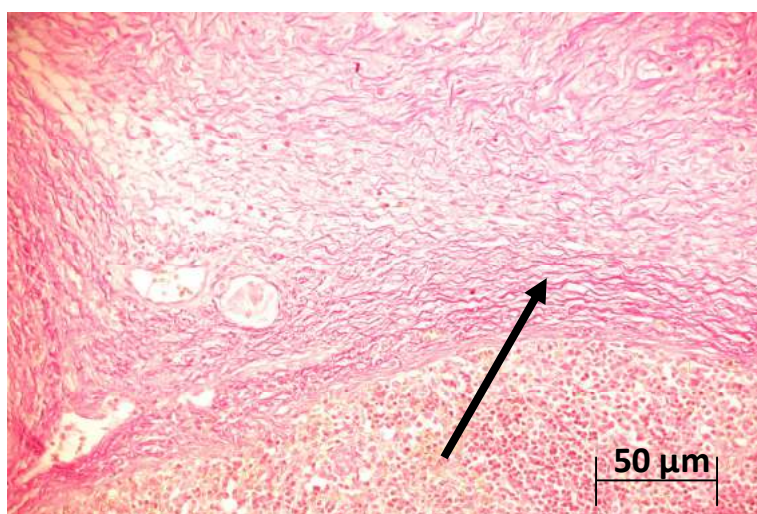


Рисунок 111 – Селезенка кролика на 7-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Разволоknение коллагеновых волокон соединительно-тканной капсулы селезенки, отек (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

На 14-е сут в препарате сосудистые изменения были выражены слабо, при этом касались преимущественно, синусоидных капилляров. В белой пульпе между фолликулами определялось небольшое количество отечной жидкости.

Многие лимфатические фолликулы были увеличены за счет расширения герминативного центра (рисунок 112). Вокруг центральной артерии селезенки располагались небольшие пучки коллагеновых волокон (рисунок 113). В красной пульпе синусоидные капилляры расширены, между ними определялись небольшие пучки коллагеновых волокон, между которыми располагались в большом количестве сегментоядерные нейтрофилы (рисунок 114).

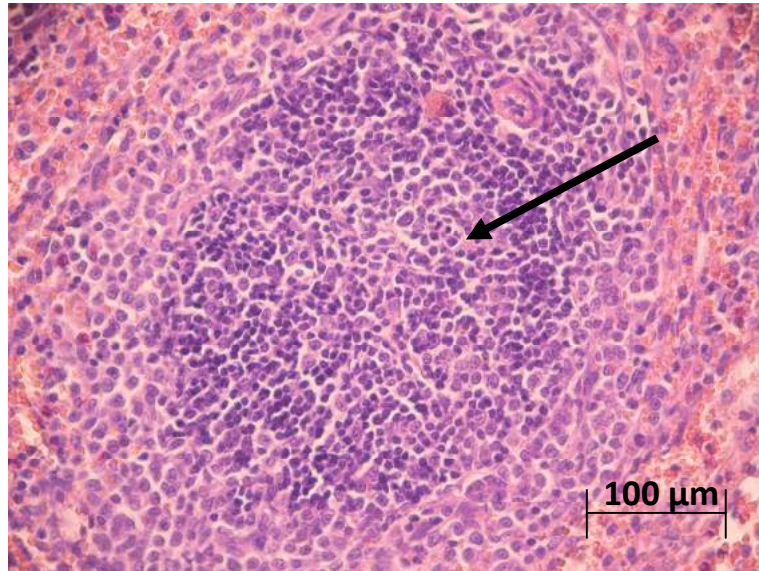


Рисунок 112 – Селезенка кролика на 14-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Расширение герминативного центра в фолликулах селезенки (указано стрелкой). Незначительный перифолликулярный отек. Окр. гематоксилином-эозином.

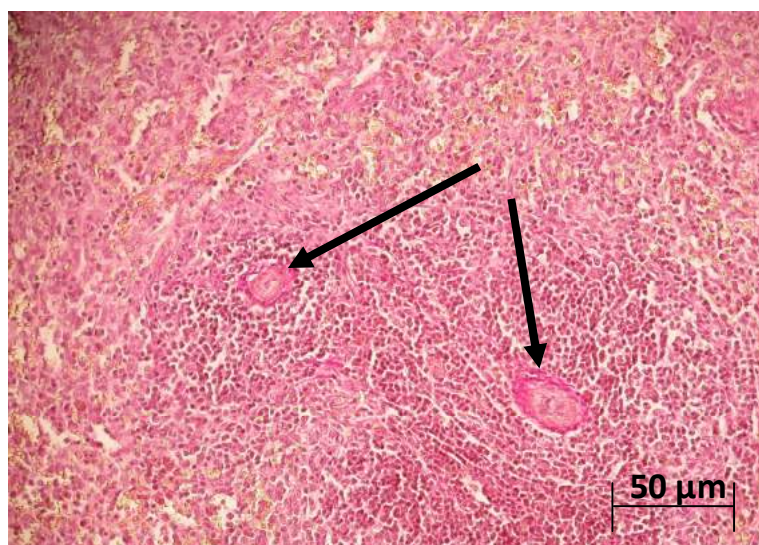


Рисунок 113 – Селезенка кролика на 14-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Разрастание соединительной ткани в белой пульпе



селезенки с преимущественной локализацией вокруг центральной вены с полным стенозом ее просвета (указано стрелками). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

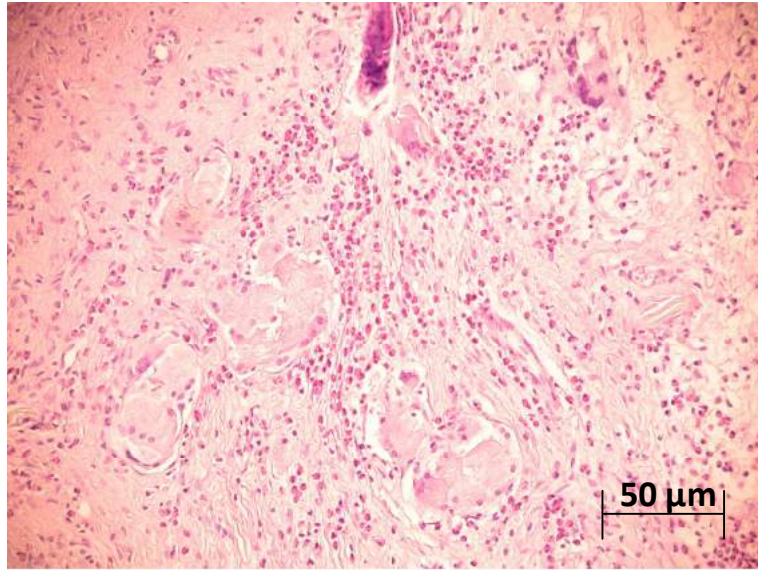


Рисунок 114 – Селезенка кролика на 14-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Небольшие пучки коллагеновых волокон в красной пульпе селезенки. Сегментоядерные нейтрофилы. Окр. гематоксилином-эозином.

Утолщение соединительнотканной капсулы селезенки происходило, преимущественно, за счет отека и разволокнения коллагеновых волокон (рисунок 115).

К 30-м сут в препарате сохранялись морфологические изменения сходные с предыдущим микропрепаратом. В белой пульпе между фолликулами определялось небольшое количество отечной жидкости. Многие лимфатические фолликулы были увеличены за счет расширения герминативного центра.

Вокруг центральной артерии селезенки располагались небольшие пучки коллагеновых волокон, а ее гладкомышечные клетки гипертрофированы (рисунок 116).

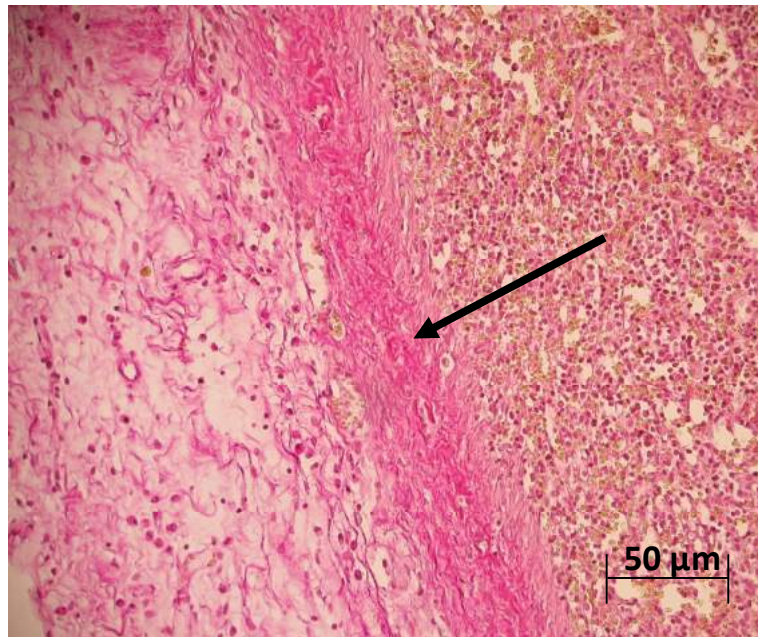


Рисунок 115 – Селезенка кролика на 14-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Отек и разволокнение коллагеновых волокон в соединительнотканной капсуле селезенки (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

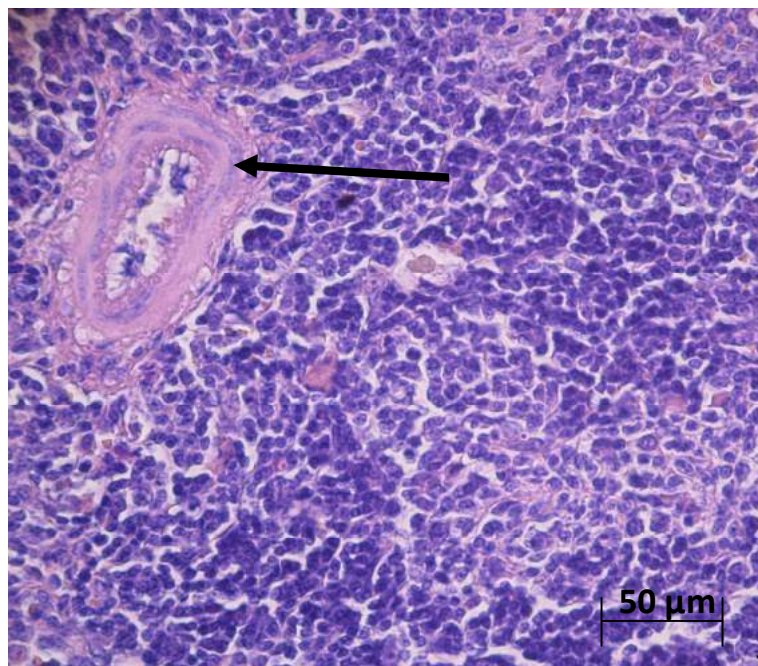


Рисунок 116 – Селезенка кролика на 30-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Увеличение герминативного центра в фолликуле селезенки. Расширение центральной вены, гипертрофия ее гладкомышечных клеток (указано стрелкой). Окр. гематоксилином-эозином.



В красной пульпе синусоидные капилляры были расширены, между ними определялись небольшие пучки коллагеновых волокон (рисунок 117).

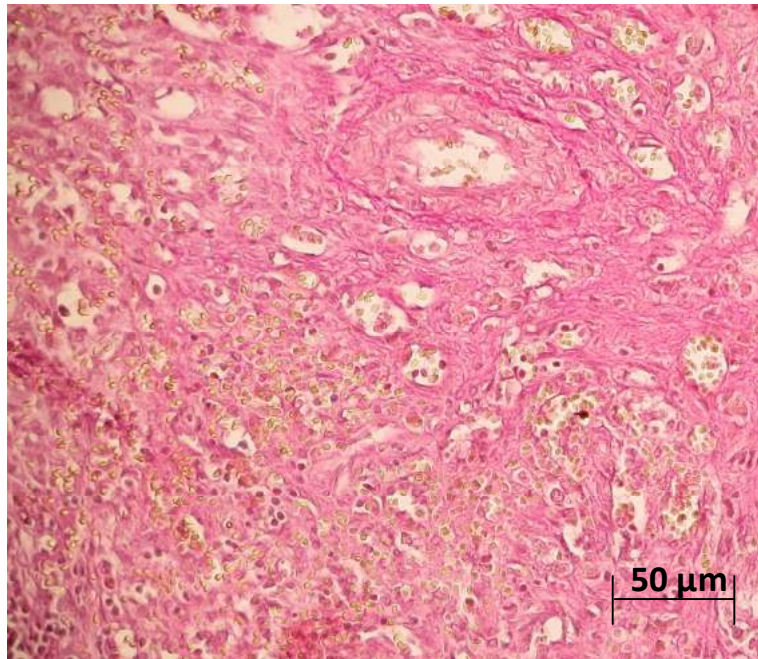


Рисунок 117 – Селезенка кролика на 30-е сут остановки кровотока «неравновесной плазмой». Расширение синусоидных капилляров, разрастание соединительной ткани в красной пульпе селезенки. Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

Наблюдалось выраженное разволокнение коллагеновых волокон соединительнотканной капсулы селезенки (рисунок 118).

На 90-е сут в структуре селезенки наблюдалось полное разрушение красной и белой пульпы, нет границ между этими двумя гистологическими структурами. В белой пульпе невозможно было идентифицировать фолликулы, а лимфоциты и плазматические клетки расположены диффузно, формировали тонкие мягкотные тяжи (рисунок 119, 120).

В красной пульпе отмечалось большое количество гемосидерофагов, а также разрушенных эритроцитов. В белой и красной пульпе определяется диффузный фиброз, а также можно было идентифицировать в большом количестве соединительную ткань в капсуле селезенки с выраженным ее утолщением (рисунок 121).

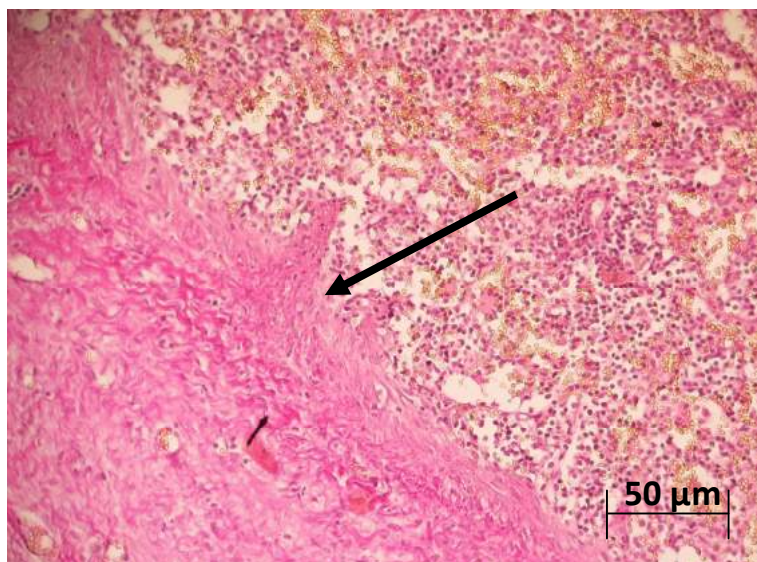


Рисунок 118 – Селезенка кролика на 30-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Разволоknение коллагеновых волокон соединительнотканной капсулы селезенки (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

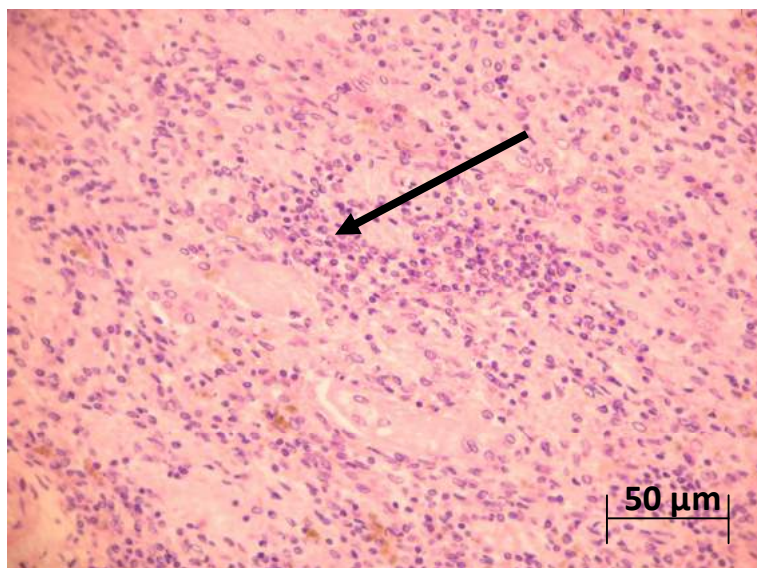


Рисунок 119 – Селезенка кролика на 90-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Диффузно расположенные лимфоциты и плазматические клетки (указано стрелкой) . Окр. гематоксилином-эозином.

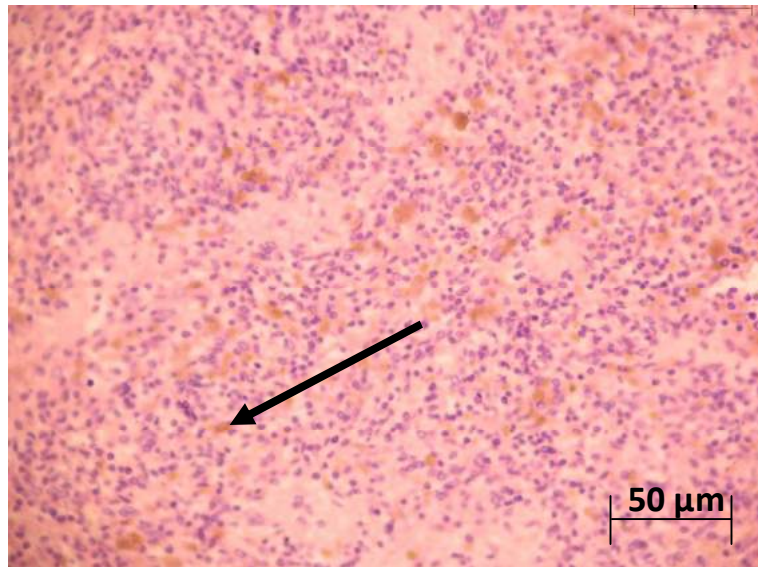


Рисунок 120 – Селезенка кролика на 90-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Определяются гемосидерофаги (указано стрелкой) и разрушенные эритроциты. Окр. гематоксилином-эозином.

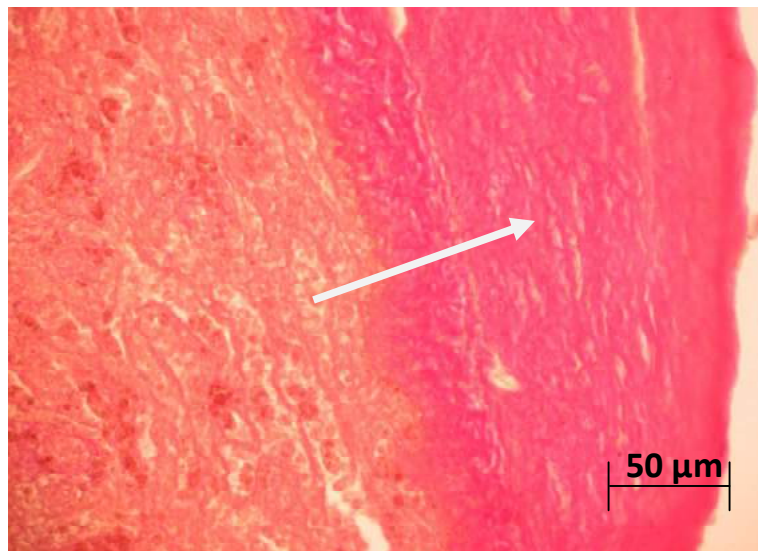


Рисунок 121 – Селезенка кролика на 90-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Большое количество соединительной ткани в капсуле (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

К 180-м сут остановки кровотечения «неравновесной плазмой» гистологическое строение селезенки соответствовало типичному. В ней можно было выделить красную и белую пульпу. Белая пульпа представлена лимфоидными фолликулами, в которых можно идентифицировать центр размножения (герминативный центр) и периферическую часть (рисунок 122).



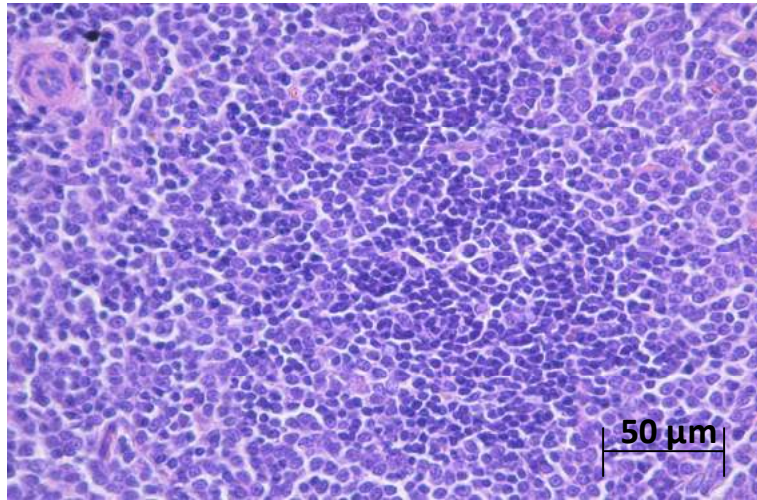


Рисунок 122 – Селезенка кролика на 180-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Белая пульпа селезенки (сплошь). Лимфоидный фолликул типичного строения. Окр. гематоксилином-эозином.

Центральная артерия в фолликуле имела типичное строение и располагалась эксцентрично. Красная пульпа содержала большое количество синусоидных капилляров, разрушенных эритроцитов, а также скопления макрофагов (рисунок 123). Соединительнотканная капсула к 180-м сут поле коагуляции «неравновесной плазмой» покрывала селезенку снаружи и имела типичное строение (рисунок 124).

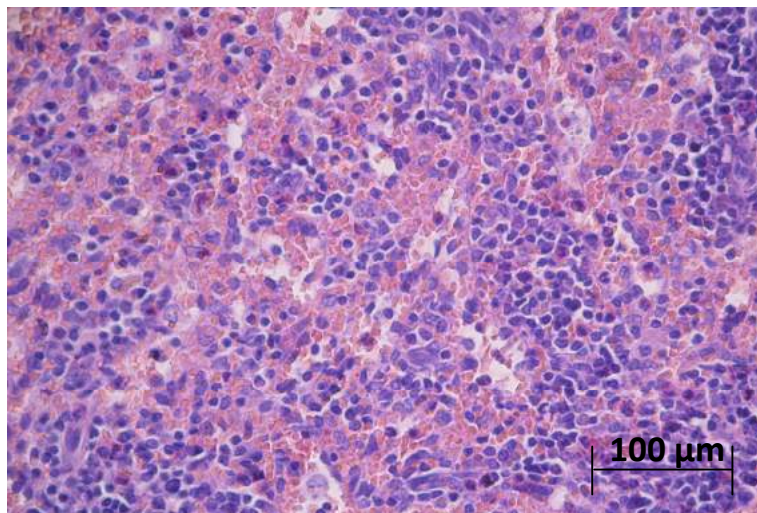


Рисунок 123 – Селезенка кролика на 180-е сут после остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Красная пульпа селезенки. Синусоидные капилляры. Скопление макрофагов, лимфоцитов, плазматических клеток. Окр. гематоксилином-эозином.

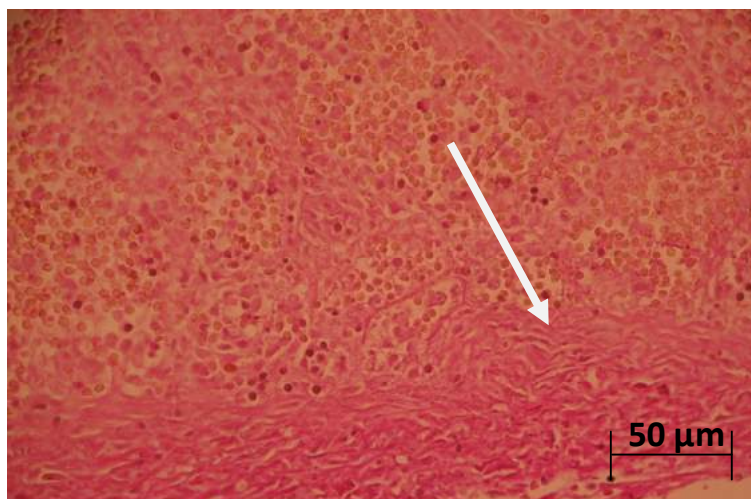


Рисунок 123 – Селезенка кролика на 180-е сут после остановки кровотока «неравновесной плазмой». Соединительнотканная капсула селезенки типичного строения (указано стрелкой). Окр. пикрофуксином по Ван-Гизону.

Таблица 10

Тканевые показатели патологических процессов селезенки после резекции и остановки кровотока «неравновесной плазмой», (Me[Q<sub>0,25</sub>Q<sub>0,75</sub>])

Показатель Сроки	УО белой пульпы (мм <sup>3</sup> /мм <sup>3</sup> )	УО красной пульпы (мм <sup>3</sup> /мм <sup>3</sup> )	УО соединительной ткани (мм <sup>3</sup> /мм <sup>3</sup> )	УО сосудов (мм <sup>3</sup> /мм <sup>3</sup> )
Контроль	64,1 [60,7;73,5]	73,35 [68,7;83,3]	0,0* [0,0;0,0]	4,32 [3,28;5,26]
3-и сут	34,11* [31,48;41,40]	46,74* [44,14;54,04]	3,27* [2,51;9,34]	12,25* [9,26;14,48]
5-е сут	41,095* [38,22;44,34]	34,12* [29,69;44,65]	9,42* [7,79;18,0]	9,81* [8,26;11,58]
7-е сут	60,33 [56,75;65,83]	15,88* [12,24;19,14]	16,065* [13,16;18,25]	9,49* [7,13;12,14]
14-е сут	43,23* [40,12;46,42]	19,41* [18,22;24,23]	17,39* [11,97;20,95]	18,26* [12,26;20,83]
30-е сут	20,94* [15,64;28,32]	16,94* [12,11;21,46]	52,42* [48,44;57,83]	5,16 [3,96;5,95]
90-е сут	30,83* [21,35;38,45]	24,45* [23,62;35,12]	36,14* [33,12;43,14]	3,7 [3,12;5,95]
180-е сут	50,96* [47,24;56,57]	22,95* [20,5;26,5]	22,9* [19,26;28,1]	4,17 [3,16;5,13]

\* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;

Примечание: УО соединительной ткани (мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>) определялся преимущественно в строме и имел минимальный показатель.

При анализе независимых данных с использованием критерия Крускала-Уоллиса было выявлено, что все морфометрические показатели имели статистически значимые различия во всех группах ( $p < 0,05$ ). Был проведён попарный анализ групп методом Манна-Уитни.

Оценивая данные экспериментальной группы и группы контроля на 3-е сут выявлены статистически значимые различия по всем показателям. Показатели удельный объём белой ( $p = 0,0001$ ) и красной пульпы ( $p = 0,003$ ) уменьшились на 46,9% и 12,5%, соответственно, однако отмечается незначительное развитие соединительной ткани до 3,27 [2,51; 9,34] и увеличение удельного объёма сосудов в 3 раза (таблица 10).

На 5-е сут отмечалось продолжающееся статистически достоверное увеличение удельного объёма соединительно ткани до 9,42 [7,79;18,0], УО белой пульпы ( $p < 0,05$ ), а показатель удельного объёма красной пульпы продолжал снижаться ( $p = 0,002$ ) и составил 34,12 [29,69; 44,65], показатель удельного объёма сосудов незначительно снизился, однако превышает показатель контроля на 127% (таблица 10).

К 7-м сут по показателю удельного объёма белой пульпы не выявлялось статистически значимых различий при сравнении с группой контроля ( $p = 0,326$ ). Дополнительно определялось статистически достоверное ( $p = 0,0001$ ) снижение показателя красной пульпы до минимальных значений и увеличение удельного объёма соединительной ткани по отношению к предыдущим срокам и контрольным данным. Показатель удельного объёма сосудов оставался на прежнем уровне (таблица 10).

На 14-е сут показатель удельного объёма красной пульпы статистически достоверно снижается ( $p = 0,0001$ ) до 19,41 [18,22;24,23]. Удельный объём соединительной ткани возрастал, а показатель удельного объёма белой пульпы достоверно снижался ( $p = 0,001$ ) на 32,5%. Показатель удельного объёма сосудов достоверно увеличивался ( $p = 0,0001$ ) и достигал своего максимального значения 18,26 [12,26; 20,83] (таблица 10).



При сравнении показателей экспериментальной группы на 30-е сут и показателей контрольной группы были выявлены статистически значимые различия по показателям удельного объёма белой и красной пульпы, а также соединительной ткани ( $p = 0,0001$ ). Величины удельного объёма белой и красной пульпы достоверно снизились и достигли своего минимального значения, а показатель удельного объёма соединительной ткани увеличился до максимального значения в 52,42 [48,44; 57,83].

На протяжении отдаленных сроков (30-е, 90-е и 180-е сут) показатель УО сосудов не имеет статистически достоверных ( $p = 0,650$ ;  $p = 0,326$ ;  $p = 0,364$ ) отличий от контрольных данных (таблица 10).

К 90-м сут среди показателей УО красной и белой пульпы отмечается тенденция к восстановлению ( $p = 0,0001$ ), однако в последний контрольный срок на 180-е сут данные показатели остаются достоверно ( $p = 0,0001$ ;  $p = 0,005$ ) ниже контрольных и составляют 22,95[20,5; 26,5] и 50,96[47,24; 56,57] соответственно. Показатель УО соединительной ткани имеет схожую динамику и к 180-м сут ( $p < 0,05$ ) снижается в сравнении с предыдущими сроками, однако остается выше показателей контроля (22,9 [19,26; 28,1]) (таблица 10).

### 3.19. Цитологическая характеристика селезенки кроликов после резекции и последующей коагуляции «неравновесной плазмой»

При анализе спленограмм в группе контроля и в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» выявлено статистически значимое ( $p = 0,023$ ) снижение малых лимфоцитов на 28%, что составило 23,3% [17,9; 26,7] (таблица 11, рисунок 124, 125). По остальным показателям достоверных различий не выявлено.

Таблица 11

Спленограммы экспериментальных животных (кроликов) после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой», (Me[Q<sub>0,25</sub>Q<sub>0,75</sub>])

<b>Группы</b> <b>Клетки, %</b>	<b>Контроль</b>	<b>Коагуляция</b> <b>«неравновесной</b> <b>плазмой»</b>
Незрелые нейтрофилы	0,4 [0,35; 1]	0,4 [0,3;0,7]
Зрелые нейтрофилы	9 [7,85; 11,65]	12,8 [10,7; 14,7]
Ретикулярные клетки	0,2 [0,1; 0,25]	0,1 [0; 0,2]
Лимфобласты	8,4 [5,35; 11,5]	11,7 [10,5; 12,4]
Средние лимфоциты	39,2 [36,65; 44,8]	43,3 [41,5; 45,3]
Малые лимфоциты	30,8 [29,25; 34,3]	23,3 [17,9; 26,7]*
Эозинофилы	0,6 [0,4; 1,5]	0,2 [0,1; 0,3]
Макрофаги	0,4 [0,35; 0,55]	0,4 [0,2; 0,5]
Моноциты	4,9 [4,8; 5,25]	6,1 [4,9; 7,3]
Эритроидные клетки	0,5 [0,4; 0,7]	1,3 [0,6; 2,1]
Плазмоциты	1,2 [1,1; 1,7]	1,5 [1,1; 1,8]

\* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;

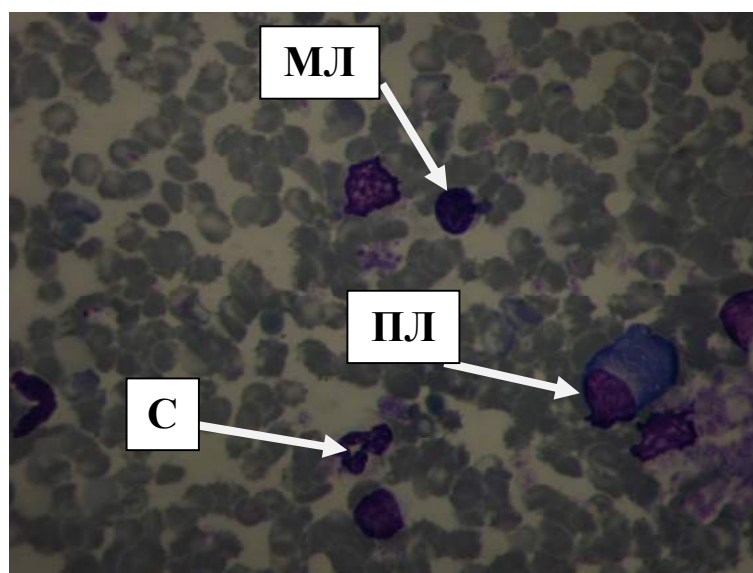


Рисунок 124 – Отпечаток селезенки кролика на 1-й минуте после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Стрелками указаны ПЛ – плазматические клетки; С – сегментоядерный нейтрофил; МЛ – малый лимфоцит. Ув. 1000. Окр. по Нохту – Максимову.

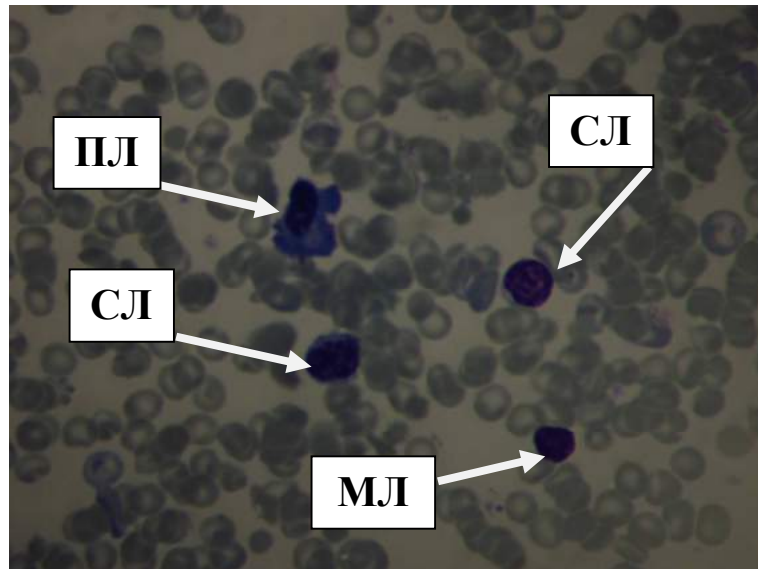


Рисунок 125 – Отпечаток селезенки кролика на 1-й минуте после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой». Стрелками указаны ПЛ – плазматические клетки; СЛ – средний лимфоцит; МЛ – малый лимфоцит. Ув. 1000. Окр. по Нохту – Максимову.

### 3.20. Динамическое магнитно-резонансное исследование селезенки кроликов с контрастным усилением после резекции и последующей коагуляции «неравновесной плазмой»

При статистическом анализе методом Манна-Уитни коэффициентов усиления интенсивности у кроликов группы контроля и на 90-е сут после оперативного вмешательства (таблица 12, рисунок 126, 127) не выявлено статистически значимых различий в данном коэффициенте.

Учитывая вышеперечисленные факты восстановления ткани селезенки к 90-м сут, МР-исследования на 180-е сут не выполняли.



Рисунок 126 – Фрагмент МР-исследования с «Магневистом» оперированных кроликов с резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой». Реформация проекций максимальных интенсивностей FFE-3D накопления контраста после оперативного вмешательства на 90-е сут.

Таблица 12 – Коэффициенты усиления интенсивности селезёнки при динамическом контрастном МР-исследовании с внутривенным (болюсным) введением препарата «Магневист» у кроликов группы контроля и на 90-е сут после оперативного вмешательства с коагуляцией «неравновесной плазмой»,  
(Me[Q<sub>0,25</sub>Q<sub>0,75</sub>])

Группа	коэф 8	коэф 16	коэф 24	коэф 32	коэф 40	коэф 48	коэф 56	коэф 64	коэф 72
Контроль	102,7 [46,9; 176,8]	118 [17,6; 255,3]	114,8 [27; 249,8]	70,8 [-4,9; 197,3]	54,4 [-3; 179,8]	51,5 [-10,2; 162,4]	51,1 [-19,3; 180,8]	41,2 [-18,4; 159,6]	35,2 [-27,6; 123,6]
90-е сут	61,3 [60,6; 88,9]	88,1 [64; 133,1]	65,3 [48; 120,6]	64,6 [40,3; 113,2]	64,8 [33,3; 91,1]	63,7 [23,2; 92,6]	73,2 [21,3; 98,1]	67 [4,97; 92,2]	32,2 [-11,1; 62,9]

\* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;

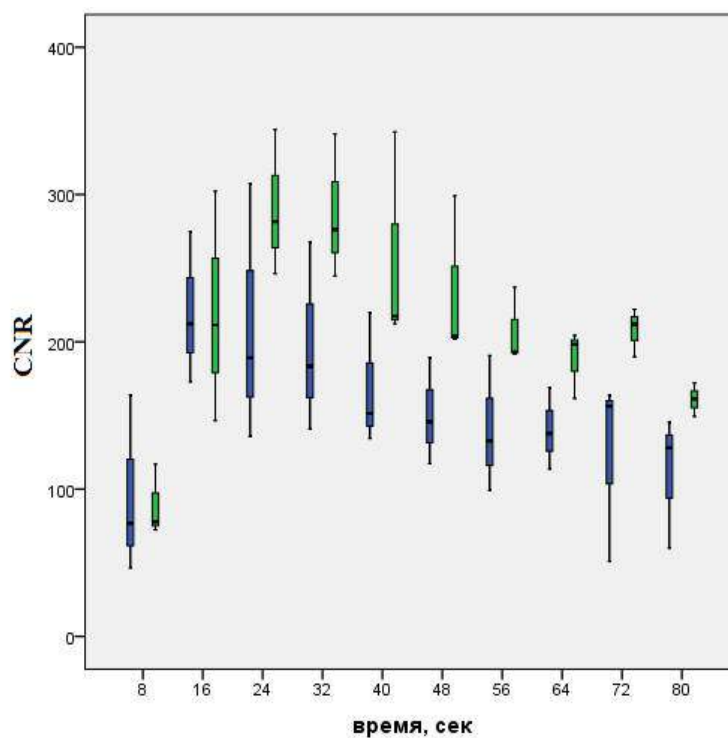


Рисунок 127 – График зависимости коэффициента CNR от времени при динамическом магнитно-резонансном исследовании оперированных кроликов с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» после резекции селезенки. Контрастный препарат «Гадовист». ◊ – показатель в группе контроля; ◊ – показатель в группе с коагуляции «неравновесной плазмой»;

## ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Большое количество оперативных вмешательств на паренхиматозных органах диктует потребность в разработке новых, более щадящих методов остановки кровотечений, позволяющих выполнять органосохраняющие операции [8; 9; 18; 58; 69; 117; 131; 172; 174; 217; 258; 263; 331]. Безопасный и эффективный способ остановки кровотечений является наиболее важным фактором в любом хирургическом вмешательстве. Остановка кровотечения может достигаться за счет швов, специальных зажимов – клипс, применения гемостатических препаратов или термической коагуляции [34; 54; 70; 83; 88; 89; 90; 113; 173; 176; 185; 205; 211; 253; 367]. Независимо от способа получения тепловой энергии коагуляция должна осуществляться быстро и безопасно, что имеет важное значение для клинического применения [92; 95; 96; 97; 99; 115; 119; 125; 136; 146; 152; 154; 188; 189; 239].

После выполнения операций на паренхиматозных органах с последующей остановкой кровотечения при помощи «неравновесной плазмы» резецированный орган получает значительную механическую травму и внешнее воздействие физических факторов, таких как  $\text{OH}^-$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2^+$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , атомарный кислород, мощное ультрафиолетовое облучение и другие [3; 39; 64; 135; 147; 242; 247; 248; 251; 254; 255]. Дополнительно необходимо учитывать, что при коагуляции «неравновесной плазмой» отсутствует температурное влияние на орган и не образуются ожоговые струпы с последующими зонами некроза.

Исследуя морфо-функциональные особенности паренхиматозных органов после резекций с последующими различными вариантами остановки кровотечений, было выявлено, что динамика «восстановления» органа обусловлена не только обширностью травмы, но и напрямую зависит от метода коагуляции.



Ряд исследователей проводил сравнительные экспериментальные работы по оценке повреждающего действия коагуляторов. Наиболее современной работой можно считать работу немецких коллег из университета Ганновера Thomas Carus и Klaas Rackebrandt, связанную с оценкой монополярных, биполярных, «холодно-плазменных» и ультразвуковых коагуляторов [239]. В своем исследовании они пришли к выводам, что остановка кровотечения может быть достигнута при применении монополярного, биполярного или «холодно-плазменного» аппарата.

Ультразвуковая коагуляция наиболее подходит для рассечения тканей, а коагуляция изолированных сосудов не приводит к достаточному эффекту при кровотечениях с больших площадей. Биполярный метод, по мнению этих авторов, является наиболее эффективным с минимальным повреждающим действием. В то же время G. Peddinghaus (2006), S. Kalghatgi, G. Fridman (2007) рассматривают «холодную плазму» как селективный метод коагуляции с отсутствием ожогов и глубоких повреждений тканей [255; 305; 366].

Другие авторы (Чарышкин А.Л. и соавторы, 2012) разработали новый способ ушивания ран печени (заявка №2011114631) и клинически апробировали его, получив положительные результаты, а именно: разработанный способ дал возможность ушивания ран разной длины и глубины, что предупреждало прорезывание швов, обеспечивало остановку кровотечений и надежное сопоставление раневых поверхностей, а также сокращало время операции и улучшало процессы заживления в области шва [196; 197; 198; 199].

В ходе проведенных экспериментальных исследований и сравнительного анализа полученных результатов была предпринята попытка сопоставления опыта предыдущих исследователей с клинико-морфологическими данными настоящей работы.

В доступной нам литературе не встречается работ, описывающих подобные результаты, однако научный коллектив под руководством А.Л. Чарышкина в 2012 году оценивал в клинической практике разработанный ими же новый способ ушивания ран печени. В результате они пришли к выводу, что биохимические показатели крови, а также УЗИ органов брюшной полости в динамике и

соматическое состояние пациентов значительно улучшается в сравнении с контрольными группами – стандартные методики ушивания ран П-образными швами [196; 197; 198; 199].

Остановка кровотечения должна осуществляться быстро и безопасно, что имеет большое клиническое значение [239].

Исследование методов коагуляции в нашей работе проводили на модели резекции левой доли печени крыс и резекции селезенки у кроликов. Сама по себе резекция органа является очень травматичным вмешательством, оставляющим большие по площади раневые поверхности, вызывающим массивную гибель клеток и приводящим к развитию ряда метаболических нарушений, преимущественно на ранних сроках после оперативного вмешательства независимо от вариантов коагуляции (наложение швов по Оппелю или остановка кровотечения «неравновесной плазмой») [30; 36; 87; 141; 142; 171; 175].

В ранние сроки после резекции печени в обеих группах наблюдались изменения показателей. Так, при анализе биохимических маркеров крови на ранние сроки выявили увеличение активности АСТ, АЛТ,  $\alpha$ -амилазы, щелочной фосфатазы, значений тимоловой пробы, концентрации прямого билирубина, мочевины и глюкозы. В группе со швом по Оппелю отмечалось повышение количества фибриногена, а к 30-м сут сохранялось незначительное повышение активности  $\alpha$ -амилазы и снижение концентрации белка ниже показателей контроля. При этом в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» активность  $\alpha$ -амилазы ниже, чем в группе с наложением швов по Оппелю (рисунок 128).

Гистологический анализ печени выявил увеличение удельного объема гепатоцитов с признаками дистрофии, с некротическими изменениями, увеличение объемной плотности соединительной ткани ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) и плотности клеточного инфильтрата в  $1 \text{ мм}^2$  в обеих экспериментальных группах на 7-е, 14-е сут с последующим снижением данных показателей к 30-м сут (рисунок 129).

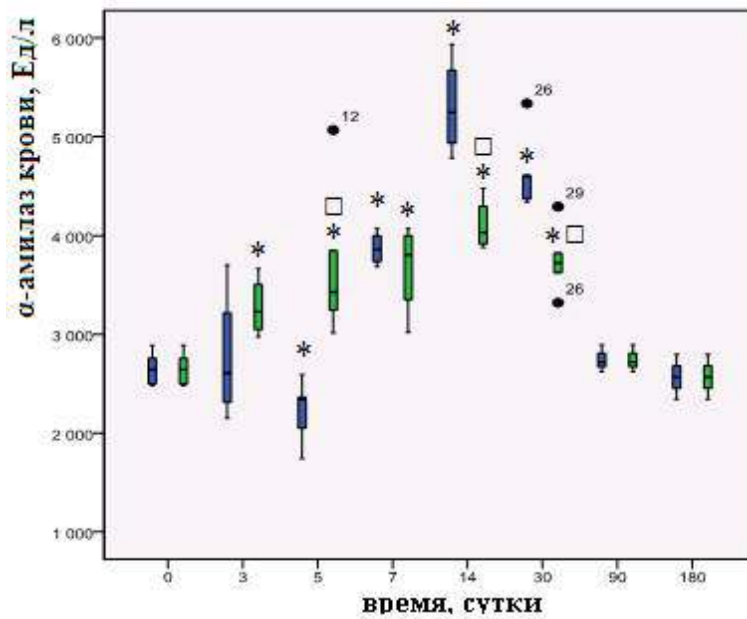


Рисунок 128 – Динамика изменений биохимического показателя  $\alpha$ -амилазы крови при резекции печени с остановкой кровотечения различными вариантами. ◊ – показатель в группе со швами по Оппелю; ◊ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой»; \* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля; □ -  $p < 0,05$  при сравнении показателей экспериментальных групп (со швом по Оппелю и с коагуляцией «неравновесной плазмой»);

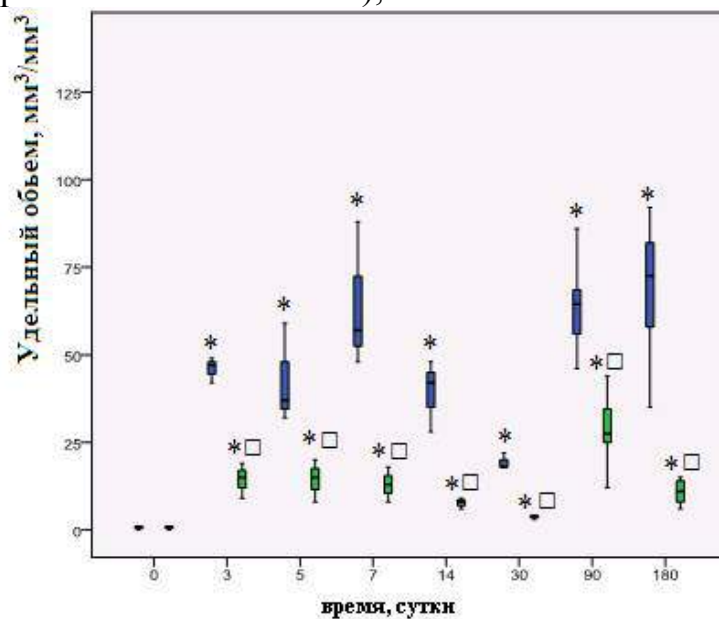


Рисунок 129 – Динамика изменений удельного объема гепатоцитов с признаками дистрофии ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) при резекции печени с остановкой кровотечения различными вариантами. ◊ – показатель в группе со швами по Оппелю; ◊ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмы»; \* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля; □ -  $p < 0,05$  при сравнении показателей экспериментальных групп (со швом по Оппелю и с коагуляцией «неравновесной плазмой»);

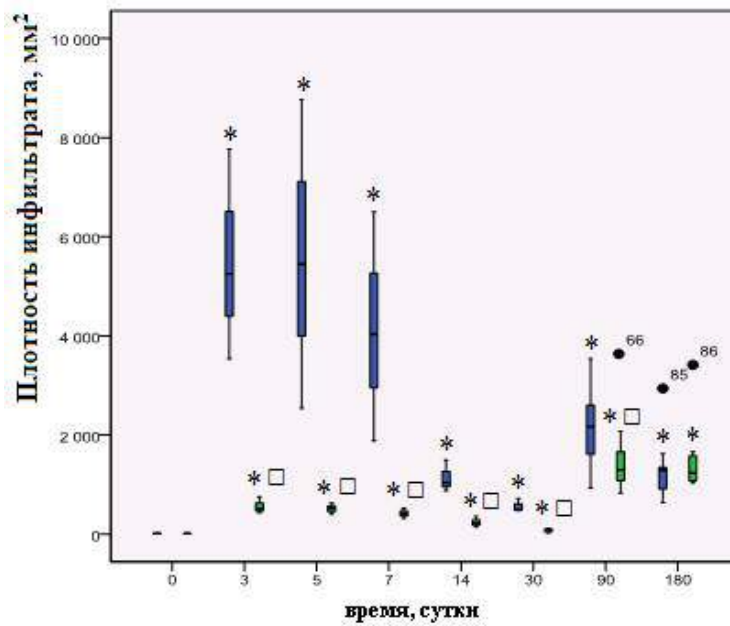


Рисунок 130 – Динамика изменений плотности инфильтрата в 1 мм<sup>2</sup> при резекции печени с остановкой кровотечения различными вариантами. ◻ – показатель в группе со швами по Оппелю; ◻ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой»; \* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;  $\square$  -  $p < 0,05$  при сравнении показателей экспериментальных групп (со швом по Оппелю и с коагуляцией «неравновесной плазмой»);

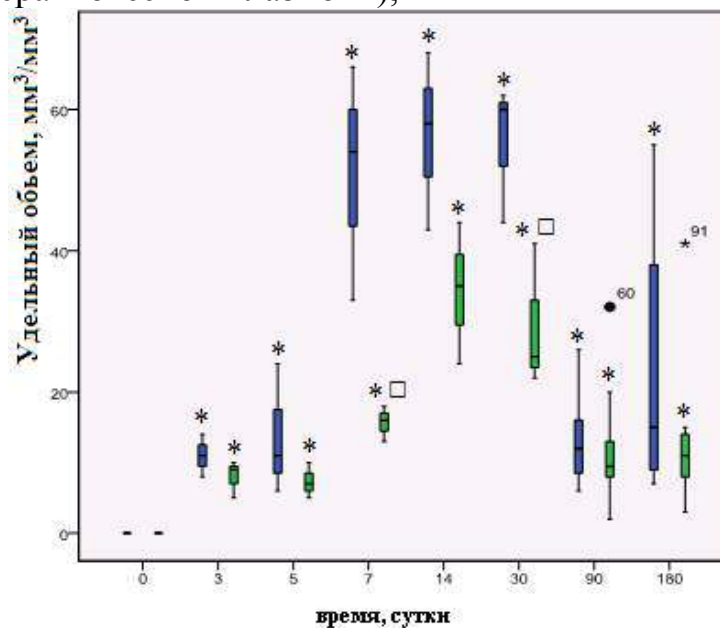


Рисунок 131 – Динамика изменений удельного объема соединительной ткани, мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup> при резекции печени с остановкой кровотечения различными вариантами. ◻ – показатель в группе со швами по Оппелю; ◻ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой»; \* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;  $\square$  -  $p < 0,05$  при сравнении показателей экспериментальных групп (со швом по Оппелю и с коагуляцией «неравновесной плазмой»);

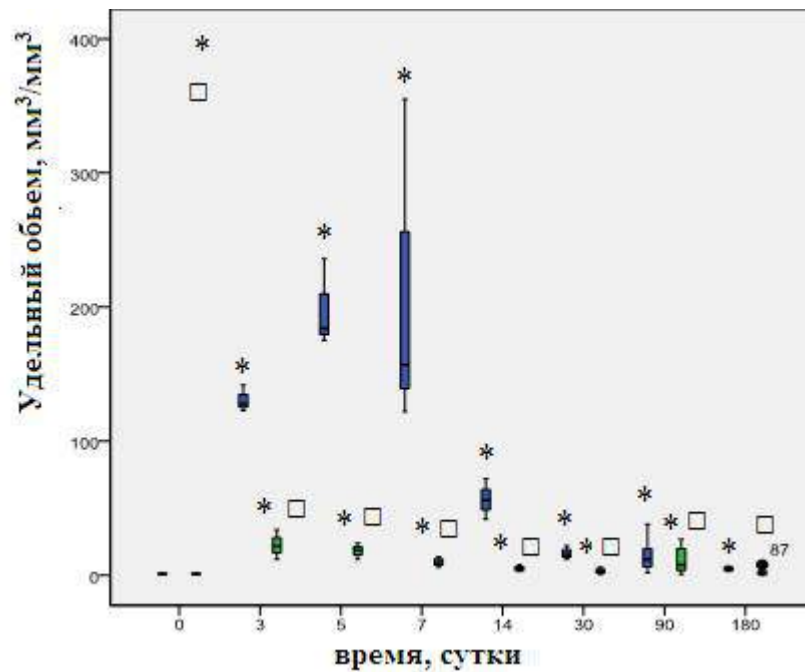


Рисунок 132 – Динамика изменений удельного объема гепатоцитов с некротическими изменениями в 1 мм<sup>2</sup> при резекции печени с остановкой кровотока различными вариантами. ◆ – показатель в группе со швами по Оппелю; ◆ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой»; \* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;  $\square$  -  $p < 0,05$  при сравнении показателей экспериментальных групп (со швом по Оппелю и с коагуляцией «неравновесной плазмой»);

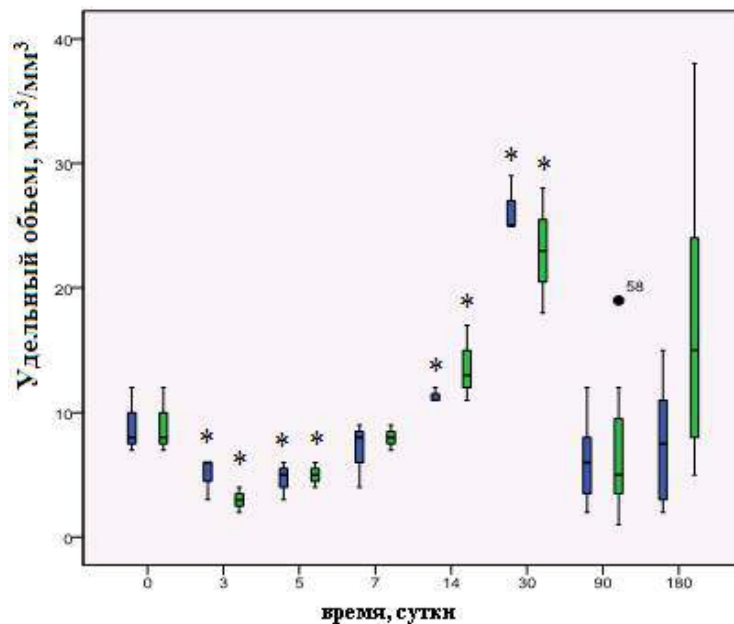


Рисунок 133 – Динамика изменений удельного объема двухядерных гепатоцитов мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup> при резекции печени с остановкой кровотока различными вариантами. ◆ – показатель в группе со швами по Оппелю; ◆ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой»; \* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля;  $\square$  -  $p < 0,05$  при сравнении показателей экспериментальных групп (со швом по Оппелю и с коагуляцией «неравновесной плазмой»);

При исследовании морфофункциональных особенностей печени после резекции с различными вариантами остановки кровотечений выявлено, что динамика «восстановления» органа обусловлена не только обширностью травмы, но и напрямую зависит от метода остановки кровотечения: наложение швов по Оппелю или коагуляция «неравновесной плазмой».

Основным недостатком остановки кровотечения при прошивании паренхимы печени является дополнительная травма органа из-за «пилящего эффекта» нитей и дополнительно развивающейся гипоксии при механическом сдавлении паренхимы и сосудов органа. Согласно литературным данным развитие гипоксии является пусковым фактором образования соединительной ткани [56; 195]. Таким образом, наложение гемостатических швов при резекции печени может сопровождаться разрастанием соединительной ткани в паренхиме и приводить к нарушению архитектоники и функции органа. Полученные нами результаты подтверждают данный тезис. В частности, анализ гистологических маркеров выявил, что такие показатели, как удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии, гепатоцитов с некротическими изменениями и плотность инфильтрата в  $1 \text{ мм}^2$ , увеличиваются после оперативного вмешательства и далее, несмотря на достоверное снижение к 30-м сут сохраняются на повышенном уровне в отдаленные сроки, вплоть до 180-х сут. Подобная картина характеризует развитие воспалительного и деструктивного процесса в ранние сроки после оперативного вмешательства и постепенным снижением его активности к 30-м сут. Такой показатель как удельный объем двухядерных гепатоцитов ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ), в ранние сроки снижается, достигая минимума к 3-м сут, а в последующие сроки имеет тенденцию к увеличению до максимальных значений на 30-е сут, что свидетельствует о снижении регенераторного процесса в ранние сроки после оперативного вмешательства и его повышенной активности к 30-м сут. При этом показатель удельного объема соединительной ткани ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) в ранние сроки после оперативного вмешательства возрастает и продолжает увеличиваться вплоть до 30 сут (рисунок 129, 130, 131, 132, 133).



При оценке МР-картины печени с контрастным усилением в отдаленном периоде на 90-е и 180-е сут в группе с выполнением швов по Оппелю отмечается выраженная закономерность снижения контрастного эффекта от области печени со значимым смещением времени максимума  $t_{\text{макс}}$  "влево" с 10–12 мин на 3–5 мин, что подтверждается гистологическими изменениями в виде развития венозного полнокровия, отека, вакуольной и жировой дистрофией печени, а также наличием частичных очагов некроза на фоне внутрисосудистого свертывания, формирования тромбов и проявления начальных признаков периваскулярного фиброза. К 180-м сут значимо повысился контрастный эффект от области печени в сравнении с 90-ми сут. Данная динамика визуальных изменений МР-картины печени в сочетании с отсутствием морфологических данных о микротромбозе свидетельствует о частичном восстановлении внутрисосудистого кровотока печени. Сохраняющееся смещение времени максимального накопления парамагнетика, вероятнее всего, связано с выраженным периваскулярным фиброзом, обусловленным развитием гипоксии при прошивании паренхимы печени. Важно учесть, что выявленные морфологические изменения были обнаружены не только вблизи области вмешательства, но и по всей площади органа.

В печени синтезируется множество факторов свертывания (I, II, V, VII, IX, X, XII), поэтому при её повреждении возникают большие трудности остановки кровотечения. Кроме того, при повреждениях печени отмечается смешивание крови с желчью, что, безусловно, затрудняет процесс свертывания и формирования сгустков, поскольку желчь обладает высокой фибринолитической активностью [17; 82]. С другой стороны, освобождающиеся факторы свертывания вызывают микротромбозы в достаточно отдаленных от области оперативного вмешательства участках печени.

Принципиальными отличиями обладает другой исследованный нами метод остановки кровотечений с применением «неравновесной плазмы». Полученные нами данные свидетельствуют об активации коагуляции крови под действием «неравновесной плазмы». Данный тезис подтверждается рядом зарубежных

исследователей (Kalghatgi S., Fridman G., 2007), которые описывают положительное влияние «неравновесной плазмы» на скорость свертывания крови за счет активации естественных процессов коагуляции, а именно: усиления агрегации тромбоцитов и ускорения превращения фибриногена в фибрин. Кроме того нами установлено, воздействие «неравновесной плазмы» на исследуемые образцы крови характеризуется разнонаправленностью действия на скорость латеральной сборки и плотность образования поперечно сшитого фибрина, медиатором которых выступает тромбин. Также нельзя исключить воздействие на форменные элементы крови, в первую очередь тромбоциты, при коагуляции цельной крови.

После выполнения операций на паренхиматозных органах с последующей остановкой кровотечения при помощи «неравновесной плазмы» на резецированный орган с механической травмой оказывают воздействие физические факторы, такие как  $O_3$ ,  $NO$ ,  $HO$ ,  $H_2O_2$ , температуры в  $45-60^{\circ}C$  и мощное ультрафиолетовое облучение [3; 39; 64; 135; 147; 242; 247; 248; 251; 254; 255]. Дополнительно необходимо учитывать, что при остановке кровотечения данным способом не образуются ожоговые струпы с зонами некроза.

Как было сказано выше, ранее проводили исследования по сравнительной оценке повреждающего действия коагуляторов [239]. Биполярный метод является наиболее эффективным для остановки кровотечений. Однако «холодную плазму» позиционируют как метод коагуляции с отсутствием ожогов и глубоких повреждений тканей [255; 305; 366].

Российские авторы апробировали новый способ ушивания ран печени (заявка №2011114631) и получили положительные результаты (Чарышкин А.Л. и соавт., 2012) [196; 197; 198; 199].

В ходе проведенных экспериментальных исследований и сравнительного анализа полученных результатов была предпринята попытка сопоставления опыта предыдущих исследователей с клинико-морфологическими данными настоящей работы.

В доступной нам литературе не встречается экспериментальных работ, описывающих подобные результаты, однако коллектив авторов под руководством А.Л. Чарышкина в 2012 году оценивал в клинической практике разработанный ими же новый способ ушивания ран печени. В результате исследователи пришли к выводу, что биохимические показатели крови, а также УЗИ органов брюшной полости в динамике и соматическое состояние пациентов значительно улучшается в сравнении с контрольными группами – стандартные методики ушивания ран П-образными швами [196; 197; 198; 199].

В нашем исследовании также выявлены значительные различия в экспериментальных группах.

В группе со швами по Оппелю биохимические показатели крови: активность АЛТ, АСТ и щелочной фосфатазы, концентрация глюкозы крови, прямого билирубина, мочевины имеют выраженные колебания и достигают максимальных значений к 14-м сут. Это характерно для развития цитолиза и нарушения синтетической функции печени. У животных с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» признаки цитолиза определяются только в ранние сроки (максимальное повышение данных показателей на 7-е сут с постепенной стабилизацией к 14-м сут) и в менее выраженной степени. Подобные изменения, вероятно, связаны с механическим повреждением паренхимы печени при ее резекции. В последующие сутки показатели восстанавливаются до значений контроля [157; 158; 159; 160].

Динамика изменений активности  $\alpha$ -амилазы крови имеет пикообразное повышение в группе с ушиванием паренхимы органа, а в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой» это повышение менее выражено. Колебания данного показателя свидетельствуют, что патологический процесс, возникающий в паренхиме печени после операции, ярко выражен и имеется при любом виде остановки кровотечения, а также затрагивает все структуры органа, включая билиарную систему, но все же метод коагуляции «неравновесной плазмой» менее травматичен. В группе с ушиванием паренхимы печени по Оппелю более выражены повышения концентрации мочевины в крови у животных, а также

общего билирубина крови, что говорит о наиболее высокой травматичности метода и длительном поддержании воспалительных реакций [157; 158; 159; 160].

А.Л. Чарышкин и соавторы (2012) при изучении биохимических показателей крови пациентов с выполнением П-образных швов печени пришли к выводу, что биохимическая картина крови восстанавливается к 6-м сут после операции. По результатам исследований, представленных в нашей работе имеются данные о колебании всех биохимических показателей крови до 30-х сут. При оценке динамики изменений общего белка крови в экспериментальных группах выявлено сохранение его незначительного повышения в отдаленные сроки после оперативного вмешательства.

Многими исследованиями было установлено, что биохимические показатели, отражающие синтетическую и желчевыделительную функцию печени (содержание альбумина, билирубин и факторы свертывания), не являются специфичными и не коррелируют с результатами резекции. Однако они могут указывать на исходную дисфункцию печени [226; 375]. Более того, уровень активности трансаминаз, щелочной фосфатазы и ГГТП также не является специфичным для оценки функции печени и указывает лишь на степень некроза гепатоцитов, повышенную нагрузку на печень или наличие холестаза.

В нашей работе при анализе биохимических показателей выявлены изменения, которые исключают системное влияние «неравновесной плазмы». Увеличение концентрации общего билирубина и глюкозы по сравнению с группой контроля связано с общей реактивностью организма в первые дни после операции.

Нами установлено, что при резекции левой доли печени с различными видами остановки кровотечения наиболее выражены изменения морфологических маркеров ткани преимущественно в ранние сроки после оперативного вмешательства. В частности, что во всех группах такие показатели как УО гепатоцитов с признаками дистрофии ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ), гепатоцитов с некротическими изменениями, плотность инфильтрата (в  $1 \text{ мм}^2$ ), а также УО соединительной ткани ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) увеличиваются после оперативного вмешательства и

сохраняются повышенными в отдаленные сроки. При этом у животных с наложением швов по Оппелю данные показатели в разы выше, чем в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой». В отдаленные сроки (90-е и 180-е сут) УО гепатоцитов с признаками дистрофии ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) и соединительной ткани ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ), а также плотность инфильтрата (в  $1 \text{ мм}^2$ ) остаются выше показателей контроля, особенно в группе со швами по Оппелю. Следует отметить, что у животных с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» только на ранних сроках исследования удельный объем гепатоцитов с некротическими изменениями повышен, а к 14-м сут восстанавливается до показателей контроля. Плотность инфильтрата (в  $1 \text{ мм}^2$ ) и удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) в данной группе также незначительно увеличены, и достигают показателей контроля к 30-м сут, незначительно увеличиваясь в отдаленные сроки исследования (рисунок 129, 130, 131, 132, 133).

Удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии в ранние сроки снижается достигая минимума к 3-м сут в сравнении с исходными данными, а в последующие сроки имеет тенденцию к увеличению, достигая максимума к 30-м сут. В отдалённые сроки (90-е, 180-е сут) этот показатель не отличается от контрольной группы. Подобная динамика свидетельствует о повышении регенераторного процесса на 30-е сут.

Анализируя динамику морфометрических показателей можно утверждать о минимальном травматическом воздействии «неравновесной плазмы» на паренхиму печени в сравнении со швом [100; 101; 102; 161; 196; 197; 198; 193; 199; 200; 201; 202; 203; 204; 214; 216; 224; 305; 330]. Более того, данный факт подтверждается и при динамическом контрастном МР-исследовании. На 90-е сут после оперативного вмешательства и остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» отмечалось снижение контрастного эффекта от области печени со значимым смещением времени максимума  $t_{\text{max}}$  влево с 10 – 12 мин на 5 – 7 мин (в экспериментальной группе с прошиванием паренхимы печени  $t_{\text{max}}$  смещалось значительнее, на 3 – 5 мин). Значимых различий между достигаемыми показателями максимального контрастного эффекта  $\text{CNR}_{\text{max}}$  на 90-е сут после

коагуляции «неравновесной плазмой» не выявлено. К 180-м сут контрастный эффект от области печени повышается (48,6 [37,2; 92,9]) по сравнению с 90-ми сут (31,2 [13,8; 33,4];  $p = 0,028$ ), а достоверных отличий по отношению к контролю (41,7 [28,5; 48,8];  $p = 0,347$ ) и экспериментальной группе с прошиванием паренхимы печени (42,6 [38,4; 48,4];  $p = 0,465$ ) не выявлено. При этом на МР-картине по средним значениям  $CNR_{max}$  видно, что после остановки кровотечения «неравновесной плазмой» печень более контрастная. Описанная динамика изменений МР-картины печени в сочетании с полным восстановлением морфологической структуры паренхимы печени к 180-м сут после коагуляции «неравновесной плазмой» свидетельствует о нормализации внутреннего кровотока и клеточной структуры органа. В то же самое время по данным МР-исследований на 180-е сут после наложения швов паренхимы печени по Оппелю внутрисосудистый кровоток восстанавливается лишь частично (рисунок 134, 135).

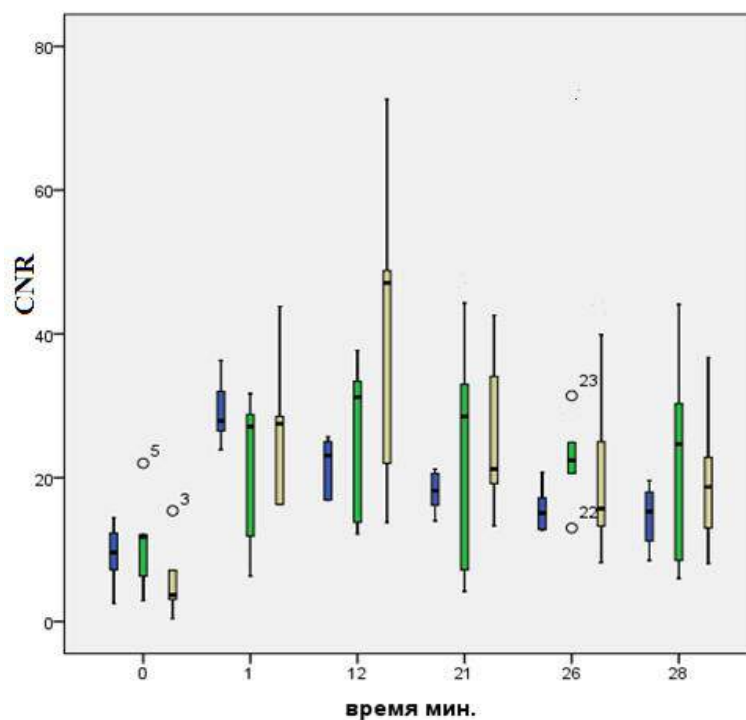


Рисунок 134 – Зависимость коэффициента CNR от времени при динамическом магнитно-резонансном исследовании после резекции печени с последующей остановкой кровотечения различными вариантами. Контрастный препарат «Примовист». ◆ – показатель в группе контроля; ◆ – показатель в группе со швами по Оппелю на 90-е сут; ◆ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой» на 90-е сут.



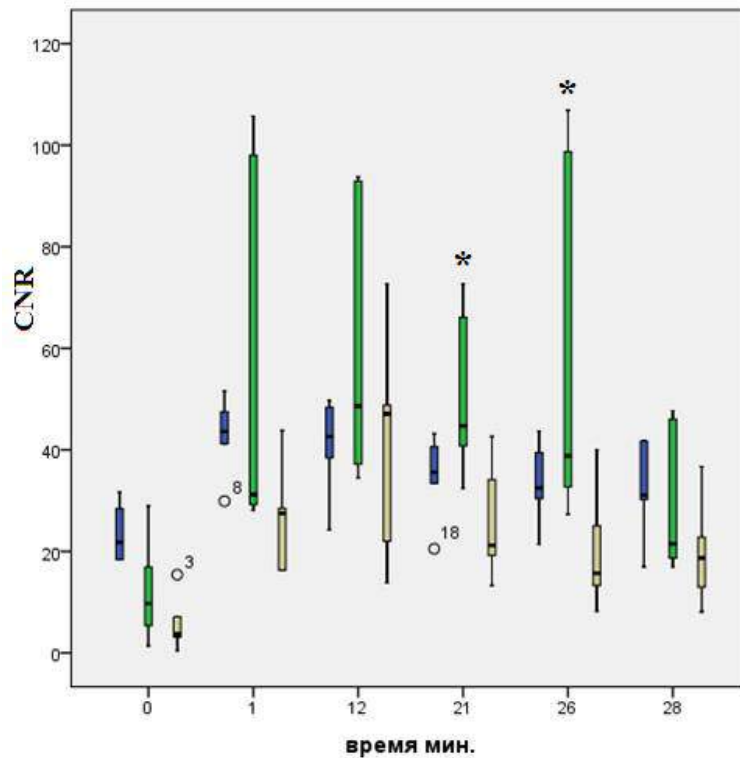


Рисунок 135 – Зависимость коэффициента CNR от времени при динамическом магнитно-резонансном исследовании после резекции печени с последующей остановкой кровотечения различными вариантами. Контрастный препарат «Примовист». ◆ – показатель в группе контроля; ◆ – показатель в группе со швами по Оппелю на 180-е сут; ◆ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой» на 180-е сут.

В сериях эксперимента, где выполняли резекцию селезенки у кроликов с последующей коагуляцией «неравновесной плазмой» были выявлены незначительные изменения со стороны ОАК (до 30-х сут) (таблица 2). Они полностью объясняются послеоперационным повреждением паренхимы селезенки и развивающимся травматическим воспалением. Дополнительно оценивали клеточный состав селезенки после воздействия «неравновесной плазмой». На спленограммах выявили снижение ( $p = 0,023$ ) относительного количества малых лимфоцитов на 28 % до 23,3 [17,9; 26,7] против контрольных значений - 30,8 [29,25; 34,3] (таблица 11). Можно предположить, что это связано с «реакцией активации», которая, согласно общей неспецифической адаптационной теории, развивается в ответ на действие различных по качеству раздражителей, к которым можно отнести и воздействие «неравновесной плазмы». Эта реакция несет основную антистрессовую функцию и характеризуется подъемом

активности защитных и регуляторных подсистем организма, вызывая изменения со стороны малых форм лимфоцитов у экспериментальных животных.

При воздействии «неравновесной плазмы» во время коагуляции резецированной селезенки отмечаются и гистологические изменения в органе. На 3-и сут после коагуляции отмечаются выраженные сосудистые изменения с нарушением структуры белой и красной пульпы, которые постепенно уменьшались на 7-е сут. Возможно, это связано с угнетением экссудативной фазы воспаления и восстановлением лимфоидных фолликулов. К 14-м сут в паренхиме селезенки отмечалось увеличение УО соединительной ткани и сосудов, что, вероятно, связано с развитием «молодой соединительной ткани» и большим количеством кровеносных сосудов. Важно отметить, что на 30-е сут в паренхиме селезенки УО соединительной ткани увеличивался, а сосудов, напротив, уменьшался по сравнению с предыдущими сроками и с контрольными животными, что, скорее всего, свидетельствует об «уплотнении рубца».

При исследовании паренхимы селезенки после воздействия «неравновесной плазмой» в отдаленные сроки показатели структурной организации белой и красной пульпы, а также соединительной ткани и сосудов не отличались от 30-х суток исследования (рисунки 136, 137, 138, 139).

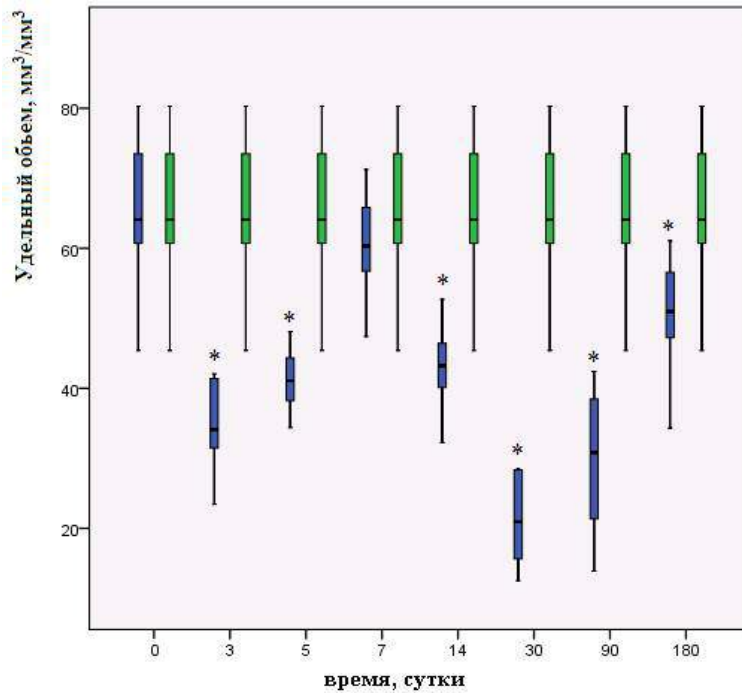


Рисунок 136 – Динамика изменений показателей удельного объема белой пульпы ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) у животных при резекции селезенки с последующей коагуляцией «неравновесной плазмой». ◆ – показатель в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой»; ◆ – показатель в группе контроля; \* –  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля.

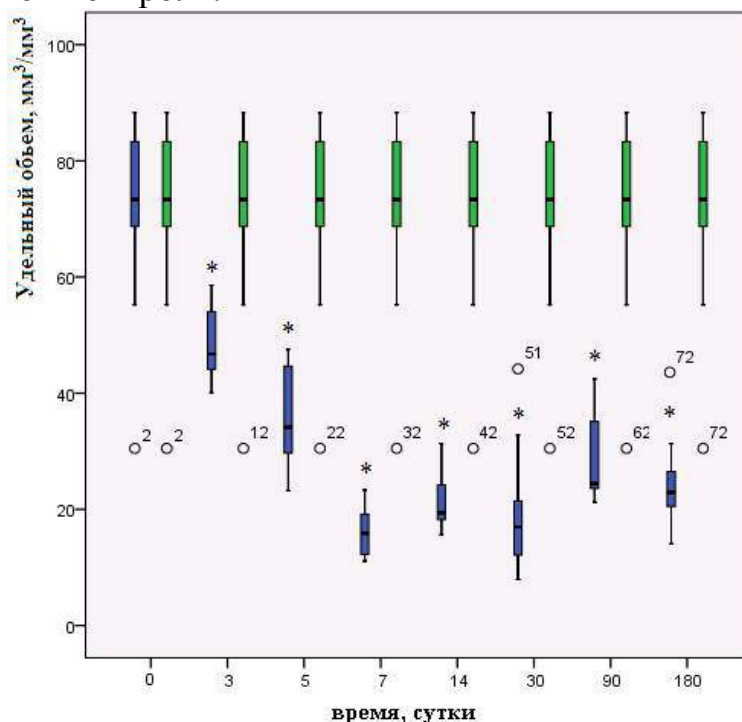


Рисунок 137 – Динамика изменений показателей удельного объема красной пульпы ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) у животных при резекции селезенки с последующей коагуляцией «неравновесной плазмой». ◆ – показатель в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой»; ◆ – показатель в группе контроля; \* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля.

При этом на 180-е сут показатели УО соединительной ткани и белой пульпы гораздо ближе к контрольным значениям по сравнению с 30-ми и 90-ми сут (рисунок 136, 137). Полученная динамика, вероятно, обусловлена оперативным вмешательством и особенностями регенерации селезёнки.

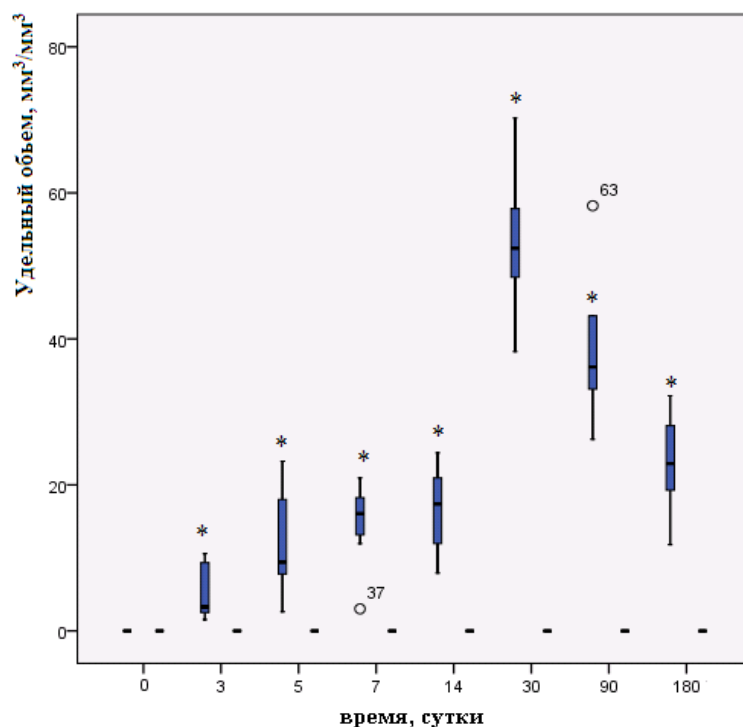


Рисунок 138 – Динамика изменений удельного объема соединительной ткани ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) у животных при резекции селезенки с последующей коагуляцией «неравновесной плазмой». ■ – показатель в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой»; ■ – показатель в группе контроля; \* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля.

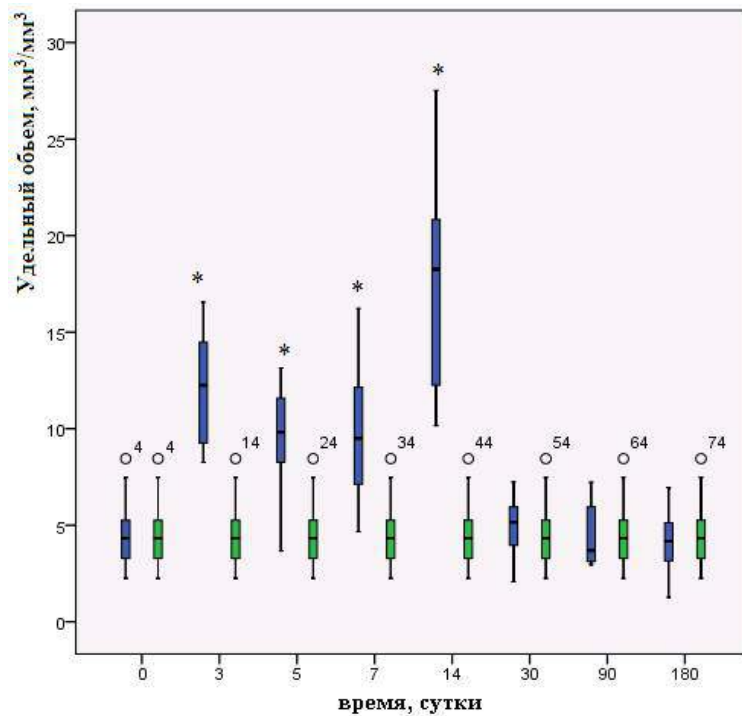


Рисунок 139 – Динамика изменений удельного объема сосудов ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) у животных при резекции селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой». ◆ – показатель в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой»; ◆ – показатель в группе контроля; \* -  $p < 0,05$  при сравнении с группой контроля.

Результаты динамического контрастного МР-исследования также свидетельствуют о постепенном восстановлении микроциркуляции селезенки в отдалённые сроки: при анализе данных динамического контрастного МРТ на 90-е сут у экспериментальных животных не выявлено каких-либо изменений по отношению к контролю. Это позволяет утверждать об отсутствии патологических нарушений микроциркуляции органа в отдаленные сроки после оперативного вмешательства.

Данных о комплексном исследовании процессов коагуляции цельной крови под воздействием «неравновесной плазмы» в доступной литературе не встречалось. Полученные нами результаты свидетельствуют об активации коагуляции крови под действием «неравновесной плазмы» за счёт ускоренного превращения фибриногена в фибрин. Этот тезис подтверждается рядом зарубежных исследователей, которые описывают положительное влияние «неравновесной плазмы» на скорость свертывания крови за счет активации

естественных процессов коагуляции – усиления агрегации тромбоцитов и ускорения превращения фибриногена в фибрин [224; 278; 305; 330].

В нашем исследовании *in vitro*, показано, что «неравновесная плазма» воздействует на скорость латеральной сборки и плотность образования поперечно сшитого фибрина, индуктором которых является тромбин. Выявлено, что образование сгустка ускоряется на 50% в сравнении с контрольными данными, но сгусток становится менее прочным на 7%. Также, можно предположить, что происходит воздействие «неравновесной плазмы» на форменные элементы крови, в первую очередь тромбоциты, при коагуляции цельной крови.



## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время не существует оперативных вмешательств, где бы ни использовался тот или иной способ остановки кровотечений, особенно при операциях на паренхиматозных органах. За длительный исторический период абдоминальной хирургии разработано множество способов остановки паренхиматозных кровотечений: гемостатические швы, различные варианты скобок, металлоконструкций, клеевые аппликации, химические методы, тепловые способы, электрокоагуляция и т.д., однако вышеперечисленные способы имеют множество недостатков [5; 6; 9; 17; 38; 39; 54; 61; 64; 89; 90; 173; 191]. Наиболее грозные осложнения вызывают тепловые методы коагуляции (электрокоагуляция и др.), где происходит формирование больших участков ожогового струпа (некроза) глубиной около 5 мм с возможным его отслоением и развитием повторного кровотечения [39; 64]. К тому же токи, проводимые через обратный электрод, могут вызвать ожоги внутренних органов, сосудов и нервных окончаний. Основные отрицательные стороны шовного материала в том, что он «повреждает» ткань («пилящий эффект») паренхиматозных органов, усиливает кровотечение, а глубоко наложенные повторные швы могут вызвать ишемию органа с нарушением его функции и даже некрозом. Кроме того, наложение швов не обеспечивает быструю остановку кровотечения [5; 6; 9; 38; 89; 90]. Особенно остро эти вопросы возникают при остановке кровотечений из паренхиматозных органов [17].

В последнее время все больше ощущается необходимость внедрения новых методов остановки кровотечений с определенными требованиями, а именно: «быстрая» остановка кровотечений, минимальная травматизация тканей, отсутствие контакта с обрабатываемой поверхностью (профилактика ВИЧ-инфекции, гепатитов и т.д.), интраоперационная профилактика инфекционных осложнений, минимальная стоимость аппарата и его обслуживания. На данный момент нет аппарата, соответствующего вышеперечисленным требованиям [20; 38; 39; 54; 61; 173].

В настоящее время в медицину внедряют «неравновесную плазму» («холодную плазму»), генерируемую барьерным разрядом из атмосферного воздуха. При эмиссионной спектроскопии барьерного разряда в атмосферном воздухе выявлено большое количество реактивных компонентов:  $\text{OH}$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2^+$ , атомарный кислород, а также мощное ультрафиолетовое излучение [3; 39; 64; 135; 147; 224; 255; 272; 305; 330; 336].

Доказано, что «неравновесная плазма» активно уничтожает различные бактерии, вирусы, грибки на любых поверхностях и в растворе, а также обладает выраженным коагулирующим эффектом. Дополнительно «холодная плазма» применяется при лечении инфекции в стоматологии, различных дерматологических заболеваний, при стерилизации ран и ускорении регенерации, как метод остановки кровотечения и лечения онкологических заболеваний, однако механизм данных действий до конца не известен.

В доступной литературе указывается, что воздействие «неравновесной плазмы» имеет преимущества в сравнении с другими видами коагуляции, а именно: отсутствие термического поражения тканей, коагулирующее воздействие и выраженный бактерицидный эффект, также было отмечено, если «неравновесная плазма» работает при большей мощности, в течение более длительного времени и в положении, близком к обрабатываемой ткани, эффекты кратно усиливаются.

Например, под воздействием низких доз «неравновесной плазмы» клетки млекопитающих, растущие в культуре, будут стремиться к пролиферации, но при более высоких дозах они будут подвергаться апоптозу, а при еще более высоких дозах наблюдается некроз. Аналогичные данные получены при исследовании влияния плазмы на клеточную дезоксирибонуклеиновую кислоту. Основным постулатом является то, что вероятным «активным агентом», лежащим в основе биомедицинских эффектов, являются реактивные химические частицы, особенно активные формы кислорода и азота, образуемые в плазме [3; 39; 64; 135; 147; 224; 255; 272; 278; 305; 330; 336].

Несмотря на очевидные преимущества «неравновесной плазмы» ее внедрение в медицину замедлено, а коагулирующие эффекты и влияние на ткани организма остаются недостаточно изученными.

В работе использован разработанный на кафедре прикладной физики (НИ Томский политехнический университет) аппарат «Источник холодной плазмы-1», генерирующий «неравновесную плазму» (температура  $45^{\circ}\text{C}$  по всему разряду, амплитуда импульсов 15 кВ, частота следования 5 кГц,  $S_{\text{электрода}}=5\text{ мм}^2$ ).

*I – Этан in vitro:* Исследование проводилось на цельной венозной крови здоровых людей (18 здоровых доноров) в условиях стандартизированной пробоподготовки (взятие крови из кубитальной вены без наложения жгута в количестве 1 мл силиконизированным шприцем объемом 2 мл).

Далее объем забранной крови делили на два равных, что позволяло сформировать две группы исследования:

1. Контрольная группа: кровь помещали на 90 с в планшетку для определения групп крови из медицинского пластика без каких-либо воздействий, далее кровь при помощи силиконизированного шприца перемещали в кювету из медицинского пластика объемом 0,45 мл и загружали в аппарат АРП-01М «МЕДНОРД» (ООО «МЕДНОРД-ТЕХНИКА», г. Томск, Россия);

2. Экспериментальная группа: кровь помещали в планшетку для определения групп крови из медицинского пластика и в течение 90 с обрабатывали «неравновесной плазмой», после чего кровь немедленно помещали в разовую кювету из медицинского пластика объемом 0,45 мл чистым силиконизированным шприцем объемом 2 мл и загружали в аппарат АРП-01М «МЕДНОРД» (ООО «МЕДНОРД-ТЕХНИКА», г. Томск, Россия).

## *II Этан in vivo:*

Эксперимент по резекции печени с различными видами остановки кровотечения проводили на 99 белых аутбредных крысах самцах линии Wistar массой 280-350 г. В серии эксперимента с резекцией селезенки и остановкой

кровотечения «неравновесной плазмой» работу выполняли на 63 кроликах самцах (порода шиншилла), массой 1800-2000г. Было выполнено 3 серии экспериментов:

Операция резекции печени с последующей остановкой кровотечения швами по Оппелю – 42 крысы.

Операция резекции печени с последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» – 42 крысы.

Операция резекции селезенки с последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» – 48 кроликов.

Взятие материала производили на 60-й мин (в третьей группе) 3-и, 5-е, 7-е, 14-е, 30-е, 90-е и 180-е сут. Контроль – паренхиматозные органы (печень крыс и селезенка кроликов) по 15 животных.

При выполнении оперативных вмешательств наркоз у крыс осуществляли однократным внутримышечным введением раствора «Zoletil-100»® («Virbac», Франция) из расчета 2 мг/кг массы тела экспериментального животного в сочетании с препаратом «Xylavet» (Венгрия) из расчета 1 мг/кг. Доступ к печени производили верхнесрединной лапаротомией с удалением участка паренхимы левой доли печени (в объеме 1/3) скальпелем.

В группе с гемостатическими швами печени выполняли швы по Оппелю нитью «VICRYL» 5/0 на атравматической игле («Ethicon», Шотландия). У второй группы экспериментальных животных с коагуляцией «неравновесной плазмой» печени остановку кровотечения осуществляли с применением аппарата «ИХП-1».

Анестезию у кроликов выполняли через периферический катетер 24G, установленный в большую ушную вену. Однократно вводили раствор Zoletil-100® в сочетании с препаратом Xylavet. Доступ к селезёнке осуществляли верхнесрединной лапаротомией с последующей ее резекцией в объеме 1/3 скальпелем. Резекцию паренхиматозных органов (печень, селезенка) выполняли без пережатия сосудистого пучка и паренхимы органов. Остановку кровотечения из селезёнки производили только аппаратом «ИХП-1».

Время остановки кровотечения во всех экспериментальных группах фиксировали на стандартном секундомере. После коагуляции послеоперационную

рану послойно зашивали нитью «VICRYL» 5/0 на атравматической игле и накладывали асептическую повязку. Длительность операций составляла около 45-60 мин. Летальные исходы отсутствовали. Перевязку и осмотр проводили ежедневно. Окончательно повязку снимали на 4-е сут. Раны заживали первичным натяжением.

У всех животных после операции определяли объем кровопотери стандартным гравиметрическим методом (лабораторные электронные весы CAS RE-260, CAS Corp. Южная Корея, дискретность-0,05/0,1). Разница в массе салфеток составляла массу потерянной в ходе операции крови. Объем кровопотери определяли по формуле:

$$V_{\text{кровопотери}} = M_{\text{пк}} / 1,051$$

где  $M_{\text{пк}}$  – масса потерянной крови в ходе эксперимента; 1,051 – показатель плотности крови грызунов.

Выведение животных из эксперимента осуществляли при помощи  $\text{CO}_2$  – асфиксии.

Для комплексного гистологического исследования паренхиматозных органов в разные временные промежутки эксперимента забирали фрагменты печени и селезенки. Гистологический материал фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина и обрабатывали стандартным способом с последующей окраской гематоксилином и эозином для обзорной микроскопии; с целью идентификации выраженности фиброза – пикрофуксином по Ван-Гизону. Полученные срезы изучали с использованием бинокулярного светового микроскопа Carl Zeiss Axioskop 40 FL. При обзорной световой микроскопии оценивали воспалительные, регенераторные, дисрегенераторные (пролиферацию, гиперплазию), фиброзные процессы. С помощью цифровой фотокамеры Canon Power Shot A 630 производили фотосъемку гистологических препаратов (7–10 случайных полей зрения для каждого среза). Цифровые фотографии подвергали морфометрическому исследованию с использованием компьютерной программы ImageJ 1.46 (режим доступа <http://www.rsbl.info.nih.gov/ij/>). За единицу измерения принимали  $1 \text{ мм}^2$  исследуемых органов. С помощью метода точечного счета Г.Г.

Автандилова (1960 г.) с использованием Plugins «Grid» в гистологических препаратах подсчитывали удельные объемы следующих структур: гепатоцитов с признаками дистрофии, двухядерных гепатоцитов, гепатоцитов с некротическими изменениями, соединительной ткани. При анализе морфометрических структур селезенки подсчитывали удельный объем красной пульпы, удельный объем белой пульпы, удельный объем соединительной ткани, удельный объем сосудов. При помощи Plugins «Cell» программы ImageJ на 1 мм<sup>2</sup> исследуемых органов подсчитывали плотность клеточного инфильтрата.

Отпечатки селезенки изготавливали по стандартной методике. Первым этапом выполнялся срез и отпечатки резецированного участка селезенки без обработки «неравновесной плазмой» (группа контроля). Вторым этапом – обработка поверхности среза этой же селезенки «неравновесной плазмой» в течение 1 минуты, резекция области селезенки, обработанной плазмой, и её отпечатки на предметном стекле. Для группы контроля (N) и экспериментальной (Plasma) группы выполнено по семь отпечатков селезенки. Окраску выполняли по Нохту – Максимову.

Взятие крови у крыс осуществляли после предварительной асфиксии в камере с CO<sub>2</sub>. Вскрывали переднюю брюшную стенку и стерильным шприцом набирали 5 мл крови из сердца. Взятие крови у кроликов производили из большой ушной вены при помощи периферического катетера 24G. Анализ биохимических показателей крови проводили по расширенному биохимическому международному профилю: АЛТ, АСТ, билирубин общий, билирубин прямой, щелочная фосфатаза, общий белок, мочевины крови, тимоловая проба,  $\alpha$ -амилаза. Учитывая гемостатические свойства «неравновесной плазмы» производили комплексное определение гемостатических показателей крови: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), международное нормализованное отношение (МНО), исследование агрегации тромбоцитов и фибринолитической активности, определение протромбинового времени (ПТВ). Анализы крови выполняли на полуавтоматическом биохимическом анализаторе Photometer 5010 v5+ («Riele», Германия). Коагулологические исследования проводились на коагулометре



Destiny Plus (Tcoag Ireland Limited, Ирландия) с оптическим принципом регистрации образования сгустка. Клоттинговые исследования включали: определение ПТВ, МНО, АЧТВ, а также растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК). Определение количества фибриногена проводилось по методу Clauss.

В группе с резекцией селезенки и последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» выполняли общий анализ крови.

В отдалённом послеоперационном периоде (на 90-е и 180-е сут) выполняли МРТ печени с контрастным усилением («Примовист»), а также контрастную МР – ангиографию в группе с коагуляцией селезенки «неравновесной плазмой» («Гадовист»).

Статистическую обработку проводили при помощи пакета программ SPSS и Statistica 6.0. Данные представляли в виде медианы (Me), меру рассеяния – в виде квартильного интервала (Q 0,25–Q0,75). В связи с тем, что небольшой объем выборки не позволил отнести данное распределение к нормальному закону, статистический анализ осуществляли с использованием непараметрических критериев: для попарно несвязанных выборок применяли метод Манна – Уитни. Сравнение показателей в трех несвязанных группах проводили дисперсионным анализом Крускала-Уоллиса. Критическим уровнем значимости считали значение  $p < 0,05$ .

Гемостазиологические особенности свойств крови здоровых доноров после обработки «неравновесной плазмой».

Статистически значимых изменений между группами без выдержки образцов крови на воздухе и после таковой в течение 90 с не выявлено.

Напротив, после 90 с воздействия «неравновесной плазмой» выявлено статистически значимое усиление этапа пропагации фибриногенеза: КТА была увеличена на 59 %, ИКД на 66 %, на фоне 55 % сокращения времени наступления «точки желирования» ( $p < 0,05$ ). Хронометрическая гиперкоагуляция (сокращение Т5 на 65 %,  $p < 0,05$ ) сопровождалась, хоть и в меньшей степени, снижением плотности сгустка (МА уменьшена на 7 %,  $p < 0,05$ ).

Воздействие «неравновесной плазмы» на исследуемые образцы крови характеризуется разнонаправленностью действия на скорость латеральной сборки и плотность образования поперечно сшитого фибрина, индуктором которых выступает тромбин.

Ускорение образования сгустка происходит на 65%, однако на 7% уменьшается его прочность, позволяя констатировать достаточно мощный коагулирующий эффект «неравновесной плазмы». «Прочность» тромба в данном случае не играет основной роли, поскольку цель практического применения «неравновесной плазмы» – остановка паренхиматозного кровотечения, где достаточно ускорить образование, пусть и неполноценных, тромбов. Возможно, что *in vivo* прочность тромба будет выше, так как в условиях *in vitro* исключается влияние неравновесной плазмы на эндотелий, который активно участвует в свертывании крови.

Показатели интраоперационного объема кровопотери у экспериментальных животных при различных видах коагуляции во время резекции печени и селезенки определяли гравиметрическим методом.

Одним из критериев оценки травматичности методов остановки интраоперационного кровотечения является определение количества потерянной крови в ходе оперативного вмешательства.

По результатам гравиметрического метода в группе после резекции печени с остановкой кровотечений швами по Оппелю показатель составил 3,455 [3,310;6,462] мл, в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» – 1,1561 [1,1035;2,1545] мл. При сравнении данных обеих групп выявлено, что при коагуляции «ИХП-1» объем кровопотери в 3 раза ниже ( $p = 0,049$ ).

При определении объёма кровопотери в группе с резекцией селезенки у кроликов с последующей остановкой кровотечения «ИХП-1» показатель – 16,6 [15,98;17,22] мл.

Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии в группе со швами печени по Оппелю. У животных данной экспериментальной группы в динамике послеоперационного периода отмечали незначительные изменения

биохимических показателей крови и маркеров гемокоагулографии. При анализе независимых данных с использованием критерия Крускала-Уоллиса было выявлено, что содержание общего билирубина, показатели АЧТВ, протромбинового времени и МНО не имели статистически значимых различий ( $p > 0,05$ ) во всех контрольных точках. К 3-м сут выявлено снижение ( $p = 0,014$ ) содержания мочевины до 4,95 [4,55;5,10] ммоль/л, возрастание количества единиц тимоловой пробы ( $p = 0,012$ ) до 3,1 [2,9;3,8] с пиковым увеличением показателя к 7-м сут до 3,39 [3,12;3,55] при ( $p = 0,008$ ) и концентрации фибриногена ( $p = 0,014$ ) – 4,95 [4,55;5,1] ммоль/л. Также отмечается повышение концентрации глюкозы крови до 10 [8,65;11,0] ( $p = 0,009$ ), АЛТ до 134,0 [85,0;167,5] Ед/л ( $p = 0,028$ ), АСТ до 183,0 [161,0;201,5] Ед/л ( $p = 0,012$ ) и прямого билирубина до 7,0 [5,0;10,0] мкмоль/мл ( $p = 0,005$ ). На 5-е сут выявлено снижение ( $p = 0,042$ ) активности  $\alpha$ -амилазы крови 2343 [2051;2363], однако, к 7-м сут этот показатель возрастал ( $p = 0,014$ ) до 3860,5 [3737; 3999,5] Ед/л и к 14-м сут достигал максимального повышения ( $p = 0,014$ ) – 5245,5 [4934,5;5671] Ед/л в сравнении с показателями контроля (рисунок 6). Дополнительно на 5-е сут отмечается уменьшение показателей концентрации глюкозы крови 7,8 [7,8;10,0] при  $p = 0,008$ , АЛТ до 132,0 [122,0;155,0] при  $p = 0,002$ , АСТ – 107,0 [50,0;176,0] при  $p = 0,0019$  и показателей прямого билирубина до 5 [2,2;6,2] при  $p = 0,001$ . Начиная с 14-х сут показатели концентрации глюкозы крови, АСТ, АЛТ, тимоловой пробы и прямого билирубина восстанавливались до контрольных значений, а концентрация мочевины крови несколько возрастала до 9,4 [8,9;9,5] ммоль/л при  $p = 0,014$ . На 30-е сут активность  $\alpha$ -амилазы крови несколько снижалась ( $p = 0,008$ ) и составляла 4596 [4369; 4606] Ед/л. Активность щелочной фосфатазы имела схожую динамику: возрастала ( $p = 0,027$ ) с 5-х сут до 422 [418; 462] Ед/л, на 7-е до 481,5 [384,5; 562,5] Ед/л при ( $p = 0,027$ ), к 14-м сут достигала максимальных значений ( $p = 0,014$ ) – 437 [399; 475] Ед/л в сравнении с контролем. На 5-е сут концентрация фибриногена и количество единиц тимоловой пробы увеличивались ( $p = 0,009$ ) – 4 [3,75; 4,1] г/л и 3,39 [3,12; 3,55] усл.ед. соответственно, а к 7-м сут сохранялись несколько повышенными в сравнении с контролем до 3,53 [3,15;

3,93] г/л и 3,01 [2,41; 3,63] усл.ед. соответственно. Содержание общего белка снижалось ( $p = 0,08$ ) до 69 [65; 79] г/л к 30-м сут в сравнении с контролем.

Тканевые особенности печени экспериментальных животных в группе с резекцией печени и последующей остановкой кровотечения швами по Оппелю были следующие. Тканевая реакция печени на 3-и сут после оперативного вмешательства характеризовалась явлениями острого воспаления, диффузным полиморфноклеточным инфильтратом и преобладанием сегментоядерных нейтрофилов в нем, также имеются дистрофические и некротические процессы. Гемодинамические изменения в печеночной дольке сопровождались расширением центральной вены, междольковых артерии и вен. В последних были выявлены морфологические признаки плазмостаза и лейкостаза, что нередко сочеталось с периваскулярным и внутриклеточным отеком с набуханием эндотелиоцитов, уменьшением просвета сосуда с реологическими изменениями форменных элементов в нем в виде стаза, сладжа и тромбоза. В некоторых участках выявлялся умеренный, периваскулярный фиброз с небольшим количеством коллагеновых волокон. Синусоидные капилляры печени были расширены и полнокровны, вокруг них определялись диапедезные геморрагии. Повсеместно определялся периваскулярный и межклеточный отек, сдавливающий гепатоциты.

Печеночные дольки были дисконфигурированы, печеночные пластинки нарушены. Гепатоциты формировали неупорядоченные структуры или располагались вообще независимо друг от друга. Среди гепатоцитов определялись клетки с признаками зернистой и гидропической (баллонной) дистрофии, а также с некротическими изменениями.

На 5-е сут в гистологическом препарате паренхимы печени экспериментальных животных сохранялись сосудистые и воспалительные изменения с признаками расширения синусоидов, венозного полнокровия центральной вены и диффузным полиморфноклеточным инфильтратом. В некоторых участках печеночной дольки определялся шовный материал, который ограничивается зоной перифокального воспаления, с внедрением сегментоядерных нейтрофилов между швами.

Желчные капилляры и желчные протоки были расширены, содержали большое количество желчи.

Структура печеночных пластинок была полностью разрушена. В гепатоцитах выявлялись признаки зернистой и гиалиново-капельной дистрофии, а также мелкие очаги некроза печеночных клеток. Между триадами в печеночных дольках выявлялись очаговые мелкие скопления лимфоцитов.

Сравнивая показатели данной группы на 3-е сут, 5-е сут и показатели группы контроля отмечаются статистически значимые различия по всем морфометрическим значениям (на 3-е сут  $p = 0,011$ , на 5 сут  $p = 0,011$  и  $p = 0,018$  (для показателя УО дв.г.)). УО дв.г. снизился до – 3,54 [3,25; 4,28] и 5,28 [4,26;6,25]  $\text{мм}^3/\text{мм}^3$  соответственно, а остальные показатели возросли, а именно: УО д.г. – 33,54 [19,72; 47,24] и 37,68 [23,22;48,55]  $\text{мм}^3/\text{мм}^3$  соответственно, число гепатоцитов с некротическими изменениями в 1  $\text{мм}^2$  – 117,475 [88,25; 128,33] и 212,48 [175,25; 223,26]  $\text{мм}^3/\text{мм}^3$  соответственно, показатель плотности инфильтрата в 1  $\text{мм}^2$  достиг своего максимального значения – 4496,06 [4250,33; 6833,29]  $\text{мм}^2$ , а показатель УО с.т. – 8,56 [7,42; 11,34] и 11,35 [6,25;12,62]  $\text{мм}^3/\text{мм}^3$  соответственно.

На 7-е сут в ткани печени можно было дифференцировать печеночную дольку с триадами. В некоторых участках отмечалось расширение просвета междольковой артерии и вены с признаками стаза эритроцитов. Многие гепатоциты были с признаками белковой и жировой дистрофий. Единичные коллагеновые волокна располагались вокруг междольковой артерии, вены и желчного протока. Отмечался крупный очаг некроза, вокруг которого дифференцировалась грануляционная ткань с большим количеством кровеносных сосудов. Шовный материал разграничивался прослойками грануляционной ткани.

При сравнении морфологических показателей группы животных с гемостатическими швами печени на 7-е сут и группы контроля были отмечены различия ( $p = 0,011$ ) по показателям: УО д.г., УО н.г, плотности инфильтрата и УО с.т., которые возросли до 13,915 [8,24;18,46], 10,91 [6,24; 14,31], 415,17 [325,12; 531,25] и 16,19 [13,99;18,24]  $\text{мм}^3/\text{мм}^3$  соответственно.

К 14-м сут сосудистые изменения были слабо выражены и в основном касались незначительных расширений синусоидных капилляров печени и центральных вен, в некоторых сосудах определялся стаз эритроцитов.

Вокруг междольковой артерии, вены и желчного протока выявлялся очаговый лимфоцитарный инфильтрат, который нередко вызывал сдавление просвета сосудов. Между некоторыми печеночными триадами выявлялся выраженный периваскулярный фиброз с окклюзией просвета сосудов. Шовный материал внутри и вокруг нитей прорастал плотными пучками коллагеновых волокон соединительной ткани. Некоторые гепатоциты по-прежнему сохраняли дистрофические изменения. При оценке морфологических показателей на данный срок отмечается статистически значимое повышение УО дв.г. – 15,39 [12,91;17,82] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>, а к 30-м сут он достигает своего пикового значения – 32,83 [27,82;39,91] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>, однако в отдаленные сроки колебания данного показателя не имеют статистически значимых отличий. УО с.т. имеет схожую динамику изменений с постепенным возрастанием показателя до максимальных значений на 30-е сут – 65,42 [62,28;74,66] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup> и достоверным снижением в отдаленные сроки (90-е сут) до 12,00 [8,00;16,00] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup> и 15,00 [9,00;38,00] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup> к 180-м сут. Показатель числа гепатоцитов с некротическими изменениями с 14-х до 180-х сут достоверно снижался до 5,00 [4,00;6,00] в 1 мм<sup>2</sup>. Плотность инфильтрата достоверно снижается к 30-м сут до 502,95 [428,48;632,34] в 1 мм<sup>2</sup> с повышением к 90-м и последующим снижением на 180-е сут до 1293,50 [916,48;1350,00] в 1 мм<sup>2</sup>. УО д.г. на протяжении отдаленных сроков достоверно увеличивается и составляет 72,50 [58,00;82,00] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup> (рисунок 7, 8, 9, 10, 11).

К 30-м сут отмечалось восстановление структуры печени экспериментальных животных, лишь только в некоторых участках паренхимы печени можно было визуализировать небольшое расширение синусоидов, а также гепатоциты с признаками дистрофии.

Среди гепатоцитов в печеночной дольке можно было дифференцировать крупные клетки с признаками пролиферации и двухядерные гепатоциты. В



паренхиме печени, особенно между шовным материалом, идентифицировались небольшие прослойки соединительной ткани.

На 90-е сут в препаратах паренхимы железы определялись «остаточные признаки» воспалительных изменений с единичными периваскулярными и перибилиарными лимфоплазмочитарными инфильтратами и небольшим количеством гепатоцитов с признаками дистрофии. В некоторых сосудах обнаруживалась картина внутрисосудистого свертывания с отложением нитей фибрина и формированием тромбов.

Важно отметить, что на эти сроки эксперимента в перипортальной области печеночной доли (соединительная ткань между междольковой веной) определялось большое количество гемосидерофагов, что может свидетельствовать о развитии диапедезных или очаговых кровоизлияний с последующим разрушением эритроцитов в макрофагах и превращении последних в гемосидерофаги. В некоторых участках печеночной доли между триадами определялись признаки умеренного периваскулярного фиброза.

Между эндотелиоцитами выявлялись звездчатые клетки, макрофаги (Купферовы клетки печени). Между гепатоцитами располагались небольшие скопления мелких клеток с пикнотичным ядром (клетки Pit-системы - лимфоциты).

К 180-м сут сохранялись признаки полнокровия с расширением синусоидных капилляров и центральных вен. Гепатоциты с дегенеративными изменениями и выраженными признаками белковой дистрофии. Выраженный фиброз в структурах печеночной пластинки определялся периваскулярно.

Динамическое магнитно-резонансное исследование печени с контрастным усилением в группе с резекцией печени и с последующей остановкой кровотечения швами по Оппелю, показало, что исследовании на 90-е сут отмечается снижение накопления парамагнетика в печени. На МР – фрагментах исследована 12-я мин от начала введения контраста. В контрольной группе отмечалось выраженное накопление Gd-EOB-DTPA в области печени и частичный выход его в просвет тонкой кишки. Контрастный эффект от области

почек был менее выражен и едва определялось контрастное усиление полости мочевого пузыря. На 90-е сут после резекции со швами по Оппелю видимое визуальное снижение контрастного эффекта от области печени сочеталось с повышением контрастности от области почек, а также с достаточно интенсивным контрастным усилением полости мочевого пузыря. Дополнительно отсутствовало контрастное усиление просвета тонкой кишки.

На 180-е сут после операции при введении Gd-EOB-DTPA на 12-й минуте заметно снижался контрастный эффект от области почек при сохраняющемся достаточно интенсивном контрастном усилении полости мочевого пузыря и отсутствии контрастного усиления просвета тонкой кишки. При статистическом анализе данных MPT согласно тесту Крускала-Уоллиса выявлены различия коэффициентов CNR в следующих случаях: до контрастного усиления ( $p = 0,01$ ) и на 26-й мин после контрастного усиления ( $p = 0,049$ ). Показатели CNR-0 и CNR-1 достоверно ( $p=0,036$ ) имели различия с показателями контроля в группе со швами по Оппелю на 180-е сут. При использовании парного критерия Манна–Уитни (при пороговом уровне значимости  $p = 0,05$ ) было зафиксировано значимое повышение контрастности печени между доконтрастными изображениями на 180-е сут по отношению к контролю ( $p = 0,014$ ) и 90-м сут ( $p = 0,009$ ). К 90-м сут значимых различий контрастного усиления по отношению к контролю выявлено не было ( $p > 0,05$ ), хотя визуально отмечалось снижение максимального контрастного эффекта CNR<sub>макс</sub> и сокращение времени его наступления t<sub>макс</sub>. При сравнении контрастного эффекта между группами на 90-е и 180-е сут было обнаружено значимое повышение CNR на всем протяжении контрастного исследования ( $p = 0,005$ ).

При сравнительном анализе максимальных значений CNR<sub>макс</sub> и времени наступления максимума t<sub>макс</sub> установлено, что по уровню максимального контрастного эффекта значимых различий на 90-е и 180-е сут не было ( $p > 0,5$ ), а при сравнении времени наступления максимального контрастного эффекта зафиксировано значимое сокращение времени максимального контрастного эффекта на 90-е и 180-е сут по сравнению с контролем (таблица 2).

Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии экспериментальных животных в группе с резекцией печени и последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» имели незначительные колебания. При анализе независимых данных (больше двух групп исследования) с использованием критерия Крускала-Уоллиса было выявлено, что такие значения, как концентрация фибриногена, АЧТВ, протромбинового времени, МНО, не имели статистически значимых различий во все сроки ( $p > 0,05$ ).

На 3-и сут отмечалось увеличение следующих показателей: концентрации глюкозы крови – 10,1 [14,9;10,5] ммоль/л при  $p = 0,002$ , активности АСТ ( $p = 0,021$ ) до 80,0 [70,0;93,0] Ед/л и АЛТ до 106,0 [90,0;110,0] Ед/л при  $p = 0,009$ , активности  $\alpha$ -амилазы ( $p = 0,009$ ) до 3337 [3120;3516] Ед/л, концентрации общего белка ( $p = 0,009$ ) до 65,0 [62,3;67,0] г/л, количества единиц тимоловой пробы ( $p = 0,008$ ) 3,20 [2,80;4,55] усл.ед. по отношению к контролю. Возрастание концентрации прямого билирубина отмечалось на 3-и сут – 5,0 [3,0;6,2] мкмоль/л при  $p = 0,002$ , а к 5-м сут данный показатель снижался до 2,0 [1,0;2,2] при  $p = 0,009$  с последующим восстановлением до контрольных значений в оставшиеся сроки.

К 5-м сут имело место снижение следующих показателей, таких как активность ЩФ крови и концентрация общего белка (при  $p = 0,009$ ) до 157 [135;169] Ед/л и 61,8 [60,9; 64,8] г/л соответственно, концентрация глюкозы крови до 7,8 [7,8;8,1] ммоль/л. В месте с тем имелось незначительное возрастание некоторых показателей крови: активности АЛТ и АСТ – 132 [115;180] Ед/л при  $p = 0,008$  и 101 [100;134] Ед/л при  $p = 0,021$ , соответственно. В дальнейшие сроки концентрация показателя глюкозы крови восстанавливалась до контрольных значений.

Начиная с 7-х сут активность АЛТ и АСТ постепенно снижалась вплоть до контрольных значений в отдаленные сроки. Активность  $\alpha$ -амилазы крови повышалась ( $p = 0,009$ ) до 3791 [3683; 3930] Ед/л. К 14-м сут активность  $\alpha$ -амилазы продолжала увеличиваться ( $p = 0,009$ ) и достигала пикового значения в 4111 [3950; 4200] Ед/л. Содержание общего белка снижалось до контрольных

значений, концентрация мочевины крови сохранялась повышенной ( $p = 0,047$ ) – 8,0 [7,5; 9,1] г/л), так же как и количество единиц тимоловой пробы было повышенным ( $p = 0,05$ ) – 2,20 [1,83; 2,99] против показателей контроля – 1,33 [1,33; 1,56] усл.ед (рисунок 6).

Тканевые особенности печени экспериментальных животных в группе с резекцией печени и последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» заключались в том, что на 3-и сут после оперативного вмешательства невозможно идентифицировать печеночную дольку. В препаратах определялся обширный участок некроза, который был представлен аморфной ярко оксифильной массой, состоящей из погибших гепатоцитов. По периферии этот участок был ограничен демаркационной линией, в которой определялись преимущественно сегментоядерные нейтрофилы с морфологическими признаками дегрануляции. В триадах отмечались признаки полнокровия с расширением венозных сосудов, в которых визуализировался плазмостаз и краевое стояние лейкоцитов. Эндотелиальные клетки были с морфологическими признаками внутриклеточного отека, сопровождавшегося увеличением размера клетки. Гемодинамические изменения также затрагивали синусоидные капилляры и центральные вены, которые были расширены с признаками стаза и полнокровия.

Перисинусоидальные макрофаги (клетки Купфера) были с высокой функциональной активностью, что сопровождалось расширением цитоплазмы клетки, которая содержала мелкие полиморфные включения. Вокруг междольковой артерии, вены и желчного протока локализовался выраженный диффузный полиморфноклеточный инфильтрат. Большое число гепатоцитов в гистологическом препарате печени было с признаками белковой (зернистой) дистрофии

В соединительной ткани, расположенной как периваскулярно, так и вокруг печеночных долек, выявлялись морфологические признаки отека с увеличением относительного объема коллагеновых волокон.

В препаратах печени на 5-е сут сохранялись воспалительные и дистрофические изменения паренхимы органа крыс, что затрудняло идентификацию печеночной долики. Гемодинамические изменения проявлялись в выраженном расширении синусоидных капилляров, центральных и междольковых вен. Последние нередко с морфологическими признаками стаза, сладжа и тромбоза. В паренхиме печени отмечался выраженный очаговый лимфоплазмоцитарный инфильтрат, который локализовался вокруг печеночных триад с мелкоочаговыми кровоизлияниями. Большая часть гепатоцитов была с признаками зернистой и гиалиново-капельной «баллонной» дистрофии. Среди печеночных клеток с признаками дистрофии определялись клетки обычного строения. Разволокненные коллагеновые волокна локализовались преимущественно периваскулярно.

В гистологическом препарате на 7-е сут исследования воспалительные изменения уменьшены, а диффузный полиморфноклеточный инфильтрат сменялся на очаговый периваскулярный лимфоплазмоцитарный.

В тоже время в некоторых гистологических препаратах на данный срок исследования можно было четко идентифицировать погибшие гепатоциты, которые были окружены полиморфноклеточным инфильтратом. В гепатоцитах сохранялись признаки белковой и жировой дистрофий, а также в большом количестве выявлялись печеночные клетки обычного строения. Тонкие коллагеновые волокна располагались как между триадами, так и между печеночными клетками.

К 14-м сут исследования при окраске по Ван-Гизону можно идентифицировать небольшие участки «молодой соединительной ткани» с большим количеством кровеносных сосудов и единичными фибробластами. Незначительные сосудистые изменения в печеночной долеке проявлялись расширением синусоидных капилляров и центральных вен. Вокруг синусоидов можно обнаружить небольшое количество макрофагов, некоторые из которых с признаками высокой функциональной активности. В паренхиме печени обнаруживались гепатоциты обычного строения, а также в большом количестве

двухядерные печеночные клетки, также имеются гепатоциты с морфологическими признаками дистрофии.

На 30-е сут эксперимента идентифицировали паренхиму органа, состоящую из печеночных долек, разделенных небольшими прослойками соединительной ткани. В некоторых участках гистологического препарата обнаруживалась капсула печени, которая была незначительно утолщена. Печеночная долька восстанавливалась до нормального строения и состояла из печеночных пластинок (балок), печеночных триад (междольковая артерия, междольковая вена и желчный проток), синусоидных капилляров и центральных вен. Некоторые синусоидные капилляры были незначительно расширены. В некоторых участках определялись гепатоциты с признаками гипертрофии. Эти печеночные клетки были увеличены в размерах, с крупным ядром и сетчатой структурой хроматина, нередко в ядре этих клеток можно было идентифицировать укрупненные ядрышки. В данных гистологических препаратах при окраске по Ван-Гизону удавалось выявить незначительный междольковый и периваскулярный фиброз.

К 90-м сут сохранялись сосудистые нарушения, проявляющиеся в незначительном расширении синусоидных капилляров, центральных и междольковых вен, а также умеренные признаки отека. В некоторых участках определялись гепатоциты с выраженными признаками белковой и жировой дистрофии, разделенные лимфоплазмочитарными инфильтратами. Кроме того выявлялся незначительный перибилиарный и перипортальный фиброз, коллагеновые волокна были разволокнены, набухшие.

Показатель УО д.г. достоверно повышен на все сроки исследования, однако начиная с ранних суток исследования постепенно снижается и достигает минимального значения на 30-е сут – 4,16 [3,28;4,66] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>, на 90-е сут достоверно повышается до 27,50 [25,00;34,50] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>, а к 180-м достоверно снижен до 10,00 [8,00;14,00] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>.

Значение УО дв.г. наоборот с постепенным достоверным повышением до 30-х сут – 23,99 [18,84;28,25] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>, в отдаленные сроки исследования статистически значимых колебаний показателя не выявлено.



При оценке числа гепатоцитов с некротическими изменениями отмечается достоверное снижение с 22,53 [12,44;34,22] в 1 мм<sup>2</sup> на 3-и сут и минимальным значением к 30-м сут 3,23 [1,46;6,22] в 1 мм<sup>2</sup>, на 90-е незначительно повышается до 8,00 [4,00;20,00] в 1 мм<sup>2</sup>, а на 180-е не имеет статистически значимых различий ( $p = 0,114$ ).

УО с.т. достоверно возрастает и к 14-м сут достигает максимального значения 35,93 [24,46;44,39] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>, с последующим снижением к 180-м сут до 9,50 [5,50;13,00] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>.

Показатель плотности инфильтрата имеет достоверные колебания во все сроки исследования и на 180-е сут остается повышенным до 1237,50 [1062,00;1519,00] в 1 мм<sup>2</sup> (рисунок 7, 8, 9, 10, 11).

Динамическое магнитно-резонансное исследование с контрастным усилением печени в группе с резекцией печени и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой» показало, что на 90-е сут после операции выявлено снижение накопления препарата «Примовист» в печени. При описании МРТ-фрагментов изображения на 12-й минуте от начала введения парамагнетика было хорошо видно накопление препарата в области печени и частичный выход парамагнетика в просвет кишечника. Контрастный эффект от области почек был менее выражен и едва определялось контрастное усиление полости мочевого пузыря.

К 90-м сут после оперативного вмешательства наблюдалось снижение контрастного эффекта от области печени, что сочеталось с повышением контрастности от области почек и с достаточно интенсивным контрастным усилением полости мочевого пузыря. Также отсутствовало контрастное усиление просвет тонкого кишечника. На 180-м сут после оперативного вмешательства с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» при контрастировании препаратом «Примовист» на 12-й мин заметно усилился контрастный эффект от области почек при сохраняющемся интенсивном контрастном усилении полости мочевого пузыря.

При статистическом анализе данных МР-томографии выявлены значимые различия ( $p = 0,032$ ). По результатам критерия Крускала-Уоллиса данные во всех трех группах были неоднородны и имели статистически значимые различия по значению CNR на 26-й мин ( $p = 0,037$ ). По результатам парных анализов (критерий Манна-Уитни) различаются значения времени CNR в группе контроля и крыс на 180-е сут после операции на 1-ой, 21-ой и 26-ой минутах ( $p = 0,047$ ), где CNR увеличивался на 180-е сут в группе после оперативного вмешательства (таб. 3). Дополнительно имелись различия между группами животных после операции на 90-е и на 180-е сут по значению CNR на 12-ой ( $p = 0,028$ ), 21-ой ( $p = 0,047$ ) и 26-ой ( $p = 0,016$ ) мин. Показатель CNR возрастал на 180-е сут (таблица 3).

Показатели общего анализа крови экспериментальных животных в группе с резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой», контролировали вплоть до 30-х сут эксперимента. При этом было отмечено, что статистически значимые изменения показателей крови заканчивались к 14-м сут эксперимента и в дальнейшем не выходили за пределы соответствующих значений в сравнении с показателями контрольной группы.

В группе экспериментальных животных наблюдали небольшое снижение показателей эритроцитов и гемоглобина после проведения операции и до 7-х сут эксперимента. Так, содержание гемоглобина в крови кроликов к 7-м сут достигало 100 г/л [113; 117], что было на 11 % ниже контрольных значений (112 [110; 112] г/л,  $p = 0,016$ ). Количество эритроцитов также было в этот период несколько снижено до 7,3 [7,24; 7,90].

Дополнительно отмечалось снижение общего количества лейкоцитов в крови кроликов до 7-х сут эксперимента, когда изученный показатель достигал своего минимального значения 10,4 [8,5; 12,5] Т/л против 15,3 [14,1; 17,1] Т/л, соответственно ( $p = 0,016$ ). Так, к 3-м сут эксперимента в крови у экспериментальных животных произошло увеличение относительного и абсолютного количества сегментоядерных нейтрофилов до 38 [24; 39] % и 4,70 [4,33; 5,30] Т/л соответственно ( $p = 0,016$ ), относительного количества моноцитов до 15 [14; 18] % ( $p = 0,016$ ) при снижении относительного и абсолютного

количества лимфоцитов 48 [27; 54]% и 6,0 [2,7; 6,3] Т/л соответственно ( $p = 0,016$ ). К 7-м сут наблюдения относительное количество сегментоядерных нейтрофилов в крови прооперированных животных было выше контрольных показателей ( $p = 0,016$ ) до 27 [22; 36] %, а абсолютное количество лимфоцитов ниже ( $p = 0,016$ ) 5,2 [4,5; 7,1] Т/л соответствующих показателей в контрольной группе. Плавное снижение относительного и абсолютного количества эозинофилов в крови у кроликов из опытной группы достигало своих минимальных значений к 7-м сут наблюдения, когда эти изученные показатели были на 75 и 80 % ниже контрольных ( $p = 0,016$ ).

Их биохимических показателей крови и показателей гемокоагулографии в группе с резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой» определяли только показатели гемокоагулографии.

При статистическом анализе независимых данных с использованием критерия Крускала-Уоллиса выявлено, что такие гемокоагулографические показатели крови, как протромбиновое время, МНО не имели статистически значимых различий во всех группах ( $p > 0,05$ ). Для остальных показателей проводили попарный анализ групп методом Манна-Уитни.

К 5-м сут отмечалось достоверное ( $p = 0,046$ ) повышение концентрации фибриногена до 3,5 [3,37; 3,5] г/л, однако в дальнейшем данный показатель не имел статистически значимых различий в сравнении с контролем. Показатель АЧТВ имел статистически значимые различия по сравнению с группой контроля на 90-е сут (18 [17,5; 18] с,  $p = 0,043$ ) и 180-е сут (15 [13,5; 15,5] с,  $p = 0,046$ ) против показателей контроля (19 [19; 19,5] с).

При изучении тканевых особенностей селезенки экспериментальных животных в группе с резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой» через 60 мин после воздействия выявляли паренхиму и строму органа. Строма была представлена ретикулярной тканью. В паренхиме органа определялась красная и белая пульпа. Белая пульпа была представлена лимфатическими фолликулами. В каждом узелке определялся центр размножения и периферическая часть. В центре размножения определялись преимущественно

лимфобласты и пролимфоциты. В периферической части идентифицировались зрелые малые лимфоциты. Центральная артерия локализовалась эксцентрично, в ней выявлялись морфологические признаки полнокровия с краевым стоянием лейкоцитов и периваскулярным отеком.

На 3-и сут отмечали разрушение красной и белой пульпы за счет множественных отеков. Она имела бледно-розовый цвет, локализовалась между фолликулами, а также между синусоидными капиллярами красной пульпы. Центральная артерия в фолликулах селезенки была расширена, в некоторых участках выявлялся периваскулярный отек, а также единичные разволокненные коллагеновые волокна. В белой пульпе также определялись очаги кровоизлияний. Красная пульпа в основном была представлена ретикулярной тканью с большим количеством макрофагов, эллипсоидов (комплекс макрофагов и лимфоцитов), разрушенных эритроцитов. В красной пульпе визуализировалось большое количество гемосидерофагов.

Коллагеновые волокна соединительнотканной капсулы и трабекул селезенки были набухшие, разволокненные за счет подкапсулярного и перитрабекулярного отеков.

Таким образом, оценивая данные экспериментальной группы и группы контроля на 3-е сут можно констатировать, что выявлены статистически значимые различия по всем показателям. Показатели УО б.п. ( $p = 0,0001$ ) и УО к.п. ( $p = 0,003$ ) уменьшились до  $34,11 [31,48;41,40] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$  и  $46,74 [44,14;54,04] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$  соответственно, однако отмечалось незначительное развитие УО с.т. до  $3,27 [2,51; 9,34] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$  и увеличение УО сосудов до  $12,25 [9,26;14,48] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$  в сравнении с контролем –  $4,32 [3,28; 5,26] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$ .

К 5-м сут было отмечено изменение структуры красной и белой пульпы за счет выраженного отека. В белой пульпе отечная жидкость локализовалась вокруг лимфатических фолликулов. В некоторых участках органа выявлялись выраженное расширение центральной артерии, «набухание эндотелиоцитов», а также стаз эритроцитов. Гладкомышечные клетки в центральной артерии селезенки, были гипертрофированы. Вокруг центральной артерии местами

определялись небольшие прослойки соединительной ткани. Просвет центральной артерии был спазмирован. В красной пульпе синусоидные капилляры были расширены и полнокровны, в большом количестве определялись макрофаги и гемосидерофаги. В большинстве случаев выявлялись крупные очаги разрушенных эритроцитов. Коллагеновые волокна капсулы селезенки были разволокнены, трабекулы расширены за счет отека.

На 5-е сут отмечались статистически значимое увеличения УО с.т. до 9,42 [7,79;18,0] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup> и УО б.п. ( $p = 0,001$ ) 41,095 [38,22;44,34] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>. Показатель УО к.п., напротив, продолжал снижаться ( $p = 0,002$ ) - 34,12 [29,69; 44,65] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>. Показатель УО сосудов оставался выше показателей контроля - 9,81 [8,26;11,58] мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>.

К 7-м сут в селезенке отмечались умеренные признаки отека, что нарушало типичное строение красной и белой пульпы. Некоторые лимфатические фолликулы в белой пульпе были увеличены за счет гиперплазии лимфобластов и пролимфоцитов герминативного центра. Капсула селезенки была утолщена за счет разволокнения коллагеновых волокон. Показатель УО б.п. на данный срок не имел статистически значимых различий с группой контроля ( $p = 0,326$ ). Отмечались продолжающееся статистически достоверное ( $p = 0,0001$ ) снижение показателя УО к.п. до минимальных значений и увеличение УО с.т. по отношению к предыдущим срокам и контрольным данным.

На 14-е сут в препарате сосудистые изменения были выражены слабо при этом они касались преимущественно синусоидных капилляров. В белой пульпе между фолликулами определялось небольшое количество отечной жидкости. Многие лимфатические фолликулы были увеличены за счет гиперплазии клеточных элементов герминативного центра. Вокруг центральной артерии селезенки располагались небольшие пучки коллагеновых волокон. В красной пульпе визуализировались расширенные синусоидные капилляры, между ними определялись небольшие пучки коллагеновых волокон, между которыми располагались сегментоядерные нейтрофилы. Утолщение соединительнотканной

капсулы селезенки происходило, преимущественно, за счет отека и разволокнения коллагеновых волокон.

К 14-м сут УО к.п. статистически достоверно снижался ( $p=0,0001$ ) до 19,41 [18,22;24,23]  $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ . УО с.т. возрастал, а показатель УО б.п. достоверно снижался ( $p=0,001$ ) на 32,5 %. Значение УО сосудов достоверно увеличивалось ( $p=0,0001$ ) и достигало максимального значения 18,26 [12,26;20,83]  $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ .

На 30-е сут в белой пульпе между фолликулами определялось небольшое количество отечной жидкости. Многие лимфатические фолликулы были увеличены за счет расширения и пролиферации элементов герминативного центра. Вокруг центральной артерии селезенки были расположены небольшие пучки коллагеновых волокон, а ее гладкомышечные клетки оказались гипертрофированными. В красной пульпе синусоидные капилляры были расширены, между ними определялись небольшие тонкие пучки коллагеновых волокон. Наблюдалось выраженное утолщение капсулы селезенки за счет разволокнения ее коллагеновых волокон. При сравнении показателей экспериментальной группы на 30-е сут и показателей контрольной группы выявлены статистически значимые различия по показателям УО б.п., УО к.п. и УО с.т. ( $p = 0,0001$ ). Показатели УО б.п. и УО к.п. достоверно снизились и достигли своего минимального значения, а показатель УО с.т., напротив, увеличился до максимального значения 52,42 [48,44; 57,83]  $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ .

К 90-м сут в структуре селезенки наблюдалось полное разрушение красной и белой пульпы, не было границ между этими двумя гистологическими структурами. В белой пульпе невозможно было идентифицировать фолликулы, а в красной пульпе лимфоциты и плазматические клетки располагались диффузно, формировались тонкие мякотные тяжи. В красной пульпе отмечалось большое количество гемосидерофагов, а также разрушенных эритроцитов. В белой и красной пульпе определялся диффузный фиброз, а также можно было идентифицировать в большом количестве соединительную ткань в капсуле селезенки с выраженным ее утолщением.



На 90-е сут: отмечалось восстановление ( $p = 0,0001$ ) значений УО б.п. и УО к.п., а к 180-м сут данные показатели оставались достоверно ( $p = 0,0001$ ;  $p = 0,005$  соответственно) ниже контрольных и составляли  $22,95 [20,5; 26,5] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$  и  $50,96 [47,24; 56,57] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$  соответственно. Показатель УО с.т. имел схожую динамику и к 180-м сут ( $p < 0,05$ ) снижался в сравнении с предыдущими сроками, однако оставался выше показателей контроля  $22,9 [19,26; 28,1] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$ .

На 180-е сут в гистологическом препарате определялась структура селезенки обычного строения. В ней можно было выделить красную и белую пульпу. Белая пульпа была представлена лимфоидными фолликулами, в которых можно было выделить центр размножения (герминативный центр) и периферическую часть. Центральная артерия в фолликуле имела типичное строение и располагалась эксцентрично. Красная пульпа содержала большое количество синусоидных капилляров, разрушенных эритроцитов, а также скопления макрофагов. Соединительнотканная капсула к 180-м сут имела типичное строение.

При анализе спленограмм в контрольной группе и у животных с коагуляцией «неравновесной плазмой» выявлено статистически значимое ( $p = 0,023$ ) снижение числа малых лимфоцитов до  $23,3 [17,9; 26,7] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$  (рисунки 12, 13, 14, 15)

Динамическое магнитно-резонансное исследование селезенки кроликов с контрастным усилением после резекции и последующей коагуляции «неравновесной плазмой» при статистическом анализе методом Манна-Уитни коэффициентов усиления интенсивности у кроликов группы контроля и на 90-е сут после оперативного вмешательства не выявило статистически значимых различий в данном коэффициенте. Учитывая вышеперечисленные факты восстановления паренхимы селезенки к 90-м сут, МР-исследования на 180-е сут не выполняли.

На основании полученных данных, изученной литературы, а также современных требований хирургии остановка кровотечения должна осуществляться быстро и безопасно, что имеет большое клиническое значение (Т.

Carusetal., 2011). Исследование методов остановки кровотечений проводили на модели резекции левой доли печени крыс и резекции селезенки у кроликов. Сама по себе резекция органа является очень травматичным вмешательством, оставляющим большие по площади раневые поверхности, вызывающим массивную гибель клеток и приводящим к развитию ряда метаболических нарушений, преимущественно на ранних сроках после оперативного вмешательства независимо от вариантов коагуляции (наложение швов по Оппелю или остановка кровотечения «неравновесной плазмой»).

В ранние сроки после резекции печени в обеих группах наблюдалось изменения показателей. Так, при анализе биохимических маркеров крови на ранние сроки выявили увеличение активности АСТ, АЛТ,  $\alpha$ -амилазы, щелочной фосфатазы, значений тимоловой пробы, прямого билирубина, мочевины и концентрации глюкозы. В группе со швами по Оппелю отмечалось повышение количества фибриногена, а к 30-м сут сохранялось незначительное повышение активности  $\alpha$ -амилазы и снижение концентрации белка ниже показателей группы контроля. При этом в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» активность  $\alpha$ -амилазы была ниже, чем в группе с наложением швов по Оппелю (рисунок 6).

Гистологический анализ печени выявил увеличение удельного объема гепатоцитов с признаками дистрофии, с некротическими изменениями, увеличение объемной плотности соединительной ткани ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) и плотности клеточного инфильтрата в  $1 \text{ мм}^2$  в обеих экспериментальных группах на 7-е, 14-е сут с последующим снижением данных показателей к 30-м сут (рисунок 7).

При исследовании морфофункциональных особенностей печени после резекции с различными вариантами остановки кровотечений выявлено, что динамика «восстановления» органа обусловлена не только обширностью травмы, но и напрямую зависит от метода остановки кровотечения: наложение гемостатических швов по Оппелю или коагуляция «неравновесной плазмой».

Основным механизмом остановки кровотечения при прошивании паренхимы печени является механическое сдавление паренхимы и сосудов

органа, которое приводит к гипоксии. Согласно литературным данным, развитие гипоксии является пусковым фактором образования соединительной ткани (А.М. Чарный и соавт., 1961). Таким образом, наложение гемостатических швов при резекции печени должно сопровождаться разрастанием соединительной ткани в паренхиме и приводить к нарушению архитектоники и функции органа. Полученные нами результаты подтверждают данный тезис. В частности, анализ гистологических маркеров выявил, что такие показатели как удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии, число гепатоцитов с некротическими изменениями и плотность инфильтрата в  $1 \text{ мм}^2$  увеличиваются после оперативного вмешательства, а затем достоверно снижаются к 30-м сут и далее сохраняются на повышенном уровне до 180-х сут. Подобная картина характеризует развитие воспалительного и деструктивного процесса в ранние сроки после оперативного вмешательства и постепенное снижение его активности к 30-м сут. Такой показатель, как удельный объем двухядерных гепатоцитов ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ), в ранние сроки снижается, достигая минимума к 3-м сут, а в последующие сроки имеет тенденцию к увеличению до максимальных значений на 30-е сут, что свидетельствует о снижении регенераторного процесса в ранние сроки после оперативного вмешательства и его повышенной активности к 30-м сут. При этом показатель удельного объема соединительной ткани ( $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ ) на ранние сроки после оперативного вмешательства возрастает, продолжает увеличиваться вплоть до 30 сут (рисунок 7, 8, 9, 10, 11).

При оценке МР – картины печени с контрастным усилением в отдаленном периоде на 90-е и 180-е сут в группе с выполнением швов по Оппелю отмечается выраженная закономерность в снижении контрастного эффекта от области печени со значимым смещением времени максимума  $t_{\text{макс}}$  "влево" с 10–12 мин на 3–5 мин, что подтверждается гистологическими изменениями развитием в виде развития венозного полнокровия, отека, вакуольной и жировой дистрофии печени, а также наличием частичных очагов некроза на фоне внутрисосудистого свертывания, формированием тромбов и проявлением начальных признаков периваскулярного фиброза. К 180-м сут значимо повысился контрастный эффект

от области печени по сравнению с 90-и сут. Данная динамика визуальных изменений МР-картины печени в сочетании с отсутствием морфологических данных о микротромбозе свидетельствует о частичном восстановлении внутрисосудистого кровотока печени. Сохраняющееся смещение времени максимального накопления парамагнетика, вероятнее всего, связано с выраженным периваскулярным фиброзом, обусловленным развитием гипоксии при прошивании паренхимы железы. Важно учесть, что выявленные морфологические изменения были обнаружены не только вблизи области вмешательства, но и по всей площади органа.

Таким образом, в результате проведенного исследования разработаны экспериментальные модели резекции паренхиматозных органов (печени крыс и селезенки кроликов) для оценки эффективности различных способов остановки кровотечений: как классическими швами по Оппелю, так и новым методом с применением «неравновесной плазмы». Последняя генерируется в атмосферном воздухе при помощи барьерного разряда и все чаще применяется в различных отраслях медицины.

При исследовании воздействия «неравновесной плазмы» на цельную кровь *in vitro* рассматривали механизмы каталитической активности тромбина, которые оказывают влияние на весь процесс фибриногенеза, однако увеличение скорости образования сгустка не приводит к повышению его прочности, поскольку концентрация фибриногена и других факторов свертывания не изменяется. После обработки «неравновесной плазмой» отмечается укорочение всех хронометрических показателей, однако сгусток образуется неполноценный, страдает фаза ретракции. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о достоверной активации свертывания крови под воздействием «неравновесной плазмы» в результате ускорения всех этапов фибриногенеза.

Полученные результаты научного исследования позволят выработать рекомендации по дальнейшему клиническому использованию перспективных методов остановки паренхиматозных кровотечений. Полученные данные можно экстраполировать на хирургию паренхиматозных органов в целом, что будет

способствовать дальнейшей разработке новых методов лечения поражений печени и селезёнки с помощью неравновесной плазмы.

На основании результатов доказана не только эффективность интраоперационной коагуляции «неравновесной плазмы», но и изучено ее влияния на паренхиму исследуемых органов экспериментальных животных.

В ходе исследований получены новые знания о функциональных и морфологических изменениях клеток печени и селезёнки под воздействием «неравновесной плазмы» (динамика накопления и выведения МР-контрастного препарата, нарушения микроциркуляции, определение области повреждения), а так же о влиянии «неравновесной плазмы» непосредственно на процесс остановки кровотечения. Проведён сравнительный анализ действия «неравновесной плазмы» и швов по Оппелю, который позволил выявить преимущества и недостатки использования данных методов остановки кровотечения в хирургии печени.

Установлено, что коагуляция «неравновесной плазмой» является полноценным методом остановки кровотечений и не нарушает процессы регенерации органа, а также оказывает минимальное травматическое воздействие на паренхиму резецированных печени и селезенки. При анализе данных выявлено, что в паренхиматозных органах (печень и селезенка) после резекции с различными методами остановки кровотечения (швами по Оппелю и «неравновесной плазмой») в ранние сроки (до 30-х сут) процессы регенерации протекают по схожей схеме. Тем не менее, в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» на 7-е сут отмечаются первые признаки регенерации (начальная стадия восстановления биохимических и гистологических маркеров, уменьшение воспалительных явлений), а полностью паренхима печени восстанавливается к 30-м сут. Также на ранних сроках (30-е сут) отсутствуют явления дистрофии и нарушения на уровне микроциркуляторного русла органа.

При ушивании печени швами по Оппелю отмечается более выраженное травматическое воздействие данной методики, характеризующееся более поздними и затяжными сроками регенерации, а также наличием микротромбозов по всему органу, даже в отдаленные сроки на 90-е сут.

У всех экспериментальных животных отмечаются изменения биохимических показателей крови, морфологических маркеров и МР-картины. Однако более выраженные изменения зарегистрированы у экспериментальных животных в группе со швами по Оппелю, чем в группе с остановкой кровотечений «неравновесной плазмой». Это позволяет сделать вывод о наименьшей травматизации паренхимы печени во втором случае.

При резекции селезенки с последующей коагуляцией «неравновесной плазмой» проведенные методы исследования показывают минимальное травматическое воздействие на паренхиму органа «неравновесной плазмы», без нарушения его функционирования, что делает возможным выполнение органосохраняющих операций на селезенке.

Полученные результаты научного исследования позволят выработать рекомендации по дальнейшему клиническому использованию новых и перспективных методов остановки паренхиматозных кровотечений. Полученные данные можно экстраполировать на хирургию паренхиматозных органов в целом, что будет способствовать дальнейшей разработке новых методов лечения поражений печени и селезенки с помощью неравновесной плазмы. Кроме того результаты исследования действия «неравновесной плазмы» на паренхиму печени и селезенки существенно расширят общие знания о влиянии «неравновесной плазмы» на живые организмы, что будет способствовать поиску новых областей, в которых возможно применение «неравновесной (холодной) плазмы».

Обработанная информация позволит широко внедрить в клиническое использование метод остановки кровотечений из печени и селезенки, особенно в профильных хирургических стационарах, где занимаются вопросами хирургии печени и билиарной системы.

## ВЫВОДЫ

1. Разработанная модель резекции паренхиматозных органов (печени у крыс и селезенки у кроликов) на основании экспериментальных данных позволяет изучать различные варианты остановки кровотечений.
2. Эффективность метода остановки кровотечения «неравновесной плазмы» при экспериментальной резекции паренхиматозных органов подтверждается достоверным сокращением объема интраоперационной кровопотери в 3 раза и времени остановки кровотечения в 10 раз по сравнению с таковыми при наложении шва по Оппелю.
3. Время формирования сгустка крови достоверно сокращается (пропагация фибриногена на 59% и наступления «точки желирования» 55%) по данным пьезотромбоэластографии в эксперименте с цельной кровью *in vitro* при использовании «неравновесной плазмы»; показатели клоттинговых тестов для оценки гемокоагуляции при экспериментальной резекции печени и селезенки достоверно не отличаются от референтных значений вне зависимости от метода коагуляции («неравновесная плазма» или наложение шва по Оппелю).
4. Морфологическая картина травматического повреждения печени у крыс в ранние сроки после резекции не зависит от способа остановки кровотечения и характеризуется явлениями белковой и жировой дистрофии гепатоцитов, экссудацией, отеком, сладж-комплексов и тромбозом микрососудов. Частичное восстановление морфологической структуры печени у крыс с коагуляцией «неравновесной плазмой» отмечается на 30-е, при наложении шва по Оппелю – на 90-е сут после резекции. На 180-е сут при использовании «неравновесной плазмы» структура печени у крыс полностью восстанавливается, при применении метода наложения шва по Оппелю - отмечаются фиброз печени и дегенеративные изменения (жировая и белковая дистрофия) в гепатоцитах.
5. Биохимические маркеры крови, характеризующие цитолиз гепатоцитов (АСТ, АЛТ, тимоловая проба, билирубин прямой и общий, мочевины) и явления холестаза (ЩФ), при резекции печени значительно повышены в группе со швом



по Опелю в сравнении с показателями группы при коагуляции «неравновесной плазмой».

6. Подтверждение полного структурно-функционального восстановления сохраняемой части селезенки после резекции и остановки кровотечения «неравновесной плазмой» дает основание говорить об органосохраняющем характере данной методики: показатели общего и биохимического анализов крови в течение всего послеоперационного периода сохраняются в пределах контрольных значений; морфологическая структура селезенки восстанавливается на 180-е сутки путем субституции; МР-картина микроциркуляторного русла в отдалённом периоде (на 90-е сутки после операции) соответствует норме.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Обследование в послеоперационном периоде необходимо осуществлять в определённые контрольные сроки. На основании полученных экспериментальных данных схема обследования пациентов после операциях на печени (при различных вариантах резекции, травмах с разрывами и размозжениями паренхимы, при выполнении остановки кровотечений различными коагуляторами, обработке паренхимы органа деструкторами и т.д.) должна быть комплексной, и включать МРТ-исследование (на 3-м и 6-м месяце). Расширенный биохимический контроль крови (глюкоза, АЛТ, АСТ, билирубин общий и прямой, щелочная фосфатаза, общий белок и его фракции, альбумин, протромбиновый индекс, мочевины крови) следует проводить на 3-е, 5-е, 7-е и 14 сут. Дальнейший контроль биохимического анализа крови необходимо осуществлять раз в месяц до полугода.
2. Оптимальный режим для остановки кровотечения «неравновесной плазмой» - температура  $\leq 45^{\circ}\text{C}$ , амплитуда импульсов 15 кВ, частота следования 5 кГц. Остановку кровотечений «неравновесной плазмой» при резекции паренхиматозных органов рекомендуем производить на расстоянии 5-7 мм между электродом и обрабатываемой поверхностью органа.
3. Коагуляция разработанным способом («неравновесной плазмой») может быть рекомендована в клиническую практику при резекциях печени, а также применяться как органосохраняющий метод при резекциях селезенки.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автандилов, Г.Г. Диагностическая медицинская плоидометрия : учебное пособие / Г.Г. Автандилов. – Москва : Медицина, 2006. – 192 с.
2. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия : руководство / Г.Г. Автандилов. – Москва : Медицина, 1990. – 384 с.
3. Алейник, А.Н. Плазменная медицина : учебное пособие / А.Н. Алейник. – Томск, 2011. – 40 с.
4. Алексеев, В.С. Травма селезенки / В.С. Алексеев, Е.С. Катанов // Медицинский журнал Чувашии. – 1993. – № 1. – С. 36–43.
5. Альперович, Б.И. Неотложная хирургия живота / Б.И. Альперович, М.М. Соловьев. – Томск : Курсив, 2002. – 222 с.
6. Альперович, Б.И. Хирургия печени : руководство / Б.И. Альперович. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 348 с.
7. Андреев, А.Л. Первый опыт применения плазменного скальпеля при лапароскопических операциях / А.Л. Андреев, Е.П. Рыбин, В.Г. Учваткин // Материалы VIII Всероссийского съезда хирургов : тезисы докладов. – Краснодар, 1995. – С. 322–323.
8. Андрианов, Н.Г. Экспериментальное обоснование и клиническое применение термокоагуляции для остановки паренхиматозного кровотечения при операциях на печени : дис. ... канд. мед.наук / Н.Г. Андрианов. – Москва, 1974. – 193 с.
9. Асоян, Г.А. Местный гемостаз в хирургической практике / Г.А. Асоян, О.С. Белоусов // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 1984. – Т. 132, № 4. – С. 14–19.
10. Бабаджанов, Б. Лазерные и плазменные скальпели в хирургии эхинококкоза и его осложнений : автореф. дис. ... д-ра мед.наук / Б. Бабаджанов. – Москва, 1992. – 38 с.

11. Белобородов, В.А. Диагностика и лечение травмы печени в условиях мирного времени / В.А. Белобородов, Е.А. Чихачёв, М.Г. Калинина // Сибирское медицинское обозрение. – 2009. – Т. 55, № 1. – С. 38–42.
12. Белобородов, В.А. Травма печени мирного времени / В.А. Белобородов, А.А. Белобородов, Е.А. Чихачев // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2010. – Т. 95, № 4. – С. 45–48.
13. Биорегуляторные функции оксида азота и новые перспективы в лечении травм глаза : обзор / Р.А. Гундорова, Н.Б. Чеснокова, О.И. Кваша и др. // Офтальмологический журнал. – 2002. – № 1. – С. 65–68.
14. Бородин, О.Ю. Экспериментальная хирургия паренхиматозных органов (обзор литературы) / О.Ю. Бородин, Е.В. Семичев, П.С. Бушланов // Русский медицинский журнал. – 2012. – № 36. – С. 1743–1746.
15. Бородинский, В.С. Разрыв селезенки у беременных / В.С. Бородинский, М.И. Резницкий // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 1983. – № 7. – С. 74–75.
16. Брегадзе, И.Л. Новый способ атравматического шва и его применение при резекции печени и других органов / И.Л. Брегадзе // Опыт клинического применения новых хирургических аппаратов и инструментов : сборник статей / под ред. М.Г. Ананьев, А.М. Геселевич. – Москва : Медицина, 1964. – 161 с.
17. Бунатян, А.Г. Проблема гемостаза и герметизма при резекциях печени с использованием фибрин-коллагеновой субстанции / А.Г. Бунатян, З.С. Завенян, Н.Н. Бамет // Хирургия. – 2003. – № 9. – С. 18–23.
18. Вайс, Х. Остановка кровотечения и свёртывание крови / Х. Вайс, В. Елькманн // Физиология человека : руководство : в 3 т. Т. 2 : пер. с англ. / под ред. Р. Шмидта, Г. Тевса. – 2-е изд., доп. и перераб. – Москва : Мир, 1996. – Разд. 1. – С. 431–439.
19. Виноградов, В.В. Механический шов в хирургии печени и желчных путей / В.В. Виноградов, С.В. Рынейский, А. Зенос // Тезисы докладов XXIX Всесоюзного съезда хирургов. – Киев, 1974. – С. 15–23.

20. Вишневский, В.А. Операции на печени : руководство для хирургов / В.А. Вишневский. – Москва : МИКЛОШ, 2003. – 164 с.
21. Власов, В.В. Введение в доказательную медицину, или как использовать биомедицинскую литературу для усовершенствования своей практики и исследований / В.В. Власов. – Москва : Медиа Сфера, 2001. – 392 с.
22. Влияние газового потока, содержащего оксид азота, на структуры глазного яблока (экспериментальное исследование) / Р.А. Гундорова, Н.Б. Чеснокова, А.Б. Шехтер и др. // Вестник офтальмологии. – 2001. – № 4. – С. 29–32.
23. Влияние низкотемпературной аргоновой плазмы на скорость регенерации планарий [Электронный ресурс] / А.М. Ермаков, О.Н. Ермакова, Е.И. Маевский и др. // Биомедицинский журнал. – 2010. – № 11. – Режим доступа: <http://www.medline.ru/public/art/tom11/art14.html>.
24. Воздушно-плазменные потоки и NO-терапия – новая технология в клинической практике военных лечебно-профилактических учреждений / Н.А. Ефименко, В.И. Хрупкин, Л.А. Марахонич и др. // Военно-медицинский журнал. – 2005. – № 5. – С. 51–54.
25. Возможности и перспективы плазменной эндохирургии с генерацией монооксида азота при операциях на матке и ее придатках / А.И. Давыдов, А.Н. Стрижаков, А.В. Пекшев и др. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 57–60.
26. Возможности использования низкочастотной пьезотромбоэластографии в мониторинге гипокоагуляции при искусственном кровообращении [Электронный ресурс] / Т.В. Вавилова, С.Н. Акамелкова, Ю.Б. Михалева и др. // Меднорд-Техника. – Режим доступа: <http://mednord-t.ru/vozmozhnosti-ispolzovaniya-nizkochastotnoj-pe Zotromboelastografii-v-monitoringe-gipokoagulyacii-pri-iskusstvennom-krovoobrashhenii>.
27. Володько, С.Н. Судебно-медицинская диагностика условий причинения тупой травмы печени / С.Н. Володько, Р.Н. Чирков, И.А. Дубровин // Судебно-медицинская экспертиза. – 2009. – Т. 52, № 1. – С. 51–54.

28. Выренков, Ю.Е. Экспериментальное обоснование возможности применения комплексного лечения огнестрельных ран с использованием монооксида азота и лимфогенной терапии / Ю.Е. Выренков, В.И. Москаленко, В.К. Шишло // Вестник лимфологии. – 2007. – № 1. – С. 25–29.
29. Гаин, Ю.М. Современные методы местного гемостаза при повреждениях паренхиматозных органов живота / Ю.М. Гаин, О.С. Александрова, В.Н. Гапанович // Новости хирургии. – 2009. – Т. 17, № 4. – С. 160–171.
30. Гарбузенко, Д.В. Механизмы регуляции регенерации печени / Д.В. Гарбузенко, Г.К. Попов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2001. – Т. 11, № 1. – С. 21–25.
31. Гафиуллов, М.Р. Хирургическое лечение разрывов печени у больных с закрытой травмой живота : дис. ... канд. мед. наук / М.Р. Гафиуллов. – Ульяновск, 2012. – 99 с.
32. Гигаури, В.С. Применение фибринового клея при операциях на паренхиматозных органах / В.С. Гигаури, А.А. Мовчун, С.В. Готье // Хирургия. – 1989. – № 4. – С. 89–93.
33. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц ; пер. с англ. Ю.А. Данилова ; под ред. Н.Е. Бузикашвили, Д.В. Самойлова. – Москва : Практика, 1999. – 459 с.
34. Горский, В.А. Техника аппликации препарата «Тахокомб» в хирургии брюшной полости / В.А. Горский, И.В. Леоненко, П.К. Воскресенский // Consilium Medicum. – 2006. – Т. 8, № 7. – С. 96–102.
35. Готье, С.В. Хирургическая гепатология: трансплантация печени, обширные резекции / С.В. Готье // Хирургия. – 1998. – № 6. – С. 33–37.
36. Гурьев, Д.В. Особенности регенерации печени человека и животных при лучевом воздействии : дис. ... канд. биол. наук / Д.В. Гурьев. – Москва, 2003. – 164 с.
37. Гуцол, А.А. Практическая морфометрия органов и тканей : для врачей-патологоанатомов / А.А. Гуцол ; под ред. Г.Г. Автандилова. – Томск, 1988. – 133 с.

38. Дамбаев, Г.Ц. Новые технологии в лечении онкопатологии / Г.Ц. Дамбаев, В.Э. Гюнтер, И.А. Хлусов // Бюллетень СО РАМН. – 2004. – Т. 112, № 2. – С. 64–69.
39. Денекко, О.И. Плазменная медицина : учебное пособие / О.И. Денекко, А.Н. Алейник, Е.В. Семичев. – Saarbrücken : Palmarium Academic Publishing, 2013. – 93 с.
40. Диагностика внутриорганных гематом печени и селезенки при закрытых травмах живота / В.М. Тимербулатов, А.А. Халиков, Ш.В. Тимербулатов и др. // Медицинский вестник Башкортостана. – 2013. – Т. 8, № 1. – С. 67–72.
41. Диагностика и лечение внутрибрюшных кровотечений при травмах печени / Ш.Д. Рахмонов, Н.М. Даминова, Ф.И. Махмадов, К.М. Курбонов // Доклады Академии наук Республики Таджикистан. – 2013. – Т. 56, № 10. – С. 843–848.
42. Диагностика и лечение повреждений печени у пострадавших с тяжелой сочетанной травмой / О.Н. Эргашев, А.В. Гончаров, А.С. Богарев, Ю.М. Виноградов // Медицина катастроф. – 2011. – № 2. – С. 22–25.
43. Диагностика и малоинвазивное лечение последствий травм печени под контролем ультрасонографии / Е.Э. Тюрюмина, В.А. Шантуров, Е.А. Чижова и др. // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2007. – № S4. – С. 183–184.
44. Диагностическая тактика при сочетанных и изолированных травмах печени / А.Е. Борисов, И.Е. Коткас, Н.Д. Мухиддинов, И.Ш. Омаров // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2006. – Т. 65, № 7. – С. 40–42.
45. Динамика гематом печени после тупой травмы живота с помощью компьютерной томографии / Е.Э. Тюрюмина, В.А. Шантуров, Т.Н. Бойко, А.Б. Мальцев // Актуальные вопросы реконструктивной и восстановительной хирургии : тезисы итоговых работ / под ред. Е.Г. Григорьева. – Иркутск, 1994. – С. 20–21.
46. Дубровина, И.А. Классификация, морфология и общая характеристика механизмов повреждений печени при тупой травме живота /



- И.А. Дубровина // Медицинская экспертиза и право. – 2012. – № 4. – С. 40–43.
47. Дубровина, И.А. Сравнительная характеристика повреждений при тупой травме живота с повреждениями печени в случаях удара в живот предметом с неограниченной травмирующей поверхностью при транспортной травме / И.А. Дубровина // Медицинская экспертиза и право. – 2014. – № 2. – С. 55–58.
  48. Дубровина, И.А. Частная характеристика механизмов и морфологии повреждений печени при тупой травме живота / И.А. Дубровина // Медицинская экспертиза и право. – 2012. – № 6. – С. 5–10.
  49. Европейская конвенция по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей // Вопросы реконструктивной и пластической хирургии. – 2008. – № 1. – С. 23–40.
  50. Ермолов, А.С. Травма печени / А.С. Ермолов, М.М. Абакумов, Е.С. Владимирова. – Москва : Медицина, 2003. – 190 с.
  51. Журавлев, В.В. Гемостаз при больших и предельно больших резекциях печени / В.В. Журавлев, В.М. Русинов / Анналы хирургической гепатологии. – 2005. – Т. 10, № 3. – С. 129–136.
  52. Зависимость продукции гепатотропного фактора роста и опухоленекротического фактора-альфа от энергетического состояния печени после ее массивной резекции / Э.И. Гальперин, Л.В. Платонова, Г.Р. Шоно и др. // Анналы хирургической гепатологии. – 1998. – Т. 3, № 2. – С. 39–45.
  53. Зайцев, В.М. Сравнительная оценка эффективности лечения хронических гнойных мезотимпанитов сеансами НО-терапии в сочетании с ультразвуковым орошением мирамистином и монотерапией ультразвуком / В.М. Зайцев, В.Ф. Антонив // Российская оториноларингология. – 2003. – Т. 4, № 1. – С. 58–59.
  54. Закономерности взаимодействия пористых имплантов из никелида титана с биологическими тканями / А.Н. Вусик, В.Н. Ходоренко, Г.Ц. Дамбаев, И.В. Суходоло // Биосовместимые материалы и имплантаты с памятью

- формы / под ред. В.Э. Гюнтера. – Northampton, MA : STT, 2001. – С. 171–175.
55. Закрытая травма органов брюшной полости: травматический разрыв эхинококковой кисты с желчным свищем правой доли печени, разрыв печени, диффузный желчный перитонит у больного 15 лет / П.С. Русак, А.К. Толстанов, В.Т. Полищук и др. // Хирургия детского возраста. – 2013. – Т. 40, № 3. – С. 81–85.
  56. Зарубина, И.В. Функциональная активность печени при тяжелой компрессионной травме / И.В. Зарубина, И.А. Юнусов, П.Д. Шабанов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 148, № 11. – С. 515–518.
  57. Заруцкий, Я.Л. Диагностика и хирургическое лечение повреждений печени при закрытой сочетанной абдоминальной травме : автореф. дис. ... канд. мед.наук / Я.Л. Заруцкий. – Киев, 1997. – 22 с.
  58. Ибадильдин, А.С. Диагностика и хирургическая тактика при изолированной и сочетанной травме печени / А.С. Ибадильдин, В.И. Кравцов // Практическая медицина. – 2013. – Т. 67, № 2. – С. 49–51.
  59. Инактивация микроорганизмов в холодной аргонной плазме атмосферного давления / А.П. Семенов, Б.Б. Балданов, Ц.В. Ранжуров и др. // Успехи прикладной физики. – 2014. – Т. 2, № 3. – С. 229–233.
  60. Инвитро диагностика. Лабораторная диагностика : справочник / под ред. Е.А. Кондрашевой, А.Ю. Островского. – 3-е изд., перераб. и доп. – Москва : Медиздат, 2009. – 832 с.
  61. Интраоперационные способы гемостаза при операциях на печени / Г.Ц. Дамбаев, А.Н. Байков, Е.В. Семичев и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – № 4. – С. 89–93.
  62. Использование газового потока, содержащего оксид азота (NO-терапия) в комплексном лечении гнойных ран / К.В. Липатов, М.А. Сопромадзе, А.Б. Шехтер и др. // Хирургия. – 2002. – № 2. – С. 41–43.

63. Исследование печеночной функции на модели резекции печени и гемостаза холодной плазмой методами контрастированной МРТ с гепатотропными контрастными соединениями / О.Ю. Бородин, Е.В. Семичев, А.М. Бессонов и др. // Диагностическая и интервенционная радиология. – 2011. – № 2, прил. – С. 72–73.
64. Исследование разработанного источника неравновесной плазмы с целью внедрения его в медицину / О.И. Денeko, А.Н. Алейник, Е.П. Красноженов и др. // Известия высших учебных заведений. Физика. – 2010. – № 11. – С. 157–160.
65. Калиш, Ю.И. Принципы комбинированного использования лазеров в профилактике гнойно-воспалительных послеоперационных осложнений в абдоминальной хирургии / Ю.И. Калиш, К.М. Мадартов, Б.Р. Хусаинов // Материалы VIII Всероссийского съезда хирургов : тезисы докладов. – Краснодар, 1995. – С. 490–491.
66. Камышников, В.С. Клинические лабораторные тесты от А до Я и их диагностические профили : справочное пособие / В.С. Камышников. – 5-е изд. – Москва : МЕДпресс-информ, 2014. – 313 с.
67. Канская, Н.В. Интерпретация результатов основных лабораторных методов исследования в клинической практике : учебное пособие / Н.В. Канская, Т.В. Жаворонок. – 2-е изд., перераб. и доп. – Томск, 2004. – 159 с.
68. Капшитарь, А.А. Математическое моделирование прогноза исхода изолированной и сочетанной закрытой травмы печени / А.А. Капшитарь, А.В. Капшитарь, И.Ф. Сырбу // Запорожский медицинский журнал. – 2011. – Т. 13, № 5. – С. 25–28.
69. Кимбар, В.И. Механогенез и морфология закрытой травмы печени, причиненной тупыми твердыми предметами (математическая оценка) / В.И. Кимбар, В.И. Гужеедов, А.А. Солохин / Судебно-медицинская экспертиза. – 2006. – Т. 49, № 2. – С. 12–13.
70. Клевно, В.А. Анализ и структура закрытой тупой травмы грудной клетки и живота (по данным Алтайского краевого бюро судебно-медицинской

- экспертизы за 2000 год) [Электронный ресурс] / В.А. Клевно, А.С. Новоселов // Биомедицинский журнал. – 2003. – № 4. – Режим доступа: <http://www.medline.ru/public/sudm/art2-24.phtml>.
71. Клиническая оценка интраоперационного применения воздушно-плазменного потока, обогащенного монооксидом азота, при операциях на матке и ее придатках / А.И. Давыдов, С.Т. Кучухидзе, А.Б. Шехтер и др. // Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии. – 2004. – Т. 3, № 4. – С. 12–17.
  72. Клиническая хирургия : национальное руководство : в 3 т. Т. 2 / под ред. В.С. Савельева, А.И. Кириенко. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 825 с.
  73. Кованов, В.В. Эксперимент в хирургии / В.В. Кованов. – Москва : Молодая гвардия, 1989. – 239 с.
  74. Кубачев, К.Г. Диагностика и объем оперативного вмешательства при травмах печени : автореф. дис. ... канд. мед.наук / К.Г. Кубачев. – Санкт-Петербург, 1997. – 19 с.
  75. Кубачев, К.Г. Диагностика и хирургическая тактика при изолированной и сочетанной травме печени / К.Г. Кубачев, А.В. Кукушкин // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2010. – Т. 92, № 1. – С. 119–122.
  76. Курбанов, Ш.П. Лапароскопические вмешательства в диагностике и лечении травм печени / Ш.П. Курбанов, Б.Т. Гулямов // Вятский медицинский вестник. – 2006. – № 2. – С. 88.
  77. Лабораторные методы исследования в клинике : справочник / под ред. В.В. Меньшикова. – Москва : Медицина, 1987. – 368 с.
  78. Лечебная тактика при закрытых травмах печени / Е.Ю. Евтихова, А.К. Гагуа, Р.М. Евтихов и др. // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2006. – Т. 11, № 1–2. – С. 39–41.
  79. Лили, Р. Патологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лили. – Москва : Мир, 1969. – 645 с.
  80. Лимфатическая терапия в травматологии / под ред. Г.М. Кавалерского, Ю.Е. Выренкова. – Москва : МЕДпресс-информ, 2005. – 135 с.

81. Лисицын, М.С. Гемостатическая рассасывающаяся в тканях организма вата и марля из оксицеллюлозы / М.С. Лисицын, Ю.Г. Зверев, Н.А. Золотухин. – Ленинград, 1959. – 144 с.
82. Литвин, А.А. Местный гемостаз в хирургии повреждений печени и селезенки / А.А. Литвин // Хирургия. – 2000. – № 4. – С. 74–76.
83. Майстренко, А.Н. Сравнительная оценка гемостатической активности новых аппликационных средств при травмах и операциях на печени и селезенке в эксперименте / А.Н. Майстренко, А.И. Бежин, В.А. Липатов // Курский научно-практический вестник «Человек и здоровье». – 2009. – № 2. – С. 19–26.
84. Малышев, И.И. Механизмы заживления механической травмы печени у крысят в условиях стимуляции регенерации биологически активными веществами / И.И. Малышев, Л.П. Романова // Вестник Чувашского университета. – 2010. – № 3. – С. 126–130.
85. Малышев, И.И. Пролиферативная активность гепатоцитов плодов и новорожденных крысят после механической травмы печени / И.И. Малышев, Л.П. Романова // Вестник Чувашского университета. – 2010. – № 3. – С. 131–134.
86. Мальцев, П.А. Использование монооксида азота в хирургическом лечении абсцессов и флегмон мягких тканей головы и шеи / П.А. Мальцев, В.В. Дарвин // Уральский медицинский журнал. – 2008. – Т. 43, № 3. – С. 104–108.
87. Манжаров, Н.В. Функциональные нарушения печени при термической травме и их коррекция / Н.В. Манжаров // Вятский медицинский вестник. – 2002. – № 1. – С. 21.
88. Марущак, Е.А. Повреждения печени и селезенки у больных с закрытой абдоминальной травмой : дис. ... канд. мед.наук / Е.А. Марущак. – Москва, 2009. – 140 с.
89. Марченко, В.Т. Морфологические особенности репаративной регенерации органов и тканей при использовании сульфакрилата нового поколения /

- В.Т. Марченко, В.А. Шкурупий // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2004. – Т. 137, № 2. – С. 231–237.
90. Марченко, В.Т. Особенности соединения тканей и гемостаза при использовании клеевой композиции «Сульфакрилат» нового поколения / В.Т. Марченко, В.А. Шкурупий, М.В. Рассадовский // Сибирский консилиум. – 2003. – № 2. – С. 50–54.
  91. Масляков, В.В. Изменения реологических свойств крови у пациентов с травмами селезенки и печени в ближайшем послеоперационном периоде / В.В. Масляков, В.Ф. Киричук, В.Г. Барсуков // Международный журнал экспериментального образования. – 2011. – № 10. – С. 9–12.
  92. Масляков, В.В. Непосредственные результаты лечения закрытых травм печени, полученных вследствие дорожно-транспортных происшествий / В.В. Масляков, Е.В. Костенко, С.В. Полковов // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2014. – Т. 32, № 4. – С. 54–63.
  93. Меркулов, Г.А. Курс патологогистологической техники / Г.А. Меркулов. – 5-е изд., испр. и доп. – Ленинград : Медицина, 1969. – 423 с.
  94. Методы гемостаза при проведении лапароскопической резекции почки / Ю.Г. Аляев, Е.А. Безруков, Е.С. Сирота и др. // Урология. – 2014. – № 4. – С. 90–95.
  95. Миниинвазивные операции в лечении больных с тяжелой сочетанной травмой с повреждением печени / Ю.В. Грубник, А.И. Кравченко, А.В. Плотников и др. // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2012. – Т. 13, № 3. – С. 338–340.
  96. Миниинвазивный метод в лечении осложнений травм печени / В.А. Шантуров, Е.Э. Тюрюмина, Р.Р. Гумеров и др. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2002. – № 2. – С. 23–27.
  97. Множественные и сочетанные повреждения печени при абдомино-скелетной травме / Ф.Н. Новиков, А.А. Ткаченко, А.В. Воробей и др. // Хирургия Украины. – 2007. – Т. 23, № 3. – С. 42–45.

98. Моделирование открытой и закрытой травмы живота, осложнённой смертельным внутрибрюшным кровотечением с признаками геморрагического шока и ДВС-синдрома / Ю.М. Гаин, О.С. Александрова, В.Н. Гапанович и др. // Новости хирургии. – 2010. – Т. 18, № 3. – С. 17–25.
99. Морозов, В.И. Редкий случай натальной травмы печени у новорожденного / В.И. Морозов, А.А. Подшивалин, Г.Е. Чигвинцев // Вестник современной клинической медицины. – 2012. – Т. 5, № 4. – С. 29–31.
100. Морфологическая характеристика экспериментальных разрывов печени при моделировании тупой травмы живота / И.А. Дубровина, И.А. Дубровин, С.В. Леонов, С.Н. Володько // Судебно-медицинская экспертиза. – 2014. – Т. 57, № 3. – С. 9–13.
101. Морфологические и морфометрические результаты бесконтактного воздействия холодной плазмы на суставной хрящ в эксперименте / А.Л. Жуликов, Д.А. Маланин, В.В. Новочадов, А.Н. Горячев // Бюллетень Волгоградского научного центра РАМН. – 2010. – № 2. – С. 32–36.
102. Морфология разрывов печени при тупой травме живота / Ю.И. Пиголкин, И.А. Дубровина, И.А. Дубровин и др. // Судебно-медицинская экспертиза. – 2013. – Т. 56, № 1. – С. 10–12.
103. Москаленко, В.И. Влияние оксида азота на иммунологическую реактивность у больных с огнестрельными ранениями конечностей под воздействием NO-терапии / В.И. Москаленко, Л.А. Марахонич, В.К. Шишло // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2003. – Т. 5, № 1. – С. 25.
104. Москаленко, В.И. Комплексное лечение огнестрельных ранений с использованием оксида азота. Клинико-экспериментальное исследование : автореф. дис. ... д-ра мед.наук / В.И. Москаленко. – Москва, 2007. – 38 с.
105. Мустафаев, Д.М. Хирургическое лечение больных ринофимой с применением холодной плазмы / Д.М. Мустафаев, В.М. Свистушкин // Российская оториноларингология. – 2010. – Т. 48, № 5. – С. 44–49.



106. Назаренко, Г.И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований : справочное издание / Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун. – 2-е изд., стер. – Москва : Медицина, 2006. – 544 с.
107. Низкочастотная пьезотромбоэластография в оценке тяжести гестозов [Электронный ресурс] / В.Ф. Клименкова, Ю.А. Бочков, М.Н. Шписман, И.И. Тютрин // Меднорд-Техника. – Режим доступа: <http://mednord-t.ru/nizkochastotnaya-pe Zotromboelastografiya-v-ocenke-tyazhesti-gestozov>.
108. Ноздрачев, А.Д. Анатомия крысы : руководство для студентов вузов / А.Д. Ноздрачев, Е.Л. Поляков. – Санкт-Петербург : Лань, 2001. – 463 с.
109. НО-терапия при лечении ран век [Электронный ресурс] / Р.А. Гундорова, А.Б. Шехтер, О.И. Кваша и др. // Офтальмохирургия. – 2010. – № 3. – Режим доступа: <http://www.eyepress.ru/article.aspx?8307>.
110. НО-терапия: теоретические аспекты, клинический опыт и проблемы применения экзогенного оксида азота в медицине / под ред. С.В. Грачева, А.Б. Шехтера, Н.П. Козлова. – Москва : Русский врач, 2001. – 192 с.
111. О возможности улучшения результатов реконструктивной хирургии желудочно-кишечного тракта / В.В. Плечев, С.Л. Шилов, И.И. Шарипов и др. // Башкирский химический журнал. – 2006. – Т. 13, № 2. – С. 90–93.
112. Опыт диагностики и мониторинга критических нарушений гемостаза / М.А. Соловьев, И.И. Тютрин, В.В. Удут, В.Ф. Клименкова // Клінічна анестезіологія та інтенсивна терапія. – 2014. – Т. 4, № 2. – С. 53–59.
113. Органосохраняющая хирургия селезенки / К.А. Апарцин, Н.И. Аюшинова, Г.И. Барам и др. ; под ред. Е.Г. Григорьева, К.А. Апарцина. – Новосибирск : Наука, 2001. – 399 с.
114. Особенности использования аппарата «плазон» в амбулаторно-поликлинических условиях / А.Н. Братийчук, У.С. Беслекоев, Н.А. Миняйлов, Т.И. Костяева // Амбулаторная хирургия. Стационарозамещающие технологии. – 2007. – № 4. – С. 27–28.
115. Особенности хирургической тактики у пострадавших с сочетанной травмой головы и живота с повреждением печени / Б.В. Сигуа, В.П. Земляной,

- А.К. Дюков, А.В. Никифорова // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2014. – Т. 45, № 1. – С. 54–60.
116. Особый класс автоволн – автоволны с остановкой – определяет пространственную динамику свертывания крови / Ф.И. Атауллаханов, В.И. Зарницына, А.Ю. Кондратович и др. // Успехи физических наук. – 2002. – Т. 172, № 6. – С. 671–690.
  117. Остановка паренхиматозного кровотечения из печени с помощью гемостатического средства на основе неорганических солей / И.С. Жаворонок, Г.Г. Кондратенко, В.Н. Гапанович и др. // Новости хирургии. – 2016. – Т. 24, № 4. – С. 361–367.
  118. Очеретина, Р.Ю. Морфометрические параметры сосудов долики печени у мышей в восстановительном периоде после травмы голени / Р.Ю. Очеретина, О.З. Мкртчян, М.В. Стогов // Морфология. – 2012. – Т. 141, № 2. – С. 32–34.
  119. Пат.2155002 Российская Федерация, МПК А61В17/12. Способ лечения обширных повреждений печени у больных с сочетанной травмой [Электронный ресурс] / Н.А. Литвинова, Г.И. Найдов. – № 96113399/14 ; заявл. 01.07.1996 ; опубл. 27.08.2000. – Режим доступа: <http://www.findpatent.ru/patent/233/2334470.html>.
  120. Пат. 2314769 Российская Федерация, МПК А61В 18/12. Способ бесконтактной дискретно-когерентной холодноплазменной коагуляции и устройство для его осуществления / В.П. Усов, А.Г. Крупнов, Р.К. Кабисов, В.А. Лебедев. – № 2005124979/14 ; заявл. 10.02.2007 ; опубл. 20.01.2008, Бюл. № 2. – 7 с.
  121. Пат. 2337632 Российская Федерация, МПК А61В 17/00. Способ хирургического лечения поверхностных ранений селезенки / В.Н. Ходоренко, А.П. Шмараев, Ю.Ф. Ясенчук и др. – № 2007117082/14 ; заявл. 07.05.2007 ; опубл. 10.11.2008, Бюл. № 31. – 6 с.

122. Пат. 2366469 Российская Федерация, МПКА61N1/32, А61В18/12. Способ удаления татуировок или шрамов / К.С. Авраменко. – № 2007136276/14 ; заявл. 02.10.2007 ; опубл. 10.09.2009, Бюл. № 25. – 8 с.
123. Пат. 2421159 Российская Федерация, МПК А61В 17/00, А61F 7/00. Способ остановки кровотечения при травмах печени / А.В. Махнев, С.А. Стрелин, В.Э. Шнейдер, Ю.Л. Волкова. – № 2009123811/14 ; заявл. 22.06.2009 ; опубл. 20.06.2011, Бюл. № 17. – 9 с.
124. Пат. 2434656 Российская Федерация, МПК А61N 1/44, А61В 18/18. Способ остановки интраоперационного капиллярного и паренхиматозного кровотечения / Г.Ц. Дамбаев, А.Н. Байков, Е.В. Семичев и др. – № 2010132795/14 ; заявл. 04.08.2010 ; опубл. 27.11.2011, Бюл. № 33. – 8 с.
125. Пат. 2436527 Российская Федерация, МПК А61В17/00, А61К33/06, А61Р7/04. Способ многоэтапного хирургического лечения массивного внутреннего кровотечения из паренхиматозных органов при политравмах / С.Ф. Багненко, В.Б. Назаров, В.В. Бояринцев и др. – № 2010125003/14; заявл. 18.06.2010 ; опубл. 20.12.2011, Бюл. № 35. – 9 с.
126. Пелишенко, Т.Г. Применение холодноплазменного хирургического метода в оториноларингологии / Т.Г. Пелишенко, В.В. Вишняков, К.Э. Клименко // Вестник оториноларингологии. – 2009. – № 3. – С. 25–27.
127. Первый клинический опыт применения холодноплазменного стернотомы / Б.Н. Козлов, М.С. Кузнецов, Г.Г. Насрашвили и др. // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – Т. 27, № 2. – С. 96–101.
128. Первый опыт применения экзогенной NO-терапии для лечения послеоперационных ран и лучевых реакций у онкологических больных / Р.К. Кабисов, В.В. Соколов, А.Б. Шехтер и др. // Российский онкологический журнал. – 2000. – № 1 – С. 24–29.
129. Перспективы использования локального криогемостаза при травмах печени и селезенки / В.В. Александров, С.С. Маскин, Л.А. Иголкина, Н.К. Ермолаева // Кубанский научный медицинский вестник. – 2013. – № 7. – С. 45–51.

130. Петровский, Б.В. Место анатомических и атипических резекций в хирургии печени / Б.В. Петровский, И.Л. Брегадзе, О.Б. Милонов // Хирургия. – 1968. – № 2. – С. 2–8.
131. Петровский, Б.В. Остановка кровотечений в процессе операций / Б.В. Петровский // Хирургия. – 1983. – № 3. – С. 3–7.
132. Пиголкин, Ю.И. Механизмы образования повреждений печени при тупой травме живота / Ю.И. Пиголкин, И.А. Дубровина, И.А. Дубровин // Судебно-медицинская экспертиза. – 2012. – Т. 55, № 4. – С. 10–13.
133. Пиголкин, Ю.И. Общие и частные характеристики разрывов печени при тупой травме груди и живота / Ю.И. Пиголкин, И.А. Дубровина // Судебно-медицинская экспертиза. – 2014. – Т. 57, № 4. – С. 8–12.
134. Пиголкин, Ю.И. Экспертная оценка повреждений печени, возникающих при тупой травме живота / Ю.И. Пиголкин, И.А. Дубровина // Вестник судебной медицины. – 2012. – Т. 1, № 2. – С. 29–36.
135. Плазма // Физический энциклопедический словарь / под ред. А.М. Прохорова. – Москва : Советская Энциклопедия, 1983. – С. 536–539.
136. Повреждение печени у пострадавших с тяжёлой сочетанной травмой / О.Н. Эргашев, А.В. Гончаров, А.С. Прядко, Ю.М. Виноградов // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2011. – Т. 170, № 6. – С. 52–55.
137. Повреждения печени и селезёнки у пострадавших с сочетанной автодорожной травмой / А.В. Базаев, А.В. Алейников, С.К. Королёв и др. // Журнал МедиАль. – 2014. – Т. 11, № 1. – С. 17–19.
138. Попков, В.М. Возможности математического моделирования для сравнения гемостатических швов при резекции почки / В.М. Попков, Д.Ю. Потапов, А.Н. Понукалин // Новости хирургии. – 2015. – Т. 23, № 3. – С. 320–325.
139. Попов, В.А. Гемостаз и герметизация швов (операции на внутренних органах) / В.А. Попов. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2008. – 320 с.
140. Попов, В.А. Гемостаз при травме паренхиматозных органов [Электронный ресурс] / В.А. Попов, М.Н. Бояркин // Биомедицинский журнал. – 2008. – № 9. – Режим доступа: <http://www.medline.ru/public/art/tom9/art018pdf.phtml>.

141. Пострезекционная печеночная недостаточность: современные проблемы определения, эпидемиологии, патогенеза, оценки факторов риска, профилактики и лечения / В.А. Вишневский, Ю.А. Коваленко, О.И. Андрейцева и др. // Украинский журнал хирургии. – 2013. – Т. 22, № 3. – С. 172–182.
142. Пострезекционная печеночная недостаточность: современные проблемы определения, эпидемиологии, патогенеза, оценки факторов риска, профилактики и лечения / В.А. Вишневский, Ю.А. Коваленко, О.И. Андрейцева и др. // Украинский журнал хирургии. – 2013. – Т. 22, № 3. – С. 172–183.
143. Практическая коагулология / М.А. Пантелеев, С.А. Васильев, Е.И. Синауридзе и др. ; под ред. А.И. Воробьева. – Москва : Практическая медицина, 2012. – 190 с.
144. Применение аппарата «Плазон» при лечении больных с гнойной хирургической инфекцией в поликлинике / А.Н. Братийчук, У.С. Беслекоев, С.И. Заходякин, Н.А. Миняйлов // Военно-медицинский журнал. – 2009. – Т. 330, № 3. – С. 72–73.
145. Применение воздушно-плазменного аппарата «Плазон» в режимах коагуляции и NO-терапии при реконструктивно-пластических операциях у онкологических больных / И.В. Решетов, Р.К. Кабисов, А.Б. Шехтер и др. // Анналы пластической, реконструктивной и эстетической хирургии. – 2000. – № 4. – С. 24–39.
146. Применение миниинвазивной технологии при травмах печени / А.Е. Борисов, К.Г. Кубачев, Н.Д. Мухиддинов и др. // Анналы хирургической гепатологии. – 2007. – Т. 12, № 3. – С. 6–9.
147. Применение неравновесной плазмы в медицине и биологии / О.И. Виноградова, С.Ю. Телицкий, Е.В. Щукина, А.Н. Алейник // Научная сессия МИФИ-2009 : сборник научных трудов /Московский инженерно-физический институт. – Москва, 2009. – С. 128.

148. Применение нового биологического фактора – экзогенного оксида азота – при хирургическом лечении пародонтита / А.С. Григорьян, А.И. Грудянов, О.А. Фролова и др. // Стоматология. – 2001. – Т. 80, № 1. – С. 80–83.
149. Применение нового гемостатического средства «Гамастат» при паренхиматозном кровотечении в эксперименте / Н.И. Мельнова, И.С. Жаворонок, И.Н. Жуки др. // Военная медицина. – 2013. – № 2. – С. 62–66.
150. Применение экзогенного оксида азота в лечении воспалительных заболеваний ротоглотки / Г.А. Голубовский, В.Г. Зенгер, А.Н. Наседкин и др. // Вестник оториноларингологии. – 2003. – № 11. – С. 88–89.
151. Применение экзогенной NO-терапии для лечения гипертензивно-ишемических язв нижних конечностей / А.Ю. Крылов, А.М. Шулутко, Е.Г. Чирикова, Э.Г. Османов // Российский медицинский журнал. – 2002. – № 2. – С. 23–25.
152. Рагимов, Г.С. Дифференцированный выбор способа гемостаза и тактики хирургического лечения травматических повреждений печени и селезенки : автореф. дис. ... д-ра мед.наук / Г.С. Рагимов. – Махачкала, 2010. – 47 с.
153. Радионуклидная диагностика для практических врачей : учебное пособие / под ред. Ю.Б. Лишманов, В.И. Чернов. – Томск : СТТ, 2004. – 394 с.
154. Результаты лечения и ошибки при оказании помощи пострадавшим с закрытой сочетанной травмой печени / Е.А. Чихачев, И.А. Рябков, П.Т. Жиго и др. // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2005. – № 3. – С. 183–184.
155. Розанов, В.Е. Современные способы остановки кровотечения при травме печени / В.Е. Розанов, В.Е. Юдин, В.С. Ряполов // Анналы хирургической гепатологии. – 2005. – Т. 10, № 2. – С. 216–217.
156. Роль экзогенной NO-терапии в системе комплексного лечения ран и раневой патологии у онкологических больных / Р.К. Кабисов, А.Б. Шехтер, А.В. Пекшев и др. // Российский онкологический журнал. – 2000. – № 4. – С. 16–22.

157. Романова, Л.П. Влияние биологически активных веществ на пролиферативную активность гепатоцитов плодов и новорожденных крысят после механической травмы печени / Л.П. Романова, И.И. Малышев // Казанский медицинский журнал. – 2011. – Т. 92, № 6. – С. 904–906.
158. Романова, Л.П. Морфогенез заживления механической травмы печени у 18-дневных крысят на фоне воздействия биологически активными веществами / Л.П. Романова // Вестник Чувашского университета. – 2014. – № 2. – С. 328–332.
159. Романова, Л.П. Некоторые показатели крови 18-дневных крысят при заживлении механической травмы печени в условиях применения биологически активных веществ / Л.П. Романова, И.И. Малышев // Вестник Чувашского университета. – 2011. – № 3. – С. 394–398.
160. Романова, Л.П. Патоморфология заживления механической травмы печени у плодов и новорожденных крысят при использовании биологически активных веществ / Л.П. Романова, И.И. Малышев, О.В. Воробьева // Международный журнал по иммунореабилитации. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 232–233.
161. Романова, Л.П. Роль двухядерных гепатоцитов в регенерации печени после механической травмы в раннем онтогенезе у крыс / Л.П. Романова, И.И. Малышев // Вестник Чувашского университета. – 2011. – № 3. – С. 398–402.
162. Рузметов, У.А. Оценка эффективности нового местного гемостатика "гемоцеля" при острых травмах и заболеваниях печени (экспериментальное исследование) : автореф. дис. ... канд. мед.наук / У.А. Рузметов. – Ташкент, 1990. – 16 с.
163. Руководство по применению аппарата «ПЛАЗОН» в хирургической практике / под ред. Н.А. Ефименко. – Москва : 2003. – 96 с.
164. Семичев, Е.В. Микроанатомические аспекты реакции сосудистого русла в несвободном кожно-фасциальном паховом лоскуте после его пересадки :



- (экспериментальное исследование) : дис. ... канд. мед.наук / Е.В. Семичев. – Новосибирск, 2009. – 160 с.
165. Сетков, Н.А. Ингибиторы биосинтеза белка могут стимулировать пролиферацию гепатоцитов мыши *in vitro* / Н.А. Сетков, А.В. Еремеев // Известия Российской академии наук. Серия биологическая. – 2003. – № 3. – С. 266–274.
  166. Сигуа, Б.В. Закрытая травма живота с повреждением печени (обзор литературы) / Б.В. Сигуа, В.П. Земляной, А.К. Дюков // Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2014. – Т. 6, № 3. – С. 93–98.
  167. Сигуа, Б.В. Закрытая травма печени / Б.В. Сигуа, В.П. Земляной, А.К. Дюков // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2013. – Т. 44, № 4. – С. 49–54.
  168. Сигуа, Б.В. Сочетанная и изолированная травма живота с повреждением печени / Б.В. Сигуа, В.П. Земляной, А.К. Дюков // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2015. – Т. 174, № 1. – С. 9–15.
  169. Системная патология при хронической обструктивной болезни легких / Н.Е. Чернеховская, Т.А. Федорова, В.Г. Андреев, М.М. Кириллов. – Москва : Экономика и информатика, 2005. – 192 с.
  170. Сложные режимы распространения возбуждения и самоорганизация в модели свертывания крови / Ф.И. Атауллаханов, Е.С. Лобанова, О.Л. Морозова и др. // Успехи физических наук. – 2007. – Т. 177, № 1. – С. 87–104.
  171. Соловьева, А.Г. Особенности энергетического обмена печени крыс при комбинированной термической травме / А.Г. Соловьева // Успехи современного естествознания. – 2008. – № 10. – С. 93–94.
  172. Сочетанное повреждение печени, поджелудочной железы и двенадцатиперстной кишки при закрытой травме живота / П.А. Иванов, А.Г. Дорфман, А.В. Гришин и др. // Анналы хирургической гепатологии. – 2008. – Т. 13, № 1. – С. 102–104.

173. Способы органосохраняющих операций на селезенке с применением материалов из никелида титана / Г.Ц. Дамбаев, И.В. Колесникова, О.А. Фатюшина и др. // *Анналы хирургии*. – 2009. – № 5. – С. 47–49.
174. Сравнительная характеристика повреждений при тупой травме живота с разрывом печени в случаях сдавления тела и падения на живот / Ю.И. Пиголкин, И.А. Дубровина, А.С. Мосоян и др. // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. – 2014. – Т. 9, № 4. – С. 304–307.
175. Стогов, М.В. Перекисное окисление липидов в печени крыс после скелетной травмы / М.В. Стогов, Е.А. Киреева, А.А. Еманов // *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова*. – 2014. – Т. 100, № 8. – С. 936–943.
176. Стрелин, С.А. Лечение ран печени при помощи сверхнизких температур с применением криоаппликатора из пористого никелида титана (экспериментальное исследование) : дис. ... канд. мед.наук / С.А. Стрелин. – Тюмень, 2004. – 115 с.
177. Судебно-медицинская классификация повреждений печени при тупой травме живота / Ю.И. Пиголкин, И.А. Дубровина, И.А. Дубровин, А.М. Шестаков // *Судебно-медицинская экспертиза*. – 2012. – Т. 55, № 5. – С. 8–10.
178. Табаков, Г.П. Основы ветеринарии : учебник / Г.П. Табаков. – Москва : Академия, 2006. – 256 с.
179. Терапия экзогенным оксидом азота – новый метод стимуляции заживления трофических дефектов кожи на фоне хронической венозной недостаточности / Г.С. Кротовский, А.В. Пекшев, А. Зудин и др. // *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия*. – 2001. – № 3. – С. 37–42.
180. Терапия экзогенным оксидом азота – новый метод стимуляции заживления трофических язв у больных с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей / А.В. Пекшев, Г.С. Кротовский, А.М. Зудин и др. // *Грудная и сердечно-сосудистая хирургия*. – 2002. – № 1. – С. 37–41.

181. Травмы печени у детей / И.Н. Григович, В.В. Дербенев, М.В. Леухин и др. // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2014. – Т. 4, № 4. – С. 27–35.
182. Тупая травма живота с повреждением печени – от попыток селективной консервативной терапии к трансплантации печени / Э. Матевосян, М. Маак, Г.В. Мапко и др. // Новости хирургии. – 2012. – Т. 20, № 1. – С. 115–119.
183. Ультрасонография в диагностике инфицированных гематом печени после тупой травмы живота / Е.Э. Тюрюмина, В.А. Шантуров, Е.А. Чижова, А.Б. Мальцев // Актуальные вопросы клинической и экспериментальной хирургии : тезисы докладов / под ред. Е.Г. Григорьева. – Иркутск, 1996. – С. 24.
184. Управление гемостазом при критических состояниях. Аргументы за и против фармакологического подавления фибринолиза в профилактике и купировании массивных кровотечений / А.П. Момот Я.Н. Шойхет, И.В. Молчанова, Л.П. Цывкина // Проблемы клинической медицины. – 2011. – Т. 25, № 3/4. – С. 98–104.
185. Урман, М.Г. Хирургическая тактика при травме печени и развившихся внутрибрюшных осложнениях / М.Г. Урман, А.В. Субботин // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2009. – Т. 168, № 3. – С. 72–75.
186. Установление технических характеристик и выбор режимов работы генератора низкотемпературной аргоновой плазмы (НТАП). Разработка программ микробиологических и биомедицинских испытаний, экспериментальных моделей для оценки санирующего и ранозаживляющего воздействия НТАП [Электронный ресурс] / Е.И. Маевский, Л.А. Богданова, И.И. Селезнева и др. // Биомедицинский журнал. – 2009. – № 10. – Режим доступа: <http://www.medline.ru/public/art/tom10/art14.html>.
187. Физиология человека : учебник / под ред. В.М. Покровского, Г.Ф. Коротько. – 3-е изд., стер. – Москва : Медицина, 2013. – 661 с.

188. Функциональное состояние печени у больных с сочетанной черепно-мозговой травмой / В.М. Ладейщикое, А.С. Денисов, Н.Б. Щелокова и др. // Пермский медицинский журнал. – 2007. – Т. 24, № 3. – С. 62–65.
189. Халиков, А.А. Диагностика и значение давности механической травмы в клинике и судебной медицине на примере травм печени, гематом селезенки и кровоподтеков кожи : автореф. дис. ... д-ра мед.наук / А.А. Халиков. – Уфа, 2013. – 40 с.
190. Хван, О.И. Повреждения органов брюшной полости и почек при тупой травме / О.И. Хван // Врач-Аспирант. – 2012. – Т. 50, № 1/3. – С. 461–466.
191. Хирургия печени и желчных путей / под ред. Б.И. Альперович. – Томск, 1997. – 605 с.
192. Хоробрых, Т.В. Лапароскопическая обработка травматических повреждений печени у больных с тяжелой сочетанной травмой / Т.В. Хоробрых, Д.В. Пастухов, А.Ф. Черноусов // Вестник хирургической гастроэнтерологии. – 2008. – № 1. – С. 37–41.
193. Цап, Н.А. Совершенствование диагностических и лечебных технологий при травме печени у детей / Н.А. Цап // Пермский медицинский журнал. – 2010. – Т. 27, № 3. – С. 16–23.
194. Чалык, Ю.В. Хирургическая тактика при лечении тяжелых закрытых травм печени / Ю.В. Чалык, А.Е. Кательников // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2011. – Т. 1, № 2. – С. 20–22.
195. Чарный, А.М. Патофизиология гипоксических состояний / А.М. Чарный. – Москва : Медгиз, 1961. – 343 с.
196. Чарышкин, Л.А. Эффективность ушивания ран печени и селезенки при травматических повреждениях органах брюшной полости / Л.А. Чарышкин, М.Р. Гафиуллов, В.П. Демин // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 42–44.
197. Чарышкин, А.Л. Оценка результатов ушивания ран печени и селезенки при закрытых травмах органов брюшной полости / А.Л. Чарышкин,

- М.Р. Гафиуллоу, В.П. Демин // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2012. – Т. 5, № 3. – С. 593–595.
198. Чарышкин, А.Л. Хирургическое лечение травматических повреждений паренхиматозных органов брюшной полости / А.Л. Чарышкин, М.Р. Гафиуллоу, В.П. Демин // Креативная хирургия и онкология. – 2012. – № 1. – С. 81–83.
  199. Чарышкин, Л.А. Эффективность ушивания ран печени и селезенки при травматических повреждениях органах брюшной полости / Л.А. Чарышкин, М.Р. Гафиуллоу, В.П. Демин // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – № 3. – С. 42–44.
  200. Черная, Н.Р. Транскатетерное лечение больных с травмой печени / Н.Р. Черная, Г.Е. Белозеров // Международный журнал интервенционной кардиоангиологии. – 2008. – № 14. – С. 91–91а.
  201. Чернеховская, Н.Е. Современные технологии в эндоскопии / Н.Е. Чернеховская. – Москва, 2004. – 136 с.
  202. Чикотеев, С.П. Современные взгляды на регенерацию печени / С.П. Чикотеев, Н.Г. Корнилов, А.Н. Плеханов // Хирургия. – 2001. – № 6. – С. 59–62.
  203. Чирицо, Б.Г. Повреждения печени при сочетанной шокогенной травме (диагностика, хирургическая тактика, лечение осложнений) : автореф. дис. ... канд. мед. наук / Б.Г. Чирицо. – Санкт-Петербург, 1997. – 17 с.
  204. Шапкина, А.Н. Закрытые травмы гепатодуоденальной зоны у детей / А.Н. Шапкина, В.В. Шапкин, А.П. Пилипенко // Конгрессы детских гастроэнтерологов России : материалы XII Конгресса детских гастроэнтерологов России. – 2005. – С. 38–39.
  205. Шестаков, А.И. Использование суммационных бактерицидно-герметизирующих эффектов антибиотика и биополимера «Сульфакрилат» в хирургии брюшной аорты / А.И. Шестаков // Медицинский альманах. – 2008. – Прил. – С. 94–99.

206. Шписман, М.Н. Инструментальная оценка функциональных резервов системы гемостаза: норма и паталогия [Элетронный ресурс] / М.Н. Шписман // Меднорд-Техника. – Режим доступа: <http://mednord-t.ru/instrumentalnaya-ocenka>.
207. Шписман, М.Н. Исследование системы гемостаза: перспектива инструментального мониторинга в медицине критических состояний [Элетронный ресурс] / М.Н. Шписман // Меднорд-Техника. – Режим доступа: <http://mednord-t.ru/pespektiva-monitoringa-sistemy-gemostaza>.
208. Шулутко, А.М. NO-терапия у больных сахарным диабетом, осложненным гнойно-некротическими поражениями нижних конечностей / А.М. Шулутко, Н.В. Антропова, Ю.А. Крюгер // Хирургия. – 2004. – № 12. – С. 43–46.
209. Щеголев, А.А. Закрытая абдоминальная травма: тактика хирурга при повреждениях печени и селезенки / А.А. Щеголев, Д.В. Платонов, Е.А. Марущак // Лечебное дело. – 2007. – № 3. – С. 73–78.
210. Щеголев, А.А. Хирургическая тактика при закрытой травме живота с повреждением печени и селезенки / А.А. Щеголев, Д.В. Платонов, Е.А. Марущак // Вестник Российского государственного медицинского университета. – 2008. – № 6. – С. 20–23.
211. Экспериментальная оценка эффективности использования нового местного гемостатического средства на основе неорганических солей при травме печени и селезёнки / Ю.М. Гаин, О.С. Александрова, В.Н. Гапанович и др. // Новости хирургии. – 2010. – Т. 18, № 4. – С. 12–22. 192
212. Экспериментально-клиническое обоснование плазмодинамической терапии ран оксидом азота / А.Б. Шехтер, Р.К. Кабисов, А.В. Пекшев и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1998. – № 8. – С. 210–215.
213. Экспериментально-морфологическое обоснование использования экзогенного монооксида азота при лечении огнестрельных ран /

- Г.Н. Берченко, А.Н. Шальнев, А.В. Рыкунов, В.И. Татаренков // Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. – 2009. – № 4. – С. 49–54.
214. Юрченко, В.В. Возможности назобилиарного дренирования при лечении травм печени / В.В. Юрченко // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. – 2005. – № 3. – С. 344–345.
  215. A sub-microsecond pulsed plasma jet for endodontic biofilm disinfection [Electronic resource] / C. Jiang, C. Schaudinn, D. Jaramillo et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / ed. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  216. Ahmed, N. Management of liver trauma in adults / N. Ahmed, J. Vernick // J. Emerg. Trauma Shock. – 2011. – Vol. 4, N 1. – P. 114–119.
  217. Alkozai, E.M. Bleeding in liver surgery: prevention and treatment / E.M. Alkozai, T. Lisman, R.J. Porte // Clin. Liver. Dis. – 2009. – Vol. 13, N 1. – P. 145–154.
  218. Altered antioxidant system stimulates dielectric barrier discharge plasma-induced cell death for solid tumor cell treatment [Electronic resource] / N.K. Kaushik, N. Kaushik, D. Park, E.H. Choi // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, N 7. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4113384>.
  219. Antioxidant capacity of mononitrosyl-iron-dithiocarbamate complexes: Implications for NO trapping / A.F. Vanin, A. Huisman, E. Stroes et al. // Free Rad. Biol. Med. – 2001. – Vol. 30. – P. 813–824.
  220. Antisepsis of the skin by treatment with tissue-tolerable plasma (TTP): Risk assessment and perspectives [Electronic resource] / J. Lademann, H. Richter, A. Patzelt et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  221. Antisepsis of the skin by treatment with tissue-tolerable plasma (TTP): Risk assessment and perspectives [Electronic resource] / I. Topala, A.V. Nastuta, C. Grigoras, N. Dumitrascu // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.



222. Antitumor effect of plasma treatment on U87 glioma xenografts: preliminary results / M. Vandamme, E. Robert, S. Pesnel et al. // *Plasma Process. Polym.* – 2010. – Vol. 7. – P. 264–273.
223. Antonetti, M.C. Hand-assisted laparoscopic liver surgery / M.C. Antonetti, B. Killelea, R. Orlando // *Arch. Surg.* – 2002. – Vol. 137, N 4. – P. 407–412.
224. Applied Plasma Medicine / G. Fridman, G. Friedman, A. Gutsol et al. // *Plasma Process. Polym.* – 2008. – Vol. 5. – P. 503–533.
225. Arrays, J. Cold Plasma Decontamination using Flexible [Electronic resource] / J. Arrays, G. Konesky // *Proc. SPIE 7665, Chemical, Biological, Radiological, Nuclear, and Explosives (CBRNE).* – 2010. – URL: [http://www.researchgate.net/publication/228886440\\_Cold\\_Plasma\\_Decontamination\\_using\\_Flexible\\_Jet\\_Arrays](http://www.researchgate.net/publication/228886440_Cold_Plasma_Decontamination_using_Flexible_Jet_Arrays).
226. Assessment of hepatic reserve for the indication of hepatic resection: how I do it / G.M. Gazzaniga, S. Cappato, F.E. Belli et al. // *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.* – 2005. – Vol. 12. – P. 27–30.
227. Assessment of hepatic steatosis in patients undergoing liver resection: comparison of US, CT, T1-weighted dual-echo MR imaging, and point-resolved <sup>1</sup>H MR spectroscopy / J.R. van Werven, H.A. Marsman, A.J. Nederveen et al. // *Radiology.* – 2010. – Vol. 256, N 1. – P. 159–168.
228. Atmospheric pressure plasma jet interactions with plasmid DNA [Electronic resource] / D. O'Connell, L.J. Cox, W.B. Hyland et al. // *Plasma for bio-decontamination, medicine and food security* / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
229. Bacterial inactivation by high-voltage atmospheric cold plasma: influence of process parameters and effects on cell leakage and DNA / L. Han, S. Patil, K.M. Keener et al. // *J. Appl. Microbiol.* – 2014. – Vol. 116, N 4. – P. 784–794.
230. Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds / S.A. Ermolaeva, A.F. Varfolomeev, M.Y. Chernukha et al. // *J. Med. Microbiol.* – 2011. – Vol. 60. – P. 75–83.

231. Bender, C. Synergistic effects of tissue tolerable plasma and polihexanide to promote healing of chronic wounds - in vivo and in vitro results [Electronic resource] / C. Bender, A. Kramer, N.O. Hübner // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
232. Beneficial effect of gaseous nitric oxide on the healing of skin wounds / A.B. Shekhter, V.A. Serezhnikov, T.G. Rudenko et al. // Nitric. Oxide. – 2005. – Vol. 12. – P. 210–219.
233. Biocidal effects of nanosecond repetitively pulsed discharges [Electronic resource] / D.A. Lacoste, J. Jarrige, D.L. Rusterholtz et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
234. Biological effects of ultrashort pulsed electric fields [Electronic resource] / J.F. Kolb, S.J. Beebe, M. Stacey et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
235. Biological Evaluation of DNA Damage in Bacteriophages Inactivated by Atmospheric Pressure Cold Plasma / H. Yasuda, T. Miura, H. Kurita et al. // Plasma Process. Polym. – 2010. – Vol. 7. – P. 301–308.
236. Bipolar plasma vaporization versus monopolar TUR and “cold-knife” TUI in secondary bladder neck sclerosis – An evidence based, retrospective critical comparison in a single center clinical setting / C. Moldoveanu, B. Geavlete, M. Jecu et al. // J. Med. Life. – 2014. – Vol. 7, N 1. – P. 94–99.
237. Brelles-Mariño, G. Bacterial biofilm inactivation by gas discharge plasma: Overview and future Perspectives [Electronic resource] / G. Brelles-Mariño // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.

238. Cappell, M.S. Hepatic disorders severely affected by pregnancy: medical and obstetric management / M.S. Cappell // *Med. Clin. N. Am.* – 2008. – Vol. 92. – P. 739–760.
239. Carus, T. Collateral tissue damage by several types of coagulation (monopolar, bipolar, cold plasma and ultrasonic) in a minimally invasive, perfused liver model [Electronic resource] / T. Carus, K. Rackebrandt // *ISRN Surg.* – 2011. – Vol. 2011. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3200089>.
240. Chang, K.W. Randomized controlled trial of Coblation versus electrocautery tonsillectomy / K.W. Chang // *Otolaryngol. Head Neck. Surg.* – 2005. – Vol. 132, N 2. – P. 273–280.
241. Change in predominant energy substrate after hepatectomy / T. Nakatani, K. Ozawa, M. Asano et al. // *Life Sci.* – 1981. – Vol. 28, N 3. – P. 257–264.
242. Characterization of an intermittent negative dc-corona discharge in argon designed for medical applications [Electronic resource] / R. Brandenburg, T. Gerling, R. Bussiahn et al. // *Plasma for bio-decontamination, medicine and food security* / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
243. Characterization of bacterial and bio-macromolecule damage by (V)UV and particle channels of X-microscale atmospheric pressure plasma jet (X- $\mu$ APPJ) [Electronic resource] / J.W. Lackmann, S. Schneider, F. Narberhaus et al. // *Plasma for bio-decontamination, medicine and food security* / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
244. Cobbold, C.A. The role of nitric oxide in the formation of keloid and hypertrophic lesions / C.A. Cobbold // *Med. Hypotheses.* – 2001. – Vol. 57, N 4. – P. 497–502.
245. Coelho, T. Hepatic hematomas in pregnancy / T. Coelho, J. Braga M. Sequeira // *Acta Obstet Gynecol. Scand.* – 2001. – Vol. 79, N 10. – P. 884–886.
246. Cold atmospheric plasma for clinical purposes – promising results in patients and future applications [Electronic resource] / G. Isbary, W. Stolz, T. Shimizu et al. //

- Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
247. Cold atmospheric plasma for selectively ablating metastatic breast cancer cells [Electronic resource] / M. Wang, B. Holmes, X. Cheng et al. // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, N 9. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3770688>.
  248. Cold-plasma coagulation in the treatment of malignant pleural mesothelioma: results of a combined approach / M. Hoffmann, H.P. Bruch, P. Kujath, S. Limmer // Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg. – 2010. – Vol. 10, N 4. – P. 502–505.
  249. Comparison of various types and parameters of corona discharges for decontamination of surfaces and liquids [Electronic resource] / V. Scholtz, J. Julák, L. Kommová et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  250. DBD plasma assisted silver functionalization of surgical meshes [Electronic resource] / J. Ráhel', H. Polášková, E. Jonášová, M. Hudcová // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  251. Decontamination of Bacillus subtilis spores in a sealed package using a non-thermal plasma system [Electronic resource] / K.M. Keener, J.L. Jensen, V.P. Valdramidis et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  252. Decontamination of biological suspensions by pulsed corona discharges: Role of UV radiation, frequency and conductivity [Electronic resource] / E. Spetlikova, V. Janda, P. Lukes, M. Clupek // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.

253. Determination of a safe vascular clamping method for liver surgery: evaluation by measuring activation of calpain mu / M. Wang, M. Sakon, K. Umeshita et al. // Arch. Surg. – 1998. – Vol. 133, N 9. – P. 983–987.
254. Determination of effective UV/VUV radiation of a low pressure inductively coupled plasma for sterilization of spores [Electronic resource] / B. Denis, N. Bibinov, T. Mussenbrock, P. Awakowicz // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
255. Dielectric barrier discharge plasma in coagulation and sterilization [Electronic resource] / M. Balasubramanian, A. Sebastian, M. Peddinghaus et al. // Blood (ASH Annual Meeting Abstracts). – 2006. – Vol. 108. – URL: <http://abstracts.hematologylibrary.org/cgi/content/abstract/108/11/4043>.
256. DNA Damage in Mammalian Cells by Non-thermal Atmospheric Pressure Microsecond Pulsed Dielectric Barrier Discharge Plasma is not Mediated by Ozone / S. Kalghatgi, A. Fridman, J. Azizkhan-Clifford, G. Friedman // Plasma Process. Polym. – 2012. – Vol. 9, N 7. – P. 726–732.
257. DNA oxidation by reactive oxygen species produced by atmospheric pressure Microplasmas [Electronic resource] / J.S. Sousa, G. Bauville, B. Lacour et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
258. Effect of hypoventilation on bleeding during hepatic resection: a randomized controlled trial / K. Hasegawa, T. Takayama, R. Orii et al. // Arch. Surg. – 2002. – Vol. 137, N 3. – P. 311–315.
259. Effective control of hepatic bleeding with a novel collagen-based composite combined with autologous plasma: results of a randomized controlled trial / W.C. Chapman, P.A. Clavien, J. Fung et al. // Arch. Surg. – 2000. – Vol. 135, N 10. – P. 1200–1204.
260. Effects of a non-thermal plasma treatment alone or in combination with gemcitabine in a MIA PaCa2-luc orthotopic pancreatic carcinoma model

- [Electronic resource] / L. Brullé, M. Vandamme, D. Riès et al. // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, N 12. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3530450>.
261. Effects of atmospheric nonthermal plasma on invasion of colorectal cancer cells [Electronic resource] / C.H. Kim, S. Kwon, J.H. Bahn et al. // Appl. Phys. Lett. – 2010. – Vol. 96, N 24. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2902543>.
262. Effects of non-thermal plasma on mammalian cells [Electronic resource] / S. Kalghatgi, C.M. Kelly, E. Cerchar et al. // PLoS ONE. – 2011. – Vol. 6, N 1. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3025030>.
263. Efficacy of a haemostatic matrix for the management of bleeding in patients undergoing liver resection: results from 237 cases / F. Izzo, R. Di Giacomo, P. Falco et al. // Cur. Med. Res. Opin. – 2008. – Vol. 24, N 4. – P. 1011–1015.
264. El-Aragi, G.M. Experimental study and sterilizing application of non-thermal plasma technology [Electronic resource] / G.M. El-Aragi // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
265. Electromagnetic thermal surgery system for liver resection: An animal study / C.Y. Chen, R. Zuchini, H.W. Tsai et al. // Int. J. Hyperthermia. – 2010. – Vol. 26, N 6. – P. 604–609.
266. Endothelial cell proliferation is enhanced by low dose non-thermal plasma through fibroblast growth factor-2 release / S. Kalghatgi, G. Friedman, A. Fridman, A.M. Clyne // Ann. Biomed. Eng. – 2010. – Vol. 38, N 3. – P. 748–757.
267. Evaluation of a new hemostatic agent Ankaferd Blood Stopper in experimental liver laceration / K. Karakaya, H.B. Ucan, O. Tascilar et al. // J. Invest. Surg. – 2009. – Vol. 22. – P. 201–206.
268. Experimental and theoretical investigation of cold sterilization of medical instruments by plasma DC glow discharge / I.O. Soloshenko, V.A. Khomich,

- V.V. Tsiolko et al. // Proceedings of the 14th International Symposium on Plasma Chemistry. – Prague, 2002. – P. 2551–2556.
269. Features of sterilization using low-pressure DC-discharge hydrogen-peroxide plasma / I.A. Soloshenko, V.V. Tsiolko, V.A. Khomich et al. // Plasma Science. – 2002. – Vol. 30, N 4. – P. 1440–1444.
  270. Fibrinogen-impregnated collagen as a combined haemostatic agent and antibiotic delivery system in a porcine model of splenic trauma / S.J. Parker, D. Brown, P.F. Hill, P.E. Watkins // Eur. J. Surg. – 1999. – Vol. 165. – P. 609–614.
  271. First achievements and opportunities for cancer treatment approach using non thermal plasma [Electronic resource] / E. Robert, M. Vandamme, J. Sobilo et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  272. Fridman, G. Blood coagulation and living tissue sterilization by floating-electrode dielectric barrier discharge in air / G. Fridman, M. Peddinghaus, M. Balasubramanian // Plasma Chemistry and Plasma Processing. – 2006. – Vol. 26, N 4. – P. 425–442.
  273. Fumagalli, F. Biomaterials etching in low pressure inductively coupled discharge [Electronic resource] / F. Fumagalli, F. Rossi // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  274. Fungicidal and bactericidal effect of plasma and radiowave treatment on biological and medical materials [Electronic resource] / V. Azharonok, I. Filatova, O. Shedikova, A. Shik // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  275. Gadoteric acid-enhanced magnetic resonance imaging for differentiating small hepatocellular carcinomas ( $\leq 2$  cm in diameter) from arterial enhancing pseudolesions: special emphasis on hepatobiliary phase imaging / H.Y. Sun, J.M. Lee, C.I. Shin et al. // Invest. Radiol. – 2010. – Vol. 45, N 2. – P. 96–103.



276. Generation of reactive oxygen species in kHz-driven atmospheric pressure plasma jets for biomedical applications [Electronic resource] / J.S. Sousa, Q. Algwari, K. Niemi et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
277. Generator of focused shock waves in water for biomedical applications [Electronic resource] / P. Lukes, P. Sunka, P. Hoffer et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
278. Graves, D.B. Low temperature plasma biomedicine: A tutorial review [Electronic resource] / D.B. Graves // Physics of plasmas. – 2014. – Vol. 21, N 8. – URL: <http://scitation.aip.org/content/aip/journal/pop/21/8/10.1063/1.4892534>.
279. Guivan, M. Xenon iodide exciplex lamp as an efficient source for the UV surface cleaning and water decontamination [Electronic resource] / M. Guivan, H. Motomura, M. Jinno // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
280. Hepatic hemangioma and metastasis: differentiation with gadoxetate disodium-enhanced 3-T MRI / S. Goshima, M. Kanematsu, H. Watanabe et al. // Am. J. Roentgenol. – 2010. – Vol. 195, N 4. – P. 941–946.
281. Hepatocellular carcinoma in the cirrhotic liver: gadolinium-enhanced 3D T1-weighted MR imaging as a stand-alone sequence for diagnosis / E.M. Hecht, A.E. Holland, G.M. Israel et al. // Radiology. – 2006. – Vol. 239, N 2. – P. 438–447.
282. High success with nonoperative management of blunt hepatic trauma: the liver is a sturdy organ / G.C. Velmahos, K. Toutouzas, R. Radin et al. // Arch. Surg. – 2003. – Vol. 138, N 5. – P. 475–480.
283. Histologic Characterization of Coblation Nucleoplasty Performed on Sheep Intervertebral Discs / M.S. Lee, G. Cooper, G.E. Lutz, S.B. Doty // Pain Physician. – 2003. – Vol. 6, N 4. – C. 439–442.

284. Hoffmann, C. Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology [Electronic resource] / C. Hoffmann, C. Berganza, J. Zhang // *Med. Gas. Res.* – 2013. – Vol. 3, N 1. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4016545>.
285. In Vitro Susceptibility of Important Skin and Wound Pathogens Against Low Temperature Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) and Dielectric Barrier Discharge Plasma (DBD) / G. Daeschlein, S. Scholz, A. Arnold et al. // *Plasma Process. Polym.* – 2012. – Vol. 9. – P. 380–389.
286. Inactivation of Candida biofilms by non-thermal plasma and its enhancement for fungistatic effect of antifungal drugs [Electronic resource] / Y. Sun, S. Yu, P. Sun et al. // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7, N 7. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3393702>.
287. Inactivation of microorganisms in model biofilms by atmospheric pressure nonthermal Plasma [Electronic resource] / E. Kobzev, V. Kholodenko, V. Chugunov et al. // *Plasma for bio-decontamination, medicine and food security* / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
288. Incidental splenic injury during abdominal vascular surgery: a case-controlled analysis / M.A. Eaton, J. Valentine, M.R. Jackson et al. // *J. Am. Coll. Surg.* – 2000. – Vol. 190, N 1. – P. 58–64.
289. Increase of the gluconeogenic and decrease of the glycolytic capacity of rat liver with a change of the metabolic zonation after partial hepatectomy / A. Brinkmann, N. Katz, D. Sasse, K. Jungermann // *Hoppe Seylers. Z. Physiol. Chem.* – 1978. – Vol. 359, N 11. – P. 1561–1571.
290. Intraindividual comparison of gadoxetate disodium-enhanced MR imaging and 64-section multidetector CT in the Detection of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis / M.D. Martino, D. Marin, A. Guerrisi et al. // *Radiology.* – 2010. – Vol. 256, N 3. – P. 806–816.
291. Investigation of the sterilization of medical instruments by atmospheric pressure discharges / V.Y. Bazhenov, A.I. Kuzmichev, V.I. Kryzhanovsky et al. //

- Proceedings of 15th International Symposium on Plasma Chemistry. – Orleans, 2001. – Vol. 7. – P. 3005–3010.
292. Investigations of bacterial inactivation and DNA fragmentation induced by flowing humid argon post-discharge [Electronic resource] / S. Limam, M.J. Kirkpatrick, B. Dodet et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
293. Kim, H.H. Nonthermal Plasma Processing for Air-Pollution Control: A Historical Review, Current Issues, and Future Prospects / H.H. Kim // Plasma Process. Polym. – 2004. – Vol. 1. – P. 91–110.
294. Kinetic processes in a plasma of barrier discharge in atmospheric air: influence of water vapor on biological activity of the generated medium / V.Y. Bazhenov, A.V. Ryabtsev, I.A. Soloshenko et al. // Ukr. J. Phys. – 2003. – Vol. 48, N 1. – P. 27–32.
295. Koban, I. Could the addition of agents exceed anti-biofilm plasma efficacy? [Electronic resource] / I. Koban, T. Kocher // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
296. Langton, J. Uterine myomectomy by Coblation / J. Langton, M. Timms // BJOG. – 2006. – Vol. 113. – P. 347–349.
297. Laparoscopic liver resection in domestic pigs using an ultrasonic dissector / U. Matern, E. Pauly, M. Ahrens et al. // Minim. Invasive Ther. Allied. Technol. – 1996. – Vol. 5, N 1. – P. 5–8.
298. Laroussi, M. Low-Temperature Plasmas for Medicine? / M. Laroussi // Plasma Science. – 2009. – Vol. 37, N 6. – P. 714–725.
299. Live pig skin tissue and wound toxicity of cold plasma treatment / D. Dobrynin, A. Wu, S. Kalghatgi et al. // Plasma Medicine. – 2011. – Vol. 1, N 1. – P. 93–108.
300. Long-term results of surgery for liver hemangiomas / I. Ozden, A. Emre, A. Alper et al. // Arch Surg. – 2000. – Vol. 135, N 8. – P. 978–981.

301. Low temperature atmospheric argon plasma: Diagnostics and medical applications [Electronic resource] / O.F. Petrov, M. Alyapyshev, S.A. Ermolaeva et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
302. Low temperature plasma: a novel focal therapy for localized prostate cancer? [Electronic resource] / A.M. Hirst, F.M. Frame, N.J. Maitland, D. O'Connell // Biomed. Res. Int. – 2014. – Vol. 2014. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3971493>.
303. Lupu, A.R. Importance of oxidative processes induced in normal and tumoral cell monolayers exposed to the action of cold plasma jets [Electronic resource] / A.R. Lupu, N. Georgescu // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
304. Marsh, F.A. Surviving hepatic rupture in pregnancy-a literature review with an illustrative case report / F.A. Marsh, S.J. Kaufmann, K. Bhabra // J. Obstet. Gynaecol. – 2003. – Vol. 23, N 2. – P. 109–113.
305. Mechanism of blood coagulation by non-thermal atmospheric pressure dielectric barrier discharge / S. Kalghatgi, G. Fridman, M. Balasubramanian et al. // Plasma Science. ICOPS. IEEE 34th International Conference on. – Albuquerque, 2007. – Abstr. 9784440. – P. 674.
306. Mercadier, M. Experiences with anatomic hemihepatectomy and left lobectomy / M. Mercadier, J.P. Clot // Surgery Gynec. Obst. – 1971. – Vol. 133, N 3. – P. 467–471.
307. Mizeraczyk, J. Low-temperature microwave microplasma for bio-sterilization [Electronic resource] / J. Mizeraczyk, B. Hrycak, M. Jasiński // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
308. Mizuno, A. Damages of biological components in bacteria and bacteriophages exposed to atmospheric non-thermal plasma [Electronic resource] / A. Mizuno //

- Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
309. Mulsch, A. Quantification of nitric oxide in biological systems by ESR spectroscopy / A. Mulsch, P.I. Mordvincev, A.F. Vanin // *Neuroprotocols*. – 1992. – Vol. 1. – P. 165–173.
  310. Murariu, D. Splenic rupture: a case of massive hemoperitoneum following therapeutic colonoscopy / D. Murariu, S. Takekawa, N. Furumoto // *Hawaii Med. J.* – 2010. – Vol. 69, N 6. – P. 140–141.
  311. Non-equilibrium air plasma for wound bleeding control [Electronic resource] / S.P. Kuo, C.Y. Chen, C.S. Lin, S.H. Chiang // *Plasma for bio-decontamination, medicine and food security* / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  312. Nonsurgical management of delayed splenic rupture after blunt trauma / P.P. Liu, H.T. Liu, T.M. Hsieh et al. // *J. Trauma Acute Care Surg.* – 2012. – Vol. 72, N 4. – P. 1019–1023.
  313. Non-thermal atmospheric pressure plasma inhibits thyroid papillary cancer cell invasion via cytoskeletal modulation, altered MMP-2/-9/upa activity [Electronic resource] / J.W. Chang, S.U. Kang, Y.S. Shin et al. // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, N 3. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC396542>.
  314. Non-thermal Plasma Induces Apoptosis in Melanoma Cells via Production of Intracellular Reactive Oxygen Species / R. Sensenig, S. Kalghatgi, E. Cerchar et al. // *Annals of Biomedical Engineering*. – 2011. – Vol. 39, N 2. – P. 674–687.
  315. Nonthermal plasma induces head and neck cancer cell death: the potential involvement of mitogen-activated protein kinase-dependent mitochondrial reactive oxygen species [Electronic resource] / S.U. Kang, J.H. Cho, J.W. Chang et al. // *Cell Death. Dis.* – 2014. – Vol. 5, N 2. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3944250>.
  316. Non-thermal plasma technic for air pollution control [Electronic resource] / T. Matsumoto, D. Wang, T. Namihira, H. Akiyama // *Air Pollution – A*

- Comprehensive Perspective / ed. B. Haryanto. – Rijeka, Croatia : InTech, 2012. – Ch. 9. – URL: <http://www.intechopen.com/books/air-pollution-a-comprehensive-perspective>.
317. Non-thermal plasma treatment of dentin surface for bacterial disinfection and improved composite restoration [Electronic resource] / Q.S. Yu, A.C. Ritts, B. Yang et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  318. Non-thermal plasma-based technology for soil treatment / H.D. Stryczewska, K. Ebihara, M. Takayama et al. // Plasma Process. Polym. – 2005. – Vol. 2. – P. 238–245.
  319. Occlusion of hepatic blood inflow for complex central liver resections in cirrhotic patients: a randomized comparison of hemihepatic and total hepatic occlusion techniques / C.C. Wu, D.C. Yeh, W.M. Ho et al. // Arch. Surg. – 2002. – Vol. 137, N 12. – P. 1369–1376.
  320. Oniscu, G.C. Classification of liver and pancreatic trauma / G.C. Oniscu, R.W. Parks, O.J. Garden // HPB (Oxford). – 2006. – Vol. 8, N 1. – P. 4–9.
  321. Optical emission spectroscopic evaluation of different microwave discharges and its potential application for sterilization processes [Electronic resource] / J.L. Hueso, V.J. Rico, A. Yanguas-Gil et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  322. Organic compound destruction in dynamic plasma-liquid systems [Electronic resource] / V.Y. Chernyak, S.V. Olszewski, O.A. Nedybalyuk et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  323. Oxygen plasma inactivation of Staphylococcus aureus [Electronic resource] / D. Vujošević, U. Cvelbar, M. Mozetič et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.

324. Ozone soil conditioning and decontamination [Electronic resource] / J. Pawłat, D. Stryczewska, K. Ebihara et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
325. Paediatric splenic trauma: its management and the role of ultrasonography in its follow-up / J. Akhtar, G.M. Hendry, S. McKenzie, G.A. Mackinlay // Minimally Invasive Therapy. – 1994. – Vol. 3. – P. 39–42.
326. Pat. 20120516 United State, IPC8 B01J19/08. Plasma system and method of producing a functional coating / S. Grosse, S. Henke, S. Spindler. – N US201213472830 ; fil. 16.05.2012 ; pub. 06.09.2012.
327. Pat. 428412 United State, IPC8 AB32B2706FI. Gas/Plasma spray coating / M.P. Birka, T.F. O'Brien, J.H. Whiteside. – N US20120225297 A1 ; fil. 3.02.2012 ; pub. 06.09.2012.
328. Pedrow, P. Atmospheric pressure cold plasma processing of bioactive packaging applied directly to fresh fruits and vegetables [Electronic resource] / P. Pedrow, E. Wemlinger, I. Alhamarneh // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
329. Pelach, M. Comparison of direct and indirect effects of cold air plasma on bacteria contaminated surfaces [Electronic resource] / M. Pelach, Z. Machala // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
330. Physical mechanisms of plasma assisted wound healing: production and delivery of active species [Electronic resource] / D. Dobrynin, G. Fridman, G. Friedman, A. Fridman // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
331. Plasma agents in water and surface decontamination [Electronic resource] / Z. Machala, B. Tarabová, M. Pelach et al. // Plasma for bio-decontamination,



- medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
332. Plasma effects on chronic infection models [Electronic resource] / S. Ermolaeva, N. Zigangirova, E. Sysolyatina et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  333. Plasma medicine: possible applications in dermatology / J. Heinlin, G. Morfill, M. Landthaler et al. // J. Dtsch. Dermatol. Ges. – 2010. – Vol. 8, N 12. – P. 968–976.
  334. Plasma needle : exploring biomedical applications of non-thermal plasmas / door Ingrid Elisabeth Kieft / I.E. Kieft, D.W. Slaaf, G.M. Kroesen, E. Stoffels-Adamowicz. – Eindhoven : Technische Universiteit Eindhoven, 2005. – 147 p.
  335. Plasma-liquid-interactions: chemistry and antimicrobial effects [Electronic resource] / T. von Woedtke, K. Oehmigen, R. Brandenburg et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  336. Postbiopsy splenic bleeding in a dog model: comparison of cauterization, embolization, and plugging of the needle tract / S.H. Choi, J.M. Lee, K.H. Lee et al. // Am. J. Roentgenol. – 2005. – Vol. 185, N 4. – P. 878–884.
  337. Prospects, problems and chances of the use of plasmas in life-sciences [Electronic resource] / K.D. Weltmann, R. Brandenburg, R. Bussiahn et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
  338. Protection by dietary *Spirulina platensis* against D-galactosamine and acetaminophen-induced liver injuries / J. Lu, D. Ren, J. Wang et al. // Br. J. Nutrit. – 2010. – Vol. 103. – P. 1573–1576.
  339. Radin, D.R. Liver trauma and transection of the inferior vena cava. Sentinel contrast sign and hepatic perivenous tracking / D.R. Radin // Acta Radiol. – 1992. – Vol. 33, N 3. – P. 255–257.

340. Resistive barrier discharge device to generate gas plasma for food decontamination [Electronic resource] / A. Berardinelli, L. Vannini, L. Ragni et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
341. Restoration of sensitivity in chemo-resistant glioma cells by cold atmospheric plasma [Electronic resource] / J. Körtzner, V. Boxhammer, A. Schäfer et al. // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, N 5. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3660344>.
342. Rienzo Businco, Di L. Comparative study on the effectiveness of Coblation-assisted turbinoplasty in allergic rhinitis / L. Di Rienzo Businco, A. Di Rienzo Businco, M. Lauriello // Rhinology. – 2010. – Vol. 48, N 2. – P. 174–178.
343. Roks, A.J. Delayed effects of cold atmospheric plasma on vascular cells Eva Stoffels / A.J. Roks, L.E. Deelman // Plasma Process. Polym. – 2008. – Vol. 5. – P. 599–605.
344. Rudiger, H.A. Liver ischemia: apoptosis as a central mechanism of injury / H.A. Rudiger, R. Graf, P.A. Clavien // J. Investigat. Surg. – 2003. – Vol. 16. – P. 149–159.
345. Sadat, U. Preconditioning or postconditioning in hepatic surgery / U. Sadat, K. Varty // Arch. Surg. – 2008. – Vol. 143, N 10. – P. 1026.
346. SDBD plasma jet for skin disinfection [Electronic resource] / Y.L. Creighton, S.R. Meijer, P.E. Verweij et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
347. Seeger, W. Pneumology – from phthisiology to regenerative medicine / W. Seeger // Dtsch. Med. Wochenschr. – 2005. – Vol. 130. – P. 1543–1546.
348. Shekarriz, B. The use of fibrin sealant in urology / B. Shekarriz, M.L. Stoller // J. Urol. – 2002. – Vol. 167, N 3. – P. 1218–1225.
349. Šipoldová, Z. Bio-decontamination of plastic and dental surfaces with atmospheric pressure air DC discharges [Electronic resource] / Z. Šipoldová,

- Z. Machala // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
350. Soliman, A.M. The effect of ionizing gas plasma as apoptosis promoter in some cancer cell lines [Electronic resource] / A.M. Soliman, H.F. AbdelHamid // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
351. Spontaneous non-traumatic massive intraabdominal spleen bleeding in young females: Importance of ATLS principles and trauma alarm / A.M. Kazaryan, J. Wiborg, K. Hauss et al. // Am. J. Case Rep. – 2014. – Vol. 15. – P. 189–193.
352. Sterilization by plasma of the low pressure discharge glowing in hydrogen peroxide vapor / I.A. Soloshenko, V.V. Tsiolko, V.A. Khomich et al. // Proceedings of 15th International Symposium on Plasma Chemistry. – Orleans, 2001. – Vol. 2. – P. 735–742.
353. Sterilization of Medical Products in Low-Pressure Glow Discharges / I.A. Soloshenko, V.V. Tsiolko, V.A. Khomich et al. // Plasma Physics Reports. – 2000. – Vol. 26, N 9. – P. 792–800.
354. Sterillization using pulsed corona microplasma jet [Electronic resource] / R. Pothiraja, J. Lackmann, G. Keil et al. // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
355. Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: results of a randomized controlled trial / G. Isbary, J. Heinlin, T. Shimizu et al. // Br. J. Dermatol. – 2012. – Vol. 167, N 2. – P. 404–410.
356. Tarasenko, V.F. Excilamps and atmospheric pressure plasma and their applications in biology and medicine [Electronic resource] / V.F. Tarasenko, E.A. Sosnin // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.

357. The application of cold-plasma coagulation on the visceral pleura results in a predictable depth of necrosis without fistula generation / M. Hoffmann, A. Ulrich, E. Schloerich et al. // *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* – 2012. – Vol. 14, N 3. – P. 239–243.
358. The fungal spores survival under the low-temperature plasma [Electronic resource] / H. Soušková, V. Scholtz, J. Julák, D. Savická // *Plasma for bio-decontamination, medicine and food security* / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
359. The prospects for atmospheric gas plasmas in the food industry [Electronic resource] / G. Shama, D. Bayliss, S. Perni, M.G. Kong // *Plasma for bio-decontamination, medicine and food security* / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
360. The Role of Acidification for Antimicrobial Activity of Atmospheric Pressure Plasma in Liquids / K. Oehmigen, M. Hahnel, R. Brandenburg et al. // *Plasma Process. Polym.* – 2010. – Vol. 7. – P. 250–257.
361. Time and space evolution of plasma bullets in APPJ applied for human tissue Treatment / [Electronic resource] / A.V. Nastuta, I. Topala, V. Pohoata, G. Popa // *Plasma for bio-decontamination, medicine and food security* / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
362. Tissue Tolerable Plasma (TTP) induces apoptosis in pancreatic cancer cells in vitro and in vivo [Electronic resource] / L.I. Partecke, K. Evert, J. Haugk et al. // *BMC Cancer.* – 2012. – Vol. 12. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3598726/>.
363. Treatment of clinical dermatosis and candida biofilms using a direct-current, atmospheric-pressure cold plasma micro-jet [Electronic resource] / P. Sun, S. Yu, H. Wu et al. // *Plasma for bio-decontamination, medicine and food security* / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.

364. Tsiolko, V.V. Features of the sterilization by UV irradiation of low-pressure discharge plasma [Electronic resource] / V.V. Tsiolko // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
365. Tyagi, V. Spontaneous subcapsular hematoma of liver in pregnancy of unknown etiology--conservative management: a case report / V. Tyagi, A.G. Shamas, A.D. Cameron // J. Matern. Fetal. Neonatal. Med. – 2010. – Vol. 23, N 1. – P. 107–110.
366. Use of non-thermal atmospheric pressure plasma discharge for coagulation and sterilization of surface wounds / G. Fridman, L. Peddinghaus, T. Vinovrski et al. // Plasma Science. ICOPS. IEEE Conference Record : Abstracts. – Monterey, 2005. – Abstr. 9496818. – P. 257.
367. Use of vascular clamping in hepatic surgery: lessons learned from 1260 liver resections / G. Ercolani, M. Ravaioli, G.L. Grazi et al. // Arch. Surg. – 2008. – Vol. 143, N 4. – P. 380–387.
368. Using non-thermal plasma to control air pollutants (EPA -456/R-05-001) [Electronic resource] : CATC Technical Bulletin / United States Environmental Protection Agency. – 2005. – URL: <http://www3.epa.gov/ttnecat1/products.html>.
369. Utilization of ultraviolet radiation of cold hollow cathode glow discharge plasma for water disinfection / I.A. Soloshenko, V.Y. Bazhenov, V.A. Khomich et al. // Ukr. J. Phys. – 2006. – Vol. 51. – P. 1063–1070.
370. Vagin, K.Y. Amplification of electromagnetic radiation by a nonequilibrium plasma unstable against the development of Weibel instability / K.Y. Vagin, S.A. Uryupin // Journal of Experimental and Theoretical Physics. – 2010. – Vol. 111, N 4. – P. 670–683.
371. Vanin, A.F. Endothelium-derived relaxing factor are a nitrosyl iron complexes with thiol ligands (Hypothesis) [Electronic resource] / A.F. Vanin // FEBS Lett. – 1991. – Vol. 289. – URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0014579391808949>.

372. Vasilets, V.N. Nitric oxide plasma sources for bio-decontamination and plasma therapy [Electronic resource] / V.N. Vasilets // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
373. Water bio-decontamination by spraying through cold air DC discharge plasma [Electronic resource] / B. Tarabová, Z. Machala, K. Hensel, L. Šikurová // Plasma for bio-decontamination, medicine and food security / eds. K. Hensel, Z. Machala. – Bratislava, 2011. – URL: <http://enviro.fmph.uniba.sk/nato/html/documents.html>.
374. Wilson, R.H. Postpartum rupture of a subcapsular hematoma of the liver / R.H. Wilson, B.M. Marshall // Acta Obstet. Gynecol. Scand. – 1992. – Vol. 71. – P. 394–391.
375. Zimmermann, H. Hepatectomy: preoperative analysis of hepatic function and postoperative liver failure / H. Zimmermann, J. Reichen // Dig. Surg. – 1998. – Vol. 15. – P. 1–11.