

На правах рукописи

СЕМИЧЕВ
Евгений Васильевич

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

14.01.17 – Хирургия

АВТОРЕФЕРАТ
на соискание ученой степени
доктора медицинских наук

Томск – 2017

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный консультант:

Заслуженный работник

Высшей школы РФ,

доктор медицинских наук, профессор

Байков Александр Николаевич

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Штофин Сергей Григорьевич

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой общей хирургии Бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Сургутский государственный университет»

Дарвин Владимир Васильевич

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии, урологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Омский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Полуэктов Владимир Леонидович

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

Защита состоится «___» _____ 201_ года в ___ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, 2.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России и на сайте www.ssmu.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 201_ года

Ученый секретарь диссертационного совета

Петрова Ирина Викторовна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. 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 (Асоян Г.А. и соавт., 1989; Альперович Б.И., 1990; Бунатян А.Г. и соавт., 2003; Марченко В.Т., и соавт., 2004; Дамбаев Г.Ц. и соавт., 2008, 2009, 2010; Денек О.И. и соавт., 2010). 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 (Денек О.И. и соавт., 2010). 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 (Слепцов И.В. и соавт., 2000; Егиев В.Н. и соавт., 2001; Семенов Г.М. и соавт., 2006). Кроме того, наложение швов не обеспечивает быструю остановку кровотечения (Асоян Г.А. и соавт., 1989; Альперович Б.И., 1990; Марченко В.Т., и соавт., 2004). Особенно остро эти вопросы возникают при остановке кровотечений из паренхиматозных органов (Бунатян А.Г. и соавт., 2003).

В последнее время все больше ощущается необходимость внедрения новых методов остановки кровотечений, с определенными требованиями, а именно: «быстрая» остановка кровотечений с минимальной травматизацией тканей; отсутствие контакта с обрабатываемой поверхностью (профилактика ВИЧ-инфекции, гепатитов и т.д.); интраоперационная профилактика инфекционных осложнений; минимальная стоимость обслуживания. На данный момент нет аппарата, соответствующего вышеперечисленным требованиям (Вишневыский В.А. и соавт., 2003; Дамбаев Г.Ц. и соавт., 2011).

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: OH , NO , N_2^+ , атомарный кислород, а также мощное ультрафиолетовое излучение (Алейник А.Н. и соавт., 2009; Денек О.И. и соавт., 2010; Fridman G. et al., 2007; Balasubramania M. et al., 2006; Fridman G. et al., 2007).

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 (Алейник А.Н. и соавт., 2009, 2010, 2011, 2012; Денеко О.И. и соавт., 2009, 2010; Balasubramania M. et al., 2006, 2007; Kalghatg S.U. et al., 2007; Graves D., 2014).

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

Степень разработанности темы исследования. В последние 15 лет происходит активное внедрение некоторых разработок приборов на основе «неравновесной плазмы» в медицину. В разное время отдельные группы авторов исследовали физические, химические и биологические эффекты «плазмы». Российские ученые еще в 1998 году в Московском государственном техническом университете им. Н.Е. Баумана разработали аппарат «Plazon» с другим принципом получения «плазменного потока», чем использованный в работе «Источник холодной плазмы-1» (Решетов И.В. и соавт., 2000).

В ряде экспериментальных работ, а также *in vitro* подтверждено влияние барьерного разряда на коагуляцию крови [Fridman G. et al. 2005, 2008; Balasubramanian M. et al. 2006, 2007; Kalghatgi S. et al. 2007, Gutsol A. et al 2008]. Установлено, что капля крови с антикоагулянтами, обработанная «неравновесной плазмой» коагулирует менее чем за 1 мин. Дополнительным исследованием было исключено температурное влияние «неравновесной плазмы» (температура 45° - 60°С) на систему свертывания крови (Fridman G. et al., 2008). Рядом авторов на мышах линии SKH-1 при повреждении подкожной и хвостовой вен показано ускорение остановки кровотечения после обработки «холодной плазмой» (Fridman G. et al., 2005, 2008; Balasubramanian M. et al., 2006, 2007; Kalghatg S.U. et al., 2007; Graves D., 2014).

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

- 1) «неравновесная плазма» вызывает коагуляцию как интактной крови, так и с антикоагулянтами, но скорость свёртывания зависит от характеристики последних;
- 2) «неравновесная плазма» способна изменять ионный заряд раствора и его pH;
- 3) «неравновесная плазма» изменяет естественную концентрацию свёртывающих факторов и ускоряет этот процесс;
- 4) эффекты, вызываемые «неравновесной плазмой», не зависят от ее температуры или от температуры поверхности крови;
- 5) «неравновесная плазма» способна ускорять активацию тромбоцитов и формирование фибриновых филаментов, даже в крови с антикоагулянтами.

Некоторые исследователи установили, что «неравновесная плазма» избирательно воздействует на белки, в особенности на фибриноген, но не способна полимеризовать альбумин (Fridman G. et al., 2008). Влияние на факторы свертывания крови также остаются малоизученными.

Американские ученые пришли к выводу, что «холодную плазму» можно применять как селективный метод коагуляции с отсутствием ожогов и глубоких повреждений тканей (Fridman G. et al., 2006; Kalghatgi S. et al., 2007).

Ученые из университета Ганновера исследовали эффекты на организм монополярного, биполярного, «холодно-плазменного» и ультразвукового коагуляторов (Carus T. et al., 2011). В своей работе они пришли к выводам, что остановка кровотечений может быть достигнута монополярной, биполярной и «холодно-плазменной» коагуляцией, а ультразвуковая коагуляция наиболее подходит для рассечения тканей.

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 атипичной 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 атипичной резекцией селезенки и последующей коагуляцией «неравновесной плазмой» предлагаемый новый метод планируется применять как органосохраняющий.

Теоретическая и практическая значимость. Полученные данные о влиянии «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 или «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 ткани резецируемых органов (печень, селезенка). Результаты исследования позволят оптимизировать хирургический процесс, внедрить в практическую медицину аппараты на основе «неравновесной плазмы», снижающие повреждающее действие на паренхиматозные органы и позволяющие выполнять органосохраняющие операции.

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».

Методология и методы исследования. Для остановки паренхиматозных кровотечений использовали аппарат «Источник холодной плазмы-1» (ИХП-1), разработанный на кафедре прикладной физики физико-технического факультета Томского политехнического университета (г. Томск). В работе на экспериментальных животных была разработана модель резекции паренхиматозных органов для анализа эффективности коагуляции, разработанной методикой. Методом оценки коагуляционных свойств

«неравновесной плазмы» явился метод низкочастотной пьезотромбоэластографии (аппарат АРП-01М «МЕДНОРД» (ООО «МЕДНОРД-ТЕХНИКА», г. Томск, Россия)). Морфологические маркеры активности регенерации оценивали стандартными гистологическими методиками (окраска гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван – Гизону). Исследовали гематологические и биохимические показатели крови. Изучали восстановление функционального состояния резецированных органов после различных вариантов интраоперационной остановки кровотечений и микроциркуляции с помощью магнитно-резонансной (МР) томографии, а также МР-ангиограмм. Клеточность селезенки после резекции изучали методом изготовления отпечатков и окраски по Нохту – Максимуму. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ SPSS и Statistica 6.0.

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.

Степень достоверности и апробации результатов. Результаты диссертационной работы имеют высокую степень достоверности, что обеспечивается большим объемом проанализированных образцов, использованием современных методов исследования и статистической обработкой полученных данных.

Результаты диссертации доложены и обсуждены на 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 XVIII 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.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 30 научных работ, 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.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении раскрыта актуальность проведенного исследования; степень разработанности темы; цели и задачи исследования; научная новизна; теоретическая и практическая значимость работы; методология и методы исследования; положения, выносимые на защиту; степень достоверности и апробация результатов.

Первая глава представляет собой обзор литературы, в котором представлены данные исторической справки, классификация кровотечений, патогенетический принцип систематизации острых кровотечений, методы их остановки. Рассматривается физический термин «плазма», особенности «неравновесной плазмы», а также аппараты, используемые в хирургии.

Во второй главе описывается дизайн исследования, объекты, используемые материалы и методы. 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.), оценка гистологических препаратов – кафедра морфологии и общей патологии ФГБОУ ВО СибГМУ Минздрава России (д-р мед. наук, доцент Геренг Е.А.).

Работа выполнена при финансовой поддержке по программе Приоритет 2012 Фонд содействия Развитию малых форм предприятий в НТС. Проведение НИОКР по государственному контракту № 10848р/19772 от 13.08.2012 г. Название НИОКР: «Разработка макета плазменного коагулятора на основе низкотемпературной плазмы для остановки кровотечений из паренхиматозных органов».

В работе использован разработанный на кафедре прикладной физики (НИ Томский политехнический университет) аппарат «Источник холодной плазмы-1», генерирующий «неравновесную плазму» (температура 45° С по всему разряду, амплитуда импульсов 15 кВ, частота следования 5 кГц).

Проведение 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.).

I – Этап *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 Этап *in vivo*:

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), 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. Животных приобретали в ИП «Радионов С.И.» (г. Томск), имеется сертификат здоровья.

Содержание, питание, уход за животными 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).

Было выполнено 3 серии экспериментов:

1. Операция резекция печени с последующей остановкой кровотечения швами по Оппелю – 42 крысы.
2. Операция резекция печени с последующей остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» – 42 крысы.

3. Операция резекция 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.

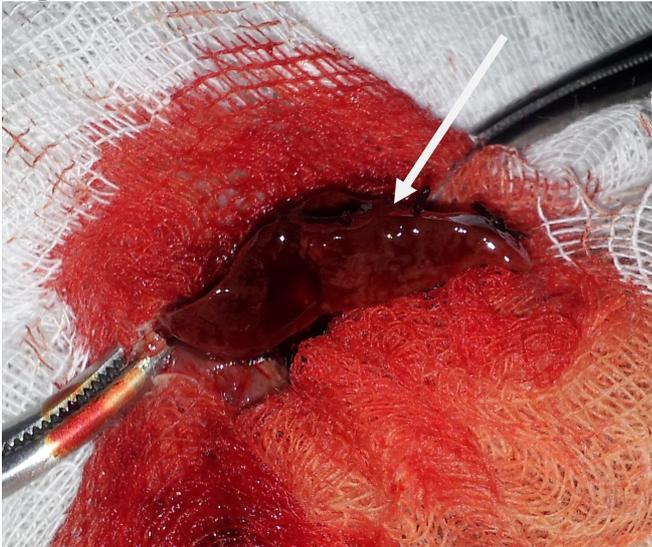


Рисунок 1 – Печень крысы после наложения швов по Оппелю. Швы указаны стрелкой.

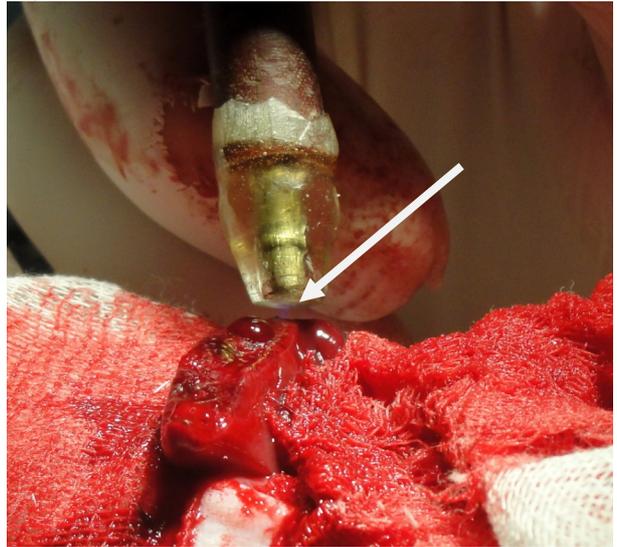


Рисунок 2 – Обработка раневой поверхности печени крысы «неравновесной плазмой». Барьерный разряд указан стрелкой.



Рисунок 3 – Раневая поверхность печени, обработанная «неравновесной плазмой». Обработанная поверхность указана стрелкой.

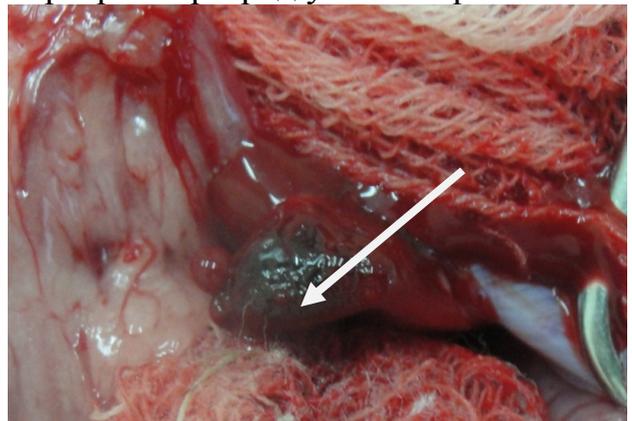


Рисунок 4 – Раневая поверхность селезенки, обработанная «неравновесной плазмой». Обработанная поверхность указана стрелкой.

В группе с остановкой кровотечения швами печени выполняли швы по Оппелю нитью «VICRYL» 5/0 на атравматической игле («Ethicon», Шотландия)

(рисунок 1). У второй группы экспериментальных животных с коагуляцией «неравновесной плазмой» печени остановку кровотечения осуществляли с применением аппарата «ИХП-1» (рисунки 2, 3).

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 после резекции селезёнки производили только аппаратом «ИХП-1» (рисунок 4).

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:

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

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

Выведение животных из эксперимента осуществляли при помощи 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.rsb.info.nih.gov/ij/>). За единицу измерения принимали 1 мм²

исследуемых органов. С помощью метода точечного счета Г.Г. Автандилова (1960 г.) с использованием Plugins «Grid» в гистологических препаратах подсчитывали удельные объемы (УО, $\text{мм}^3/\text{мм}^3$) следующих структур: гепатоцитов с признаками дистрофии (УО д.г.), двухядерных гепатоцитов (УО дв.г), гепатоцитов с некротическими изменениями (УО н.г), соединительной ткани (УО с.т.). При анализе морфометрических структур селезенки подсчитывали УО красной пульпы (УО к.п.), белой пульпы (УО б.п.), УО соединительной ткани (УО с.т.), УО сосудов. При помощи Plugins «Cell» программы ImageJ на 1 мм^2 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 – Максимуму.

Взятие крови у крыс осуществляли после предварительной асфиксии в камере с CO_2 . 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, α -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. 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 Крускала-Уоллиса. Критическим уровнем значимости считали значение $p < 0,05$.

В третьей главе представлены результаты исследования. В соответствии с поставленными задачами была разработана модель резекции левой доли печени крыс и резекции селезенки.

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 пропации фибриногена: КТА была увеличена на 59 %, ИКД на 66 %, на фоне 55 % сокращения времени наступления «точки желирования» ($p < 0,05$). Хронометрическая гиперкоагуляция (сокращение T_5 на 65 %, $p < 0,05$) сопровождалась, хоть и в меньшей степени, снижением плотности сгустка (МА уменьшена на 7 %, $p < 0,05$) (таблица 1, рисунок 5).

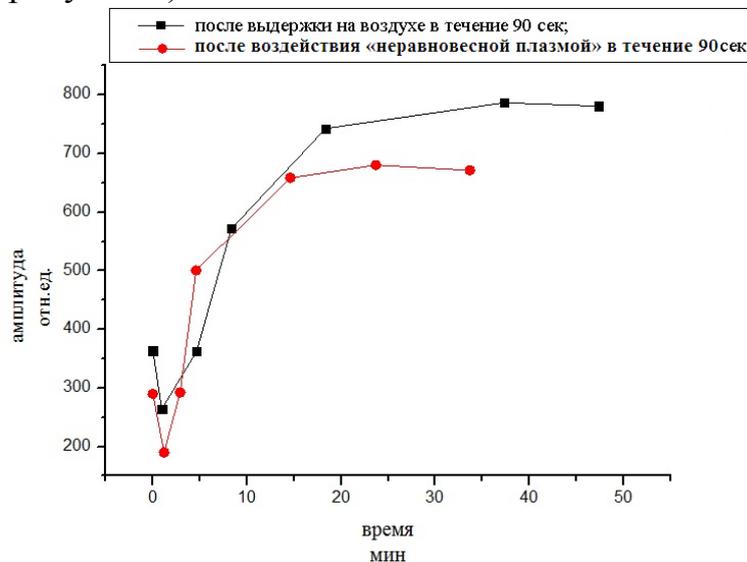


Рисунок 5 – Интегральные показатели низкочастотной пьезотромбоэластографии после выдержки на воздухе в течение 90 с и после 90 с воздействия «неравновесной плазмой».

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.

Таблица 1 – Основные показатели низкочастотной пьезотромбоэластограммы цельной крови воздействия «неравновесной плазмой», (Ме [Q_{0,25}Q_{0,75}])

Показатель	После выдержки на воздухе 90 с (n = 18)	После воздействия «неравновесной плазмой» 90 с (n = 18)
A1	264,0 [41,0; 311,0]	190,0 [53,0; 254,0]
T1	0,95 [0,91; 1,33]	1,20 [0,71; 1,43]
ИКК	40,47 [26,83; 52,22]	46,11 [43,08; 60]
A2	362,5 [141,0; 413,0]	292,5 [160,0; 357,0]
T2	4,65 [3,00; 4,91]	2,9 [2,23; 3,22]
КТА	35,12 [25,64; 45,45]*	59,65 [50; 76,92]
A3	572,0 [465,0; 640,0]	500,5 [404,0; 523,0]
T3	8,35 [7,42; 8,82] *	4,6 [3,9; 5,7]
ИКД	39,98 [34,76; 55,73]*	60,57 [57,75; 86,88]
A4	742,5 [629,0; 788,0]	658,5 [566,0; 677,0]
T4	18,35 [17,43; 18,87]*	14,60 [13,91; 15,72]
ИПС	16,15 [14,86; 17,98]	16,20 [15,43; 16,42]
A5	787,0 [693,0; 834,0]	680,5 [575,0; 726,0]
T5	37,35 [28,72; 42,94]*	23,70 [22,34; 25,67]
МА	540,0 [523,0; 652,0]*	502,5 [483,0; 522,0]
ИТС	16,85 [12,93; 18,74]	20,78 [18,83; 21,76]
A6	781,0 [696,0; 827,0]	671,5 [577,0; 705,0]
T6	47,35 [38,74; 52,93]*	33,70 [32,37; 35,66]
ИРЛС	-0,04 [-0,46; 1,34]	2,00 [0,00; 3,93]

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

Анализ повреждающего воздействия на паренхиматозные органы после их резекции с последующей остановкой кровотечения различными способами.

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

Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии экспериментальных животных в группе с резекцией печени и остановкой кровотечения швами 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-Уолиса было выявлено, что содержание общего билирубина, показатели АЧТВ, протромбинового времени и МНО не имели статистически значимых различий ($p \geq 0,05$) 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 α -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 α -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 остановкой кровотечения швами по Опелю. Тканевая реакция печени на 3-и сут после оперативного вмешательства с 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 дисконтактированы, печеночные пластинки нарушены. Гепатоциты формировали неупорядоченные структуры или располагались вообще независимо друг от друга. Среди гепатоцитов определялись клетки с признаками зернистой и гидropической (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 отмечается статистически значимое различие 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] мм³/мм³ соответственно, а остальные показатели возросли, а именно: УО д.г. – 33,54 [19,72; 47,24] и 37,68 [23,22; 48,55] мм³/мм³ соответственно, число гепатоцитов с некротическими изменениями в 1 мм² – 117,475 [88,25; 128,33] и 212,48 [175,25; 223,26] мм³/мм³ соответственно,

показатель плотности инфильтрата в 1 мм^2 достиг своего максимального значения – 4496,06 [4250,33; 6833,29] 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] $\text{мм}^3/\text{мм}^3$, а к 30-м сут достигает своего пикового значения – 32,83 [27,82; 39,91] $\text{мм}^3/\text{мм}^3$, 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] $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ и достоверным снижением в отдаленные сроки (90-е сут) до 12,00 [8,00; 16,00] $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ и 15,00 [9,00; 38,00] $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ к 180-м сут. Показатель числа гепатоцитов с некротическими изменениями с 14-х до 180-х сут с достоверным снижением до 5,00 [4,00; 6,00] в 1 мм^2 . Плотность инфильтрата достоверно снижается к 30-м сут до 502,95 [428,48; 632,34] в 1 мм^2 с повышением к 90-м и последующим снижением на 180-е сут до 1293,50 [916,48; 1350,00] в 1 мм^2 . УО д.г. – на протяжении отдаленных сроков достоверно увеличивается и составляет 72,50 [58,00; 82,00] $\text{мм}^3/\text{мм}^3$ (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 формирования тромбов.

Важно отметить, что на эти сроки эксперимента в перипортальной области печеночной дольки (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 дольки 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 с контрастным усилением печени крыс после остановки кровотечения швом по Оппелю.

При МРТ 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-ЕОВ-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 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 полости тонкой кишки.

На 180-е сут после операции при введении Gd-ЕОВ-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 полости тонкой кишки. При статистическом анализе данных МРТ 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 (таблица 2). 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 $CNR_{\text{макс}}$ и сокращение времени его наступления $t_{\text{макс}}$. При сравнении контрастного эффекта между группами на 90-е и 180-е сут было обнаружено значимое повышение CNR на всем протяжении контрастного исследования ($p = 0,005$).

Таблица 2 – Результаты CNR коэффициентов от области печени при динамическом контрастном МР-исследовании оперированных крыс после различных вариантов остановки кровотечений с внутривенным введением «Примовист», ($Me[Q_{0,25}Q_{0,75}]$)

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 сут 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 сут 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 сут 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 сут 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 сравнительном анализе максимальных значений $CNR_{\text{макс}}$ и времени наступления максимума $t_{\text{макс}}$ 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». Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии в данной экспериментальной группе имели незначительные колебания. При анализе независимых данных (больше двух групп исследования) с использованием критерия Крускала-Уолиса 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 α -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 α -амилазы крови повышалась ($p = 0,009$) до 3791 [3683; 3930] Ед/л. К 14-м сут активность α -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).

Морфологические особенности печени в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» после резекции.

В гистологических препаратах печени 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. Больше 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 железы крыс, что затрудняло идентификацию печеночной дольки. Гемодинамические изменения проявлялись в выраженном расширении синусоидных капилляров и центральных и междольковых вен. Последние нередко с морфологическими признаками стаза, сладжа и тромбоза. В паренхиме печени отмечался выраженный очаговый лимфоплазмочитарный 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 лимфоплазмочитарный.

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 дольке 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 железы, состоящую из печеночных долек, разделенных небольшими прослойками соединительной ткани. В некоторых участках гистологического препарата обнаруживалась капсула железы, 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] мм³/мм³, на 90-е сут достоверно повышается до 27,50 [25,00;34,50] мм³/мм³, а к 180-м достоверно снижен до 10,00 [8,00;14,00] мм³/мм³.

Значение УО дв.г. наоборот с постепенным достоверным повышением до 30-х сут – 23,99 [18,84;28,25] мм³/мм³, 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 мм² на 3-и сут и минимальным значением к 30-м сут 3,23 [1,46;6,22] в 1 мм², на 90-е незначительно повышается до 8,00 [4,00;20,00] в 1 мм², 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] мм³/мм³, с последующим снижением к 180-м сут до 9,50 [5,50;13,00] мм³/мм³.

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 мм² (рисунок 7, 8, 9, 10, 11).

Динамическое магнитно-резонансное исследование с контрастным усилением печени экспериментальных животных в группе с остановкой кровотока «неравновесной плазмой». При магнитно-резонансной

томографии 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 полость 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 полости 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 в группе на 180-е сут 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 2).

Показатели общего анализа крови у животных с резекцией селезенки и последующей остановкой кровотечений «неравновесной плазмой». Взятие крови для проведения ОАК осуществляли 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 ($p = 0,016$).

Биохимические показатели крови и показатели гемокоагулографии в группе с остановкой кровотечений «неравновесной плазмой» после резекции селезенки кроликов.

Исследуя биохимические показатели крови, определяли только показатели гемокоагулографии.

При статистическом анализе независимых данных с использованием критерия Крускала-Уолиса 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).

Морфологические особенности селезенки экспериментальных животных в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой».

В препарате 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 перитабулярного 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 гипертрофированны. 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 $9,42 [7,79;18,0] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$ и УО б.п. ($p = 0,001$) $41,095 [38,22;44,34] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$. Показатель УО к.п., напротив, продолжал снижаться ($p = 0,002$) - $34,12 [29,69; 44,65] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$. Показатель УО сосудов оставался выше показателей контроля - $9,81 [8,26;11,58] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$.

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 увеличена 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 $19,41 [18,22;24,23]$ мм³/мм³. 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 $18,26 [12,26;20,83]$ мм³/мм³.

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 выявлено статистически значимое различие 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 $52,42 [48,44; 57,83]$ мм³/мм³.

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 $22,95 [20,5;26,5]$ мм³/мм³ и $50,96 [47,24;56,57]$ мм³/мм³ 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 $22,9 [19,26; 28,1]$ мм³/мм³.

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 $23,3 [17,9; 26,7] \text{ мм}^3/\text{мм}^3$.

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

В четвертой главе представлено обсуждение полученных результатов.

Остановка кровотечения должна осуществляться быстро и безопасно, что имеет большое клиническое значение (Т. Carus et al., 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 Опелю 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, α -амилазы, щелочной фосфатазы, значений тимоловой пробы, прямого билирубина, мочевины и концентрации глюкозы. В группе со швами по Опелю отмечалось повышение количества фибриногена, а к 30-м сут сохранялось незначительное повышение активности α -амилазы и снижение концентрации белка ниже показателей группы контроля. При этом в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой» активность α -амилазы ниже, чем в группе с наложением швов по Опелю (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 мм^2 в обеих экспериментальных группах на 7-е, 14-е сут с последующим снижением данных показателей к 30-м сут (рисунок 7).

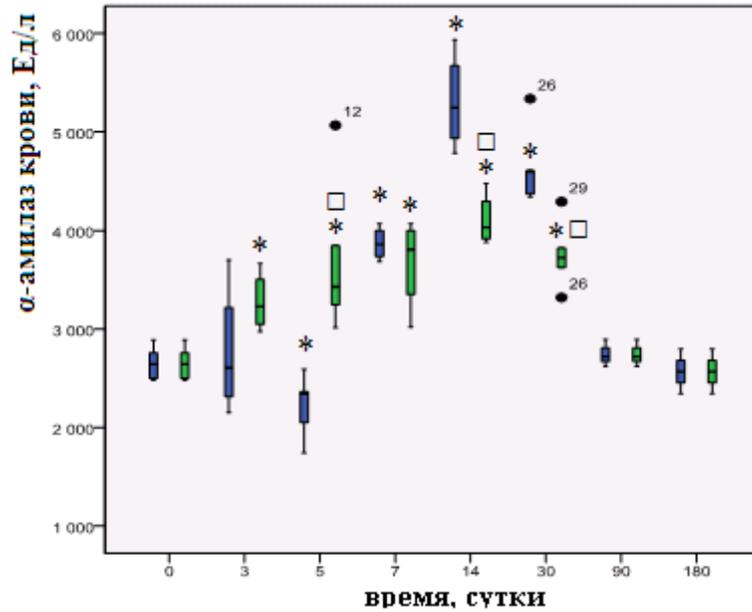


Рисунок 6 – Динамика изменений биохимического показателя α -амилазы крови при резекции печени и остановке кровотечений различными вариантами. ◻ – показатель в группе со швами по Оппелю; ◻ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой»; * - $p < 0,05$ при сравнении с группой контроля; \square - $p < 0,05$ при сравнении показателей экспериментальных групп (со швами по Оппелю и коагуляцией «неравновесной плазмой»);

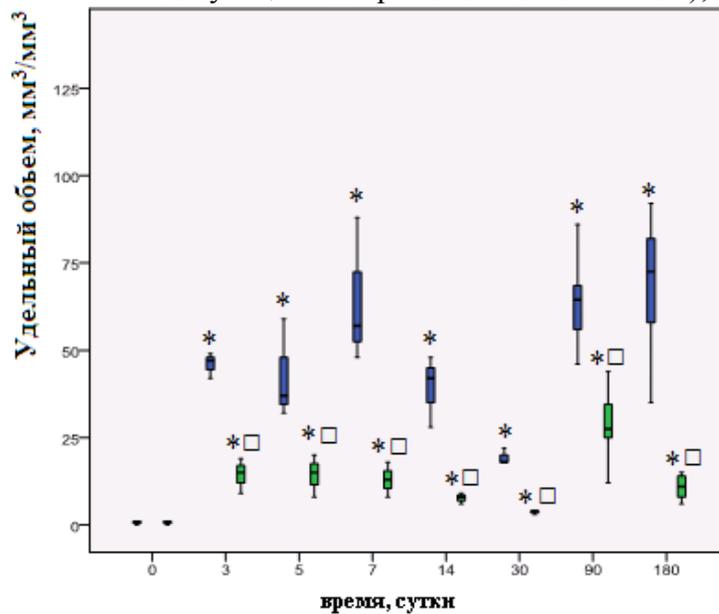


Рисунок 7 – Динамика изменений удельного объема гепатоцитов с признаками дистрофии ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$) при резекции печени и остановке кровотечений различными вариантами. ◻ – показатель в группе со швами по Оппелю; ◻ – показатель в группе с коагуляцией «неравновесной плазмой»; * - $p < 0,05$ при сравнении с группой контроля; \square - $p < 0,05$ при сравнении показателей экспериментальных групп (со швами по Оппелю и коагуляцией «неравновесной плазмой»);

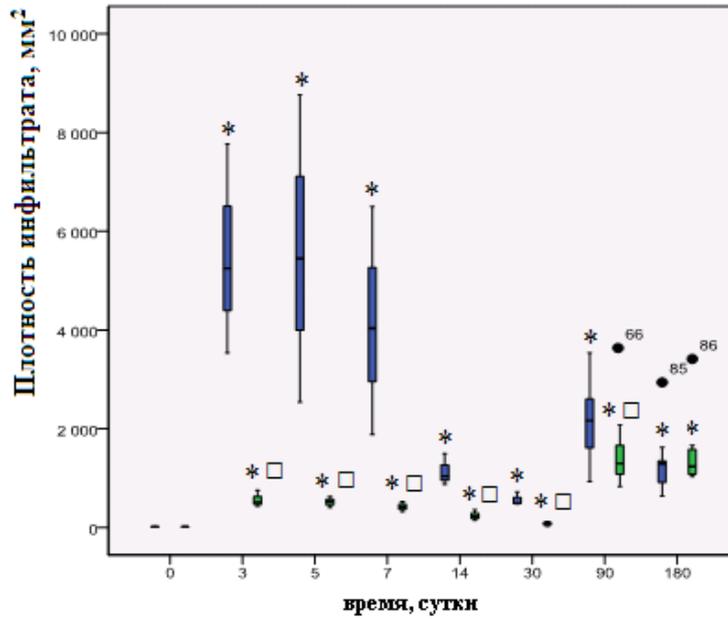


Рисунок 8 – Динамика изменений плотности инфильтрата в 1 мм² при резекции печени и остановке кровотечений различными вариантами. ▣ – показатель в группе со швами по Оппелю; ▣ – показатель в группе с коагуляции «неравновесной плазмой»; * - $p < 0,05$ при сравнении с группой контроля; □ - $p < 0,05$ при сравнении показателей экспериментальных групп (со швами по Оппелю и коагуляцией «неравновесной плазмой»);

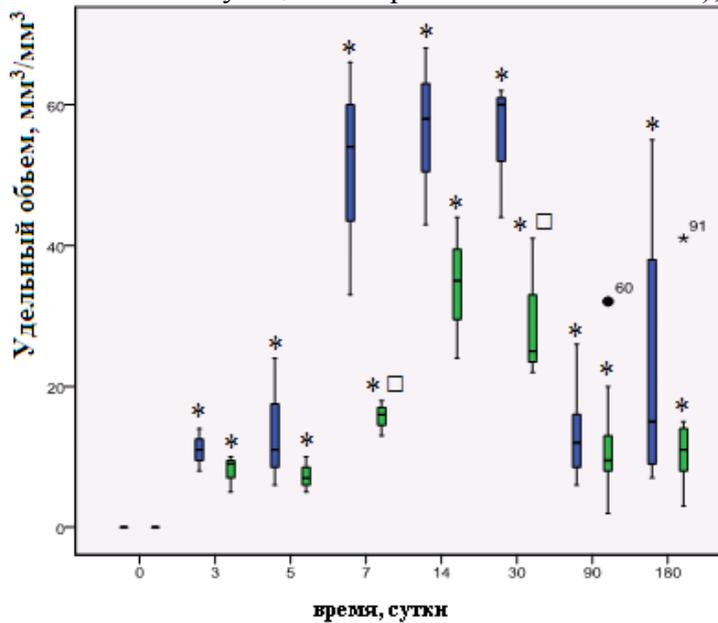


Рисунок 9 – Динамика изменений удельного объема соединительной ткани, мм³/мм³ при резекции печени и остановке кровотечений различными вариантами. ▣ – показатель в группе со швами по Оппелю; ▣ – показатель в группе с коагуляции «неравновесной плазмой»; * - $p < 0,05$ при сравнении с группой контроля; □ - $p < 0,05$ при сравнении показателей экспериментальных групп (со швами по Оппелю и коагуляцией «неравновесной плазмой»);

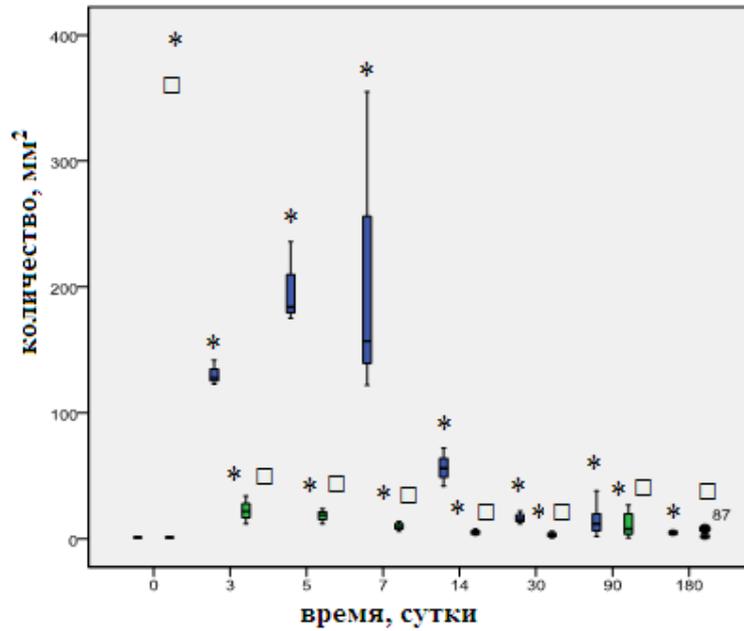


Рисунок 10 – Динамика изменений числа гепатоцитов с некротическими изменениями в 1 мм² при резекции печени и остановке кровотечений различными вариантами. ▣ – показатель в группе со швами по Оппелю; ▣ – показатель в группе с коагуляции «неравновесной плазмой»; * - p < 0,05 при сравнении с группой контроля; □ - p < 0,05 при сравнении показателей экспериментальных групп (со швами по Оппелю и коагуляцией «неравновесной плазмой»);

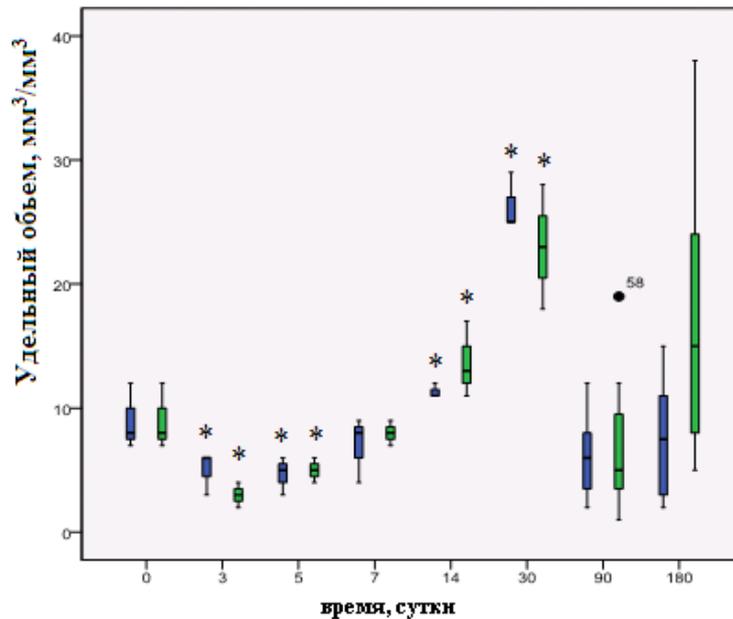


Рисунок 11 – Динамика изменений удельного объема двуядерных гепатоцитов мм³/мм³ при резекции печени и остановке кровотечений различными вариантами. ▣ – показатель в группе со швами по Оппелю; ▣ – показатель в группе с коагуляции «неравновесной плазмой»; * - p < 0,05 при сравнении с группой контроля; □ - p < 0,05 при сравнении показателей экспериментальных групп (со швами по Оппелю и 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 гемостатических швов по Оппелю или «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 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 на ранние сроки после оперативного вмешательства и постепенное снижение его активности к 30-м сут. Такой показатель, как удельный объем двуядерных 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 Опелю 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.

Множество факторов свертывания синтезируется в печени (I, II, V, VII, IX, X, XII), поэтому при повреждении печени 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 (Литвинов А.А., 2000; Бунатян А.Г., 2003). 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 кровотечения с применением «неравновесной плазмы». Полученные 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 – усиления агрегации тромбоцитов и ускорения превращения фибриногена в фибрин. Кроме того, нами установлено, что 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°C и мощное ультрафиолетовое облучение (Виноградова О.И., 2009). Дополнительно необходимо учитывать, что при остановке кровотечений данным способом не образуются ожоговые струпы с зонами некроза.

Ряд исследователей проводили работы по оценке повреждающего действия коагуляторов (Carus T. et al., 2011). Биполярный метод является наиболее эффективным для остановки кровотечений. Однако «холодную плазму» позиционируют как метод коагуляции с отсутствием ожогов и глубоких повреждений тканей (Peddinghaus M., 2006; Kalghatgi S., 2007).

Российские авторы разработали новый способ ушивания ран печени (заявка №2011114631) и клинически апробировали его, получив положительные результаты. Разработанный способ обеспечивает возможность ушивания ран разной длины и глубины, а также предупреждает прорезывание швов, обеспечивает остановку кровотечений и надежное сопоставление раневых поверхностей, сокращает время операции и улучшает процессы заживления в области шва (Чарышкин А.Л. и соавт., 2012).

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 сшивания 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 сшивания ран П-образными швами (А.Л. Чарышкин и соавт. 2012).

В нашем исследовании также выявлены значительные различия в экспериментальных группах.

В группе со швами печени по Оппелю биохимические показатели крови: активность АЛТ, АСТ и щелочной фосфотазы, 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 кровотоков «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.

Динамика изменений активности α -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 говорят, что патологический процесс, возникающий в паренхиме печени после операции, ярко выражен и имеет место 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, что говорит о наиболее высокой травматичности метода и длительном поддержании воспалительных реакций.

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

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 настоящей 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 [Zimmermann H. 1998; Gazzaniga G.M. 2005]. 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.

Нами установлено, что при резекции левой доли печени с различными видами остановки кровотечений наиболее выражены изменения морфологических маркеров ткани преимущественно в ранние сроки после оперативного вмешательства. В частности, во всех группах такие показатели как, УО гепатоцитов с признаками дистрофии ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$), число гепатоцитов с некротическими изменениями, плотность инфильтрата (в 1 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 мм^2) остаются выше показателей контроля, особенно в группе со швами по Оппелю. Следует отметить, что у животных с остановкой кровотечений «неравновесной плазмой» только на ранних сроках исследования число гепатоцитов с некротическими изменениями повышено, а к 14-м сут восстанавливается до показателей контроля. Плотность инфильтрата (в 1 мм^2) и УО гепатоцитов с признаками дистрофии ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$) в данной группе также минимально повышены и достигают показателей контроля к 30-м сут, далее незначительно увеличиваясь (рисунки 7, 8, 9, 10, 11).

УО д.г. на 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 отдаленные сроки (90-е, 180-е сут) это 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 (Чарышкин А.Л., 2012; Fridman G., 2006; Kalghatgil S., 2011). Более того, данный факт подтверждается и при динамическом контрастном МР-исследовании. На 90-е сут после оперативного вмешательства с остановкой кровотечений «неравновесной плазмой» отмечалось снижение контрастного эффекта от области печени со значимым смещением времени максимума t_{max} влево с 10 – 12 мин на 5 – 7 мин (в экспериментальной группе с прошиванием паренхимы печени t_{max} смещалось значительнее, на 3 – 5 мин). Значимых различий между достигаемыми показателями максимального контрастного эффекта CNR_{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 кровотока «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 шва паренхимы печени по Оппелю внутрисосудистый кровоток восстанавливается лишь частично.

В сериях эксперимента, где выполняли резекцию селезенки у кроликов с последующей коагуляцией «неравновесной плазмой», были выявлены незначительные изменения изученных показателей ОАК (до 30-х сут). 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].

Можно предположить, что наблюдаемые изменения связаны с «реакцией активацией», 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 антисрессовую функцию и характеризуется подъемом активности защитных и регуляторных подсистем организма, вызывая изменения со стороны малых форм лимфоцитов у экспериментальных животных (Гонохова М.Н., 2013).

Исследуя воздействие «неравновесной плазмы» при коагуляции резецированной селезенки, найдены и гистологические изменения. На 3-и сут после коагуляции отмечаются выраженные сосудистые изменения с нарушением структуры белой и красной пульпы, которые постепенно уменьшались на 7-е сут, что может быть 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, возможно, связано с «уплотнением 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. 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 12, 13, 14, 15). Полученная динамика, вероятно, обусловлена оперативным вмешательством и особенностями регенерации селезенки.

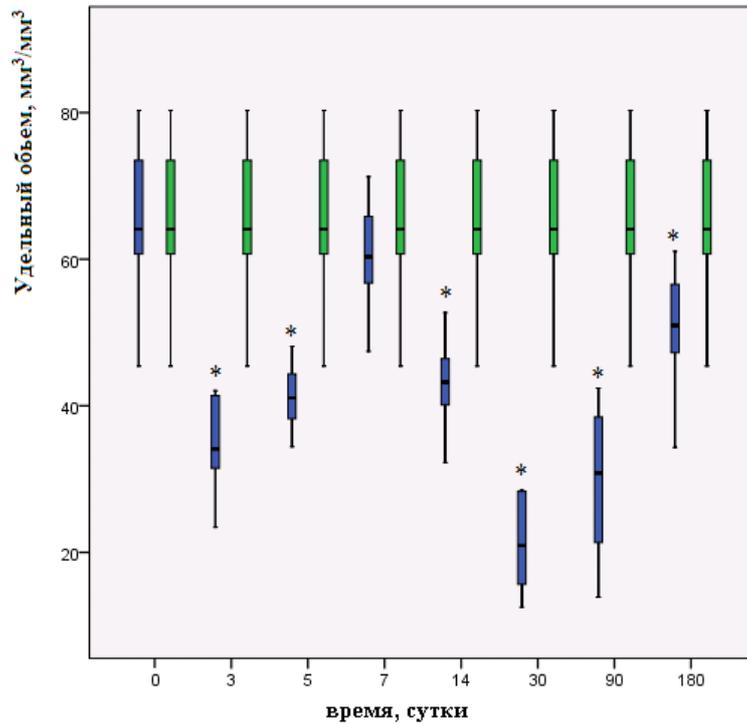


Рисунок 12 – Динамика изменений показателей удельного объема белой пульпы ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$) у животных при резекции селезенки и последующей коагуляции «неравновесной плазмой». $\color{blue}\blacklozenge$ – показатель в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой»; $\color{green}\blacklozenge$ – показатель в группе контроля; * - $p < 0,05$ при сравнении с группой контроля;

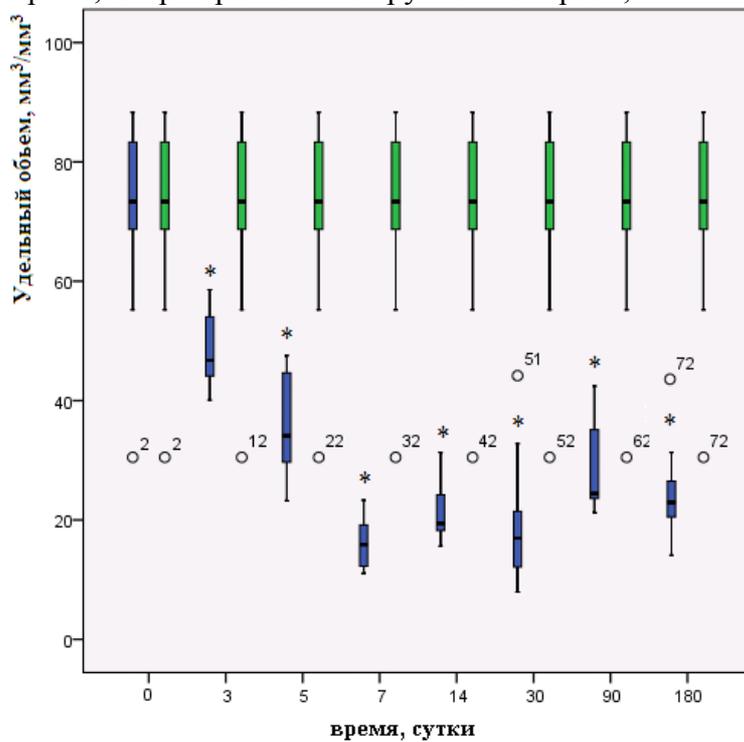


Рисунок 13 – Динамика изменений показателей удельного объема красной пульпы ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$) у животных при резекции селезенки и последующей коагуляции «неравновесной плазмой». $\color{blue}\blacklozenge$ – показатель в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой»; $\color{green}\blacklozenge$ – показатель в группе контроля; * - $p < 0,05$ при сравнении с группой контроля;

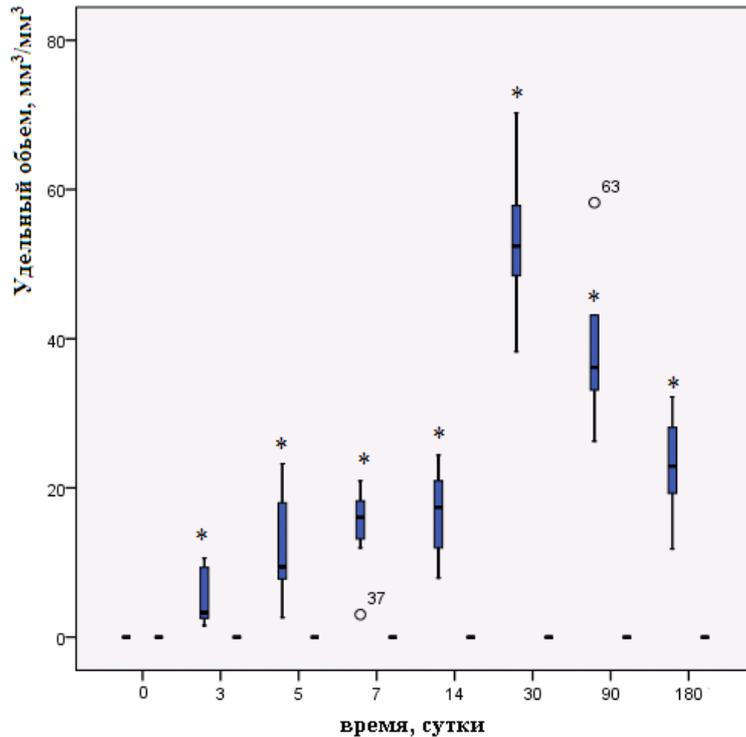


Рисунок 14 – Динамика изменений удельного объема соединительной ткани ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$) у животных при резекции селезенки и последующей коагуляции «неравновесной плазмой». ▣ – показатель в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой»; ▣ – показатель в группе контроля; * - $p < 0,05$ при сравнении с группой контроля;

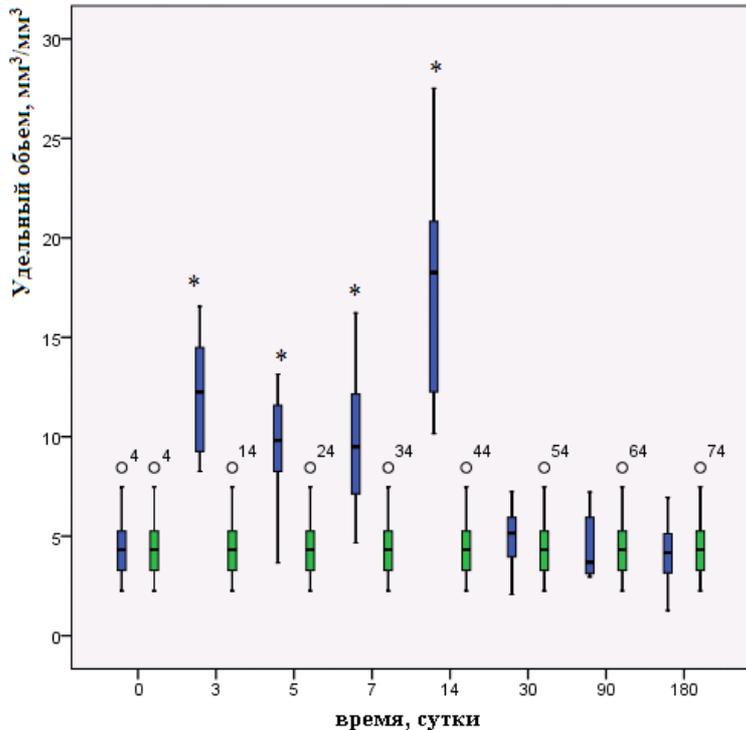


Рисунок 15 – Динамика изменений удельного объема сосудов ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$) у животных при резекции селезенки и последующей коагуляции «неравновесной плазмой». ▣ – показатель в группе с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой»; ▣ – показатель в группе контроля; * - $p < 0,05$ при сравнении 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 встретилось. Полученные нами данные свидетельствуют об активации коагуляции крови под действием «неравновесной плазмы» за счёт ускоренного превращения фибриногена в фибрин. Предоставленный тезис подтверждается рядом зарубежных исследователей (Kalghatgi S., Fridman G., 2007; Graves D. 2014), 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.

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, очевидно, происходит воздействие "неравновесной плазмы" на форменные элементы крови, в первую очередь тромбоциты, при коагуляции цельной крови.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенного эксперимента разработаны модели резекции паренхиматозных органов (печени крыс и селезенки кроликов) для эффективной оценки интраоперационных коагуляционных свойств «неравновесной плазмы». При проведении данного исследования было установлено, что остановка кровотечений «неравновесной плазмой» на разработанной модели является полноценным методом остановки кровотечений и не нарушает процессы регенерации органа после резекции, а также оказывает минимальное травматическое воздействие на паренхиму резецированного органа. При анализе данных выявлена некоторая закономерность: в паренхиматозных органах (печень и селезенка) после резекции с различными методами остановки кровотечений (швами по Оппелю и «неравновесной плазмой») в ранние сроки (до 14-30-х сут) процессы регенерации протекают по схожей схеме. У всех экспериментальных животных обнаружены выраженные изменения биохимических показателей крови, морфологических маркеров и МР-картины. Особенно значительные изменения отмечаются у животных со швами печени по Оппелю в сравнении с животными с остановкой кровотечения «неравновесной плазмой». Это позволяет сделать вывод о минимальной травматизации паренхимы железы во втором случае.

При резекции селезенки с последующей остановкой кровотечений «неравновесной плазмой» проведенные методы исследования показывают

минимальное травматическое воздействие «неравновесной плазмы» на ткань органа, без нарушения его функционирования, что делает возможным выполнение органосохраняющих операций.

При проведении операций на паренхиматозных органах необходимо учитывать, что изменения в ранние сроки связаны не только с травматическим повреждением органов самим оперативным вмешательством, но и со способом остановки кровотечения. Последний играет огромную роль в регенерации исследуемых органов.

Воздействие «неравновесной плазмы» как фактора активации гемокоагуляции *in vitro* на цельной крови показало выраженное сокращение времени формирования сгустка крови (по параметрам: пропация фибриногена и время наступления «точки желирования»), хотя его плотность чуть ниже, чем в случае спонтанной гемокоагуляции.

ВЫВОДЫ:

1. На основании экспериментальных данных разработанная модель резекции паренхиматозных органов (печени у крыс и селезенки у кроликов) 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 (пропация 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 Оппелю в сравнении с показателями группы при коагуляции «неравновесной плазмой».

6. Подтверждение полного структурно-функционального восстановления сохраняемой части селезенке 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 реституции; МР-картина микроциркуляторного русла в отдалённом периоде (на 90-е сутки после операции) соответствует норме.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. **Liver Hemostasis by Using Cold Plasma [Electronic resource] / A.N. Aleinik, A.N. Baykov, G.T. Dambaev, E.V. Semichev et al. // Surg. Innov. – 2017. – Vol. 1. – URL:<http://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/1553350617691710?journalCode=srib>. SCOPUS, Web of Science. Impact Factor 1.909.**
2. Бушланов, П.С. Особенности регенерации ткани печени после атипичной резекции и коагуляции «неравновесной плазмой» / П.С. Бушланов, Е.В. Семичев // Хирургия. Восточная Европа. – 2016. – Прил. – С. 7–8.
3. **Морфофункциональные изменения селезенки после гемостаза «неравновесной плазмой» / Е.В. Семичев, Н.М. Шевцова, А.Н. Байков и др. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2016. – № 2. – С. 141–148. ИФ РИНЦ 0,279.**
4. **«Неравновесная плазма» как фактор активации гемокоагуляции / Е.В. Семичев, О.И. Уразова, М.Н. Шписман и др. // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2016. – Т. 66, № 2. – С. 25–30. ИФ РИНЦ 0,428.**
5. Гемостаз неравновесной плазмой при оперативных вмешательствах на селезенке [Электронный ресурс] / Е.В. Семичев, А.Н. Байков, Н.М. Шевцова и др. // MedLine.ru. – 2015. – Т. 16, № 2. – Режим доступа: <http://www.medline.ru/public/art/tom16/art48.html>. ИФ РИНЦ 0,113.
6. **Морфофункциональные изменения печени крыс в ранние сроки после резекции левой доли с применением холодноплазменного коагулятора / Е.В. Семичев, А.Н. Байков, Г.Ц. Дамбаев, П.С. Бушланов // Анналы хирургической гепатологии. – 2015. – Т. 20, № 1. – С. 76–83. ИФ РИНЦ 0,666.**
7. **Отдаленные результаты применения «холодноплазменной» коагуляции в сравнении с гемостатическими швами печени / Е.В. Семичев, А.Н. Байков, П.С. Бушланов и др. // Вестник экспериментальной и клинической хирургии. – 2015. – № 2. – С. 195–205. ИФ РИНЦ 0,279.**

8. Сравнительный анализ действия коагуляции холодной плазмой и наложения гемостатических швов на структуру печени в ранние сроки после атипичной резекции / Е.В. Семичев, А.Н. Байков, П.С. Бушланов и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2015. – Т. 14, № 1. – С. 92–101. ИФ РИНЦ 0,342.
9. Сравнительный анализ методов гемостаза при операциях на селезенке / Е.В. Семичев, А.Н. Байков, П.С. Бушланов, Г.Ц. Дамбаев // Бюллетень сибирской медицины. – 2015. – Т. 14, № 2. – С. 91–99. ИФ РИНЦ 0,342.
10. Экспериментально-лучевое исследование селезенки после резекции и гемостаза «неравновесной плазмой» / О.Ю. Бородин, Е.В. Семичев, А.Н. Байков и др. // Сибирский научный медицинский журнал. – 2015. – № 3. – С. 9–15. ИФ РИНЦ 0,478.
11. Application of Cold Atmospheric Pressure Plasmas for biological tissue treatment / A.N. Aleinik, A.N. Baykov, G.T. Dambaev, E.V. Semichev // Advanced Materials Research. – 2015. – Vol. 1084. – P. 602–605. SCOPUS.
12. Особенности печени после гемостаза классическим швом на ранние сроки (экспериментальная работа) / Е.В. Семичев, П.С. Бушланов, Е.А. Геренг, Е.С. Кошечев // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2014. – № 7. – С. 32–36. РИНЦ 0,243.
13. Регенеративные особенности ткани печени после остановки кровотечения неравновесной плазмой на 90-е и 180-е сутки (экспериментальное исследование) / Е.В. Семичев, А.Н. Байков, Г.Ц. Дамбаев и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2014. – № 6. – С. 180–184. ИФ РИНЦ 0,342.
14. Особенности регенеративных процессов паренхиматозных органов под воздействием неравновесной плазмы / Е.В. Семичев, Г.Ц. Дамбаев, А.Н. Байков и др. // XXII съезд Физиологического общества им. И.П. Павлова: тезисы докладов. – Волгоград, 2013. – С. 474.
15. Холодная плазма в биологических приложениях / Н.Д. Тургунова, О.И. Денeko, Е.В. Семичев, П.С. Бушланов // Известия вузов. Физика. – 2013. – Т. 56, № 4–2. – С. 302–304. ИФ РИНЦ 0,671.
16. Анализ контрастирующего эффекта при динамической магнитнорезонансной томографии с примовистом у крыс, оперированных на печени с применением классического шва / О.Ю. Бородин, Е.В. Семичев, Г.Ц. Дамбаев и др. // Медицинская визуализация. – 2012. – № 4. – С. 118–125. ИФ РИНЦ 0,211.
17. Анализ контрастирующего эффекта при динамической магнитнорезонансной томографии с примовистом у крыс, оперированных на печени с гемостазом классическим печеночным швом [Электронный ресурс] / О.Ю. Бородин, Е.В. Семичев, Г.Ц. Дамбаев и др. // Российский электронный журнал лучевой диагностики. – 2012. – Т. 2, № 2, Прил. – Режим доступа: <http://www.rejr.ru/archiv.html>. ИФ РИНЦ 0,238.
18. Анализ контрастных свойств при динамической магнитнорезонансной томографии с липофильным парамагнитным соединением

GDOF-MN-DTPA у крыс, оперированных на печени с гемостазом классическим печеночным швом [Электронный ресурс] / О.Ю. Бородин, Е.В. Семичев, Г.Ц. Дамбаев и др. // Российский электронный журнал лучевой диагностики. – 2012. – Т. 2, № 2, Прил. – Режим доступа: <http://www.rejr.ru/archiv.html>. ИФ РИНЦ 0,238.

19. Воздействие неравновесной плазмы барьерного разряда при атмосферном давлении на живые ткани / Н.А. Жуманантаева, Н.Д. Тургунова, О.И. Дененко, Е.В. Семичев // Перспективы развития фундаментальных наук : сборник научных трудов IX международной конференции студентов и молодых ученых. – Томск, 2012. – С. 107–109.

20. Магнитно-резонансная томография с GD-EOB-DTPA в оценке динамики морфофункциональных изменений печени в отдалённые сроки после оперативного вмешательства с гемостазом холодной плазмой у крыс [Электронный ресурс] / О.Ю. Бородин, Е.В. Семичев, Г.Ц. Дамбаев и др. // Российский электронный журнал лучевой диагностики. – 2012. – Т. 2, № 2, Прил. – Режим доступа: <http://www.rejr.ru/archiv.html>. ИФ РИНЦ 0,238.

21. Морфофункциональная характеристика печени после гемостаза неравновесной плазмой на отдаленные сроки в условиях эксперимента / О.Ю. Бородин, Е.В. Семичев, Г.Ц. Дамбаев и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2012. – № 6. – С. 21–30. ИФ РИНЦ 0,342.

22. Особенности взаимодействия неравновесной плазмы с живыми тканями / А.Н. Алейник, А.Н. Байков, Г.Ц. Дамбаев, О.И. Денеко, О.С. Жданова, Е.П. Красноженов, Е.В. Семичев // Вестник науки Сибири. – 2012. – № 3–4. – С. 44–48. ИФ РИНЦ 0,167.

23. Функциональные особенности паренхиматозных органов после гемостаза неравновесной плазмой / Е.В. Семичев, А.Н. Байков, Г.Ц. Дамбаев и др. // VII Сибирский съезд физиологов : материалы съезда / под ред. Л.И. Афтанаса, В.А. Труфакина, В.Т. Манчука. – Красноярск, 2012. – С. 478–479.

24. Preclinical evaluation of diffuse changes in operated liver with a cold plasma hemostasis, in rat: morphofunctional study, MRI with Gd-EOB-DTPA / O.Y. Borodin, E. Semichev, M. Belyanin et al. // MAGMA. – 2012. – Vol. 25, Suppl. 1.– Abst. 46033.

25. Application of non-equilibrium atmospheric pressure plasma for coagulation and sterilization [Electronic resource] / A.N. Aleynik, A.N. Baykov, M.B. Baskakov, G.Ts. Dambaev, O.I. Deneko, E.V. Semichev et al. // 7th International Forum on Strategic Technology / National Research Tomsk Polytechnic University. – Tomsk, 2012. – URL: <http://ieeexplore.ieee.org/document/6357808>.

26. Взаимодействие неравновесной плазмы с биологическими объектами / А.Н. Алейник, А.Н. Байков, М.Б. Баскаков, П.С. Бушланов, Е.А. Геренг, Г.Ц. Дамбаев, О.И. Делеко, Е.В. Семичев // Известия ВУЗов. Физика. – 2011. – Т. 54, № 11–2. – С. 356–359. ИФ РИНЦ 0,671.

27. Интраоперационные способы гемостаза при операциях на печени / Г.Ц. Дамбаев, А.Н. Байков, Е.В. Семичев и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т. 10, № 4. – С. 89–92. ИФ РИНЦ 0,342.

28. 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. – Т. 5, № 2, Прил. – С. 72–73. ИФ РИНЦ 0,064.

29. Исследование разработанного источника неравновесной плазмы с целью внедрения его в медицину / О.И. Дененко, А.Н. Алейник, Е.П. Красноженов, О.С. Жданова, Е.В. Семичев // Известия ВУЗов. Физика. – 2010. – Т. 53, № 11. – С. 157–160. ИФ РИНЦ 0,671.

Патенты:

30. Способ остановки интраоперационного капиллярного и паренхиматозного кровотечения : пат. 2434656 Рос. Федерация МПК51 А 61 N 1/44, А 61 В 18/18 / 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.

Ноу-хау:

31. Семичев, Е.В. Метод получения неравновесной плазмы аппарата «Плазменный коагулятор» и ее применение в медицине : ноу-хау / Е.В. Семичев, А.Н. Байков. – 2011. – Приказ СибГМУ № 215 от 14.07.2011 г.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ СОКРАЩЕНИЙ

A_1 – показатель, характеризующий максимальное изменение агрегатного состояния исследуемой крови на этапе контактной активации (отн. ед.).

A_3 – показатель, характеризующий агрегатное состояние крови на этапе начала процесса полимеризации. На ПКГ « A_3 » определяется изменением наклона угла кривой на ($\geq 50^\circ$) (отн. ед.).

A_4 – показатель, характеризующий агрегатное состояние крови через 10 минут после достижения величины « A_3 » (отн. ед.).

A_5 – показатель, отражающий агрегатное состояние крови в заключительном, стабилизационном этапе тромбообразования (отн. ед.).

T_1 – показатель, отражающий время достижения A_1 (мин).

T_3 – (ВСК) – время достижения « A_3 » (мин).

АЛТ – аланинаминотрансфераза

АСТ – аспартатаминотрансфераза

АЧТВ – активированное частичное тромбопластиновое время

ГГТП – гамма глутамилтранспептидаза

ИКД – $(A_3 - A_0) / \text{ВСК}$ – интенсивность коагуляционного драйва – показатель, характеризующий интегративное влияние про- и антикоагулянтных систем на скорость образования сгустка.

ИКК – интенсивность контактной фазы коагуляции, вычисляется эмпирически, отношением $A_0 - A_1 / t_1$.

ИПС – интенсивность полимеризации сгустка, определяется как $\text{tg} \beta = (A_4 - A_3) / (t_4 = 10 \text{ мин})$ – показатель, характеризующий скорость соединения мономерных молекул «бок-в-бок», «конец-в-конец», формирующую сеть фибрина.

ИРЛС – интенсивность ретракции и лизиса сгустка.

ИТС – интенсивность тотального свертывания крови, отражает плотность фибрин-тромбоцитарной структуры сгустка. Определяется эмпирически $(A_5 - A_1)/(T_5 - T_1)$.

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 – максимальной плотности 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.

УО с.т. – Удельный объем УО соединительной ткани.

УФ излучение – ультрафиолетовое.

ХПК – «холодноплазменный» коагулятор.

ЩФ – щелочная фосфатаза.

АРС – Argon Plasma Coagulation (Аргоно-плазменная коагуляция).

CNR – коэффициент контраст – шум (Contrast to Noise Ratio).

Gd-ЕОВ-ДТРА – химическая формула препарата «Примовист».

Hb – гемоглобин.

LQ – нижний квартиль.

Me – медиана.

UQ – верхний квартиль.