

На правах рукописи

БУШЛАНОВ
Павел Сергеевич

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ «НЕРАВНОВЕСНОЙ ПЛАЗМЫ» НА ТКАНЬ
ПЕЧЕНИ В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ГНОЙНОГО ВОСПАЛЕНИЯ
(ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)**

14.01.17 – Хирургия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Томск – 2018

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

Научный руководитель:

доктор медицинских наук,
профессор

**Мерзликин Николай
Васильевич**

Официальные оппоненты:

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 общей хирургии с курсом лучевой диагностики института дополнительного профессионального образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Нартайлаков
Мажит Ахметович**

Ведущая организация:

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Омский государственный медицинский университет» 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. Абсцесс печени (АП) – это ограниченное скопление гноя с очагом литического расплавления ткани в центре на фоне деструкции участка печеночной паренхимы, возникающее в результате проникновения в орган микробной флоры или паразитов. Ежегодно среди больных с хирургической патологией гепатобилиарной зоны госпитализируется от 0,5% до 2–3 % пациентов с абсцессами печени. По данным большинства исследователей, летальность при микробных абсцессах высока и составляет от 20 до 30%.

В настоящее время существуют консервативные и оперативные методы лечения гнойников печени, каждый из этих методов имеет свои показания и противопоказания. При абсцессах печени размерами >120 мм, наличии секвестров, а также при хронических абсцессах с толстой ригидной капсулой, особенно если они являются осложнением других очаговых заболеваний печени (альвеококкоз, эхинококкоз печени, доброкачественные и злокачественные опухоли печени), показано хирургическое вмешательство. При данных заболеваниях методом выбора будет радикальная резекция печени, дабы исключить вероятность развития рецидива заболевания. Однако это не всегда удаётся осуществить. В случае распространения патологического процесса на важные анатомические структуры печени (элементы ворот, нижнюю полую вену и т.д.) необходимо выполнить как можно большее удаление патологического очага, а на оставшуюся нерезектабельную часть воздействовать интраоперационно с целью разрушения. С этой целью в гепатологическом центре г.Томска применяется метод криодеструкции. Огромный вклад в развитие криохирургии паренхиматозных органов, а именно печени, внес профессор Б.И. Альперович с его учениками и коллегами. Одной из актуальнейших разработок коллектива явился криоультразвуковой и криовиброскальпель. Б.И. Альперович (2006) применял указанную аппаратуру в течение последних тридцати лет и осуществил с ее помощью более 500 операций на печени при различных видах патологии. В Гепатологическом центре ОГАУЗ ГКБ №3 имени Б.И. Альперовича г. Томска используется методика, при которой жидкий азот подводится к стенке абсцесса для её последующей криодеструкции с помощью специальных криозондов. Глубина «промораживания» тканей зависит от мощности аппаратуры и экспозиции. Это позволяет индивидуально подходить к объёму каждого оперативного вмешательства и уменьшить повреждение окружающей печёночной паренхимы.

В настоящее время вопрос лечения абсцессов печени по-прежнему остаётся открытым, поэтому продолжается поиск и разработка новых методик лечения. Одним из таких инновационных методов может стать коагуляция «неравновесной плазмой».

Степень разработанности темы исследования. Термин «плазма» был введен И. Лэнгмюром для использования в медицине (Compton К.Т., 1930). В физике этот термин относится к четвертому состоянию вещества, которое

представляет собой смесь из электронов, ионов и нейтральных частиц. В «неравновесной плазме» («холодной плазме») ионы и нейтральные частицы имеют очень малую энергию, поэтому температура такой «плазмы» небольшая (температура 45-60 °С). Положительный лечебный эффект «холодной плазмы» связывают с наличием в ней активных химических реагентов, таких как O₃, NO, HO, H₂O₂, атомарный кислород и другие. Окись азота выполняет в организме множество биологических функций. Она вызывает релаксацию сосудистой стенки, участвует в коагуляционном каскаде, выполняет важные функции в иммунной системе, обладает антимикробными и противоопухолевыми свойствами. Кроме того, активные частицы, входящие в состав «плазмы», характеризуются выраженным бактерицидным действием за счёт активации перекисного окисления липидов. Значительный эффект был достигнут при обработке эмпиемы плевры, при наличии туберкулезного бронхита и плеврита. Положительная динамика наблюдалась при лечении инфицированных, долго не заживающих ран, после секвестрэктомии, при остеомиелите и т.д. В ряде работ исследовано влияние «холодной плазмы» на клетки опухолевых культур *in vitro* и доказано развитие апоптоза. В отдельных работах экспериментально подтверждено влияние барьерного разряда на коагуляцию крови. В настоящее время на кафедре прикладной физики Физико-технического института Томского политехнического университета (г. Томск) разработан аппарат «Источник холодной плазмы-1» (ИХП-1), который генерирует на конце коагулирующего электрода низкотемпературную (45-50 °С) «неравновесную плазму». Его основные эффекты достигаются за счет воздействия на зону обработки озоном, HO, H₂O₂ и другими возникающими в результате барьерного разряда активными химическими реагентами. Одним из главных положительных эффектов «холодной плазмы» является отсутствие ожогового струпа после воздействия без повреждения окружающих тканей, что снижает количество послеоперационных осложнений и не нарушает процессы регенерации тканей. Поэтому «неравновесную плазму» можно использовать при лечении абсцессов печени с целью обработки внутренней стенки гнойника при оперативных вмешательствах. Настоящая работа посвящена изучению влияния «неравновесной плазмы» и криодеструкции на ткань печени в условиях развития гнойного воспаления (абсцесса печени).

Цель исследования: изучить в эксперименте воздействие физико-химических факторов («неравновесная плазма») и физических факторов (низкие температуры) на процессы репарации ткани печени с целью разработки и внедрения нового оперативного метода лечения.

Задачи:

1. Провести сравнительный анализ влияния неравновесной плазмы и низких температур на жизнеспособность клеток здоровой печени;
2. Разработать новую технологию обработки гнойных ран на примере абсцесса печени;
3. Исследовать бактерицидное действие «холодной плазмы»;

4. Провести сравнительный анализ влияния неравновесной плазмы и низких температур на регенераторные процессы печёночной паренхимы при гнойном воспалении.

Научная новизна. Доказано, что воздействие «неравновесной плазмы» на здоровую ткань печени крыс приводит к значительно меньшему повреждению паренхимы органа по сравнению с криодеструкцией. Криодеструкция и воздействие «неравновесной плазмой» на внутреннюю стенку хронического абсцесса печени крыс вызывают гибель пиогенных бактерий. Разработанный способ хирургического лечения хронических абсцессов печени крыс с применением «неравновесной плазмы» приводит к излечиванию гнойников. Криодеструкция и обработка «неравновесной плазмой» оказывают локальное воздействие на ткань печени, не нарушают работу органа и ведут к постепенной регенерации паренхимы.

Теоретическая и практическая значимость. Результаты научного исследования позволят выработать рекомендации по клиническому использованию перспективных методов обработки абсцессов печени. Полученные данные можно будет экстраполировать на гнойно-воспалительные процессы в целом, что будет стимулировать дальнейшую разработку новых методов лечения гнойных ран с помощью «неравновесной плазмы». Кроме того, результаты исследования действия неравновесной плазмы на бактериальные патогены существенно расширят общие знания о влиянии плазмы на живые организмы, что будет способствовать поиску новых областей, в которых возможно применение «неравновесной (холодной) плазмы».

Методология и методы исследования. Эксперименты выполнены на животных – крысах-самцах массой тела 200 – 220 г. 3 группы исследования:

1. Группа плацебо. Воздействие на печень не производилось.
2. Контроль. Воздействие на печень низкими температурами – с помощью специального криозонда из никелида титана к участку поверхности печени подводился жидкий азот (температура $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$), воздействие осуществлялось в течение 1 мин.
3. Экспериментальная группа. Воздействие на печень «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1» в течение 1 мин.

Технологии контроля: плацебо-контроль – оперативное вмешательство без какого-либо воздействия на печень; активный контроль – оперативное вмешательство и воздействие на паренхиму печени низкими температурами.

Выведение животных из эксперимента в каждой группе осуществлялось на 1, 5, 15 и 30 сутки при помощи CO_2 -асфиксии в специализированной камере.

Выполнялись следующие методы исследования:

- изучение влияния способа обработки на жизнеспособность бактериальной микрофлоры (посев из полости абсцесса после воздействия на его стенку).
- гистологическое исследование - для приготовления гистологических препаратов использовали ткани из области воздействия тем или иным

методом. Обзорную микроскопию и морфометрию осуществляли на микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Для анализа выраженности фиброза использовали окраску пикрофуксином по Ван-Гизону.

- биохимический анализ плазмы крови на наличие маркёров функционального состояния печени (глюкоза, общий белок, билирубин общий, билирубин прямой, АСТ, АЛТ, ГГТ, α -амилаза, мочевины, креатинин, щелочная фосфатаза)
- статистический анализ полученных данных. Данные представляли в виде медианы (Me) и интерквартильных разбросов – ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). В связи с тем, что небольшой объем выборки не позволил отнести данное распределение к нормальному закону, статистический анализ осуществляли с использованием непараметрических критериев: для попарно несвязанных выборок применяли метод Манна – Уитни. Сравнение показателей в трех несвязанных группах проводили дисперсионным анализом ANOVA Крускала – Уоллиса. Критическим уровнем значимости считали значение $p < 0,05$.

Положения, выносимые на защиту:

1. Предлагаемый способ хирургического лечения абсцессов печени с использованием «неравновесной плазмы» позволяет добиться полноценного излечения хронического абсцесса при отсутствии термических повреждений окружающих тканей (паренхимы органа).
2. Воздействие «неравновесной плазмой» на внутреннюю стенку хронического абсцесса печени приводит к гибели пиогенных бактерий.
3. Обработка «неравновесной плазмой» оказывает локальное воздействие на ткань печени, ведёт к постепенной регенерации органа в области патологического очага вплоть до 30 суток и не нарушает работу органа.
4. Использование «неравновесной плазмы» при обработке внутренней стенки хронического абсцесса печени приводит к меньшему повреждению паренхимы органа, чем криодеструкция.

Степень достоверности и апробация результатов. Результаты диссертационной работы имеют высокую степень достоверности, что обеспечивается большим объемом проанализированных образцов (85 прооперированных животных), использованием современных методов исследования и статистической обработкой полученных данных.

Материалы диссертации были доложены на XXIII Международном Конгрессе Ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ «Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии» (Минск, 2016); на Межрегиональной научно-практической конференции, посвящённой 50-летию образования Кузбасского Областного гепатологического центра «Актуальные вопросы панкреатологии, гепатологии и билиарной хирургии» (Кемерово, 2017); на XXIII съезде Физиологического общества им. И. П. Павлова (Воронеж, 2017); на Международной научно-практической конференции «Молекулы и системы для диагностики и адресной терапии» (Томск, 2017).

Личный вклад автора. Автором диссертации проведён анализ научной литературы по теме работы, разработан план эксперимента, выполнены все оперативные вмешательства на животных, выведение животных из эксперимента и забор биологического материала для проведения лабораторных методов исследования, анализ и синтез полученных результатов исследований, а также написание текста диссертации и всех научных статей по теме научной работы.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 научных работ, из них 8 статей в ведущих научных рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК для публикации результатов диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук, в том числе в 1 журнале, входящем в список Scopus, и 4 тезисов в сборниках научно-практических конференций, в том числе 1 стендовый доклад.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 125 страницах машинописного текста и состоит из введения, 5 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка использованной литературы, включающего 134 источника, из которых 95 отечественных и 39 зарубежных авторов. Диссертация содержит 3 таблицы и 73 рисунка.

Внедрение результатов исследования в практику. Результаты настоящей работы использованы при проведении педагогического процесса на кафедре хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии СибГМУ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Проведение данного исследования одобрено локальным этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета г.Томска (регистрационный № 4317 от 02 ноября 2015 г.). Эксперименты выполнены на животных – крысах-самцах массой тела 200 – 220 г.

На первом этапе изучено влияние «неравновесной плазмы» и низких температур на жизнеспособность клеток печени. Эксперимент выполнен *in vivo*: объектами исследования являлись 15 экспериментальных животных, выделено 3 группы исследования по 5 животных в каждой группе. Модель исследования – исследование в параллельных группах.

Оперативный приём в каждой группе заключался в следующем: экспериментальное животное вводят в наркоз, анестезию проводили ингаляционным путём аппаратом E-Z Anesthesia, наркозный препарат – Форан. Далее осуществляли доступ к печени путём верхнесрединной лапаротомии с последующим выведением доли печени в рану. Затем производили соответствующую обработку поверхности печени в зависимости от экспериментальной группы:

1. Группа плацебо (n=5). Воздействие на печень не производилось.
2. Контроль (n=5). Воздействие на поверхность печени низкими температурами – с помощью специального криозонда к участку поверхности печени подводился жидкий азот (температура -196 °C), воздействие осуществлялось в течение 1 мин.

3. Экспериментальная группа (n=5). Воздействие на поверхность печени «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1» в течение 1 мин.

После воздействия на печень осуществляли выведение животных из эксперимента при помощи CO₂-асфиксии в специализированной камере. Животное помещалось в герметизированную камеру, наполненную углекислым газом (CO₂), до полной остановки дыхательной и сердечной деятельности и развития биологической смерти.

На первом этапе в эксперименте *in vivo* выполнялось гистологическое исследование. Биоптаты (фрагменты паренхимы печени из области воздействия «неравновесной плазмой» или низкими температурами) использовали для приготовления гистологических препаратов. Обзорную микроскопию и морфометрию осуществляли на микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Для анализа выраженности фиброза использовали окраску пикрофуксином по Ван-Гизону (Лилли Р., Меркулов Г.А. 1969). При обзорной световой микроскопии оценивали воспалительные, регенераторные, дисрегенераторные (пролиферация, гиперплазия), фиброзные процессы.

Второй этап включал в себя отработку модели получения абсцесса печени на животных согласно патенту на изобретение №2318248. Объектами исследования являлись 10 экспериментальных животных. Модель исследования – исследование в одной группе. Абсцесс печени моделировали следующим образом: Экспериментальное животное вводили в наркоз. Анестезию проводили ингаляционным путём аппаратом E-Z Anesthesia, наркозный препарат – Форан. Затем осуществляли верхнесрединную лапаротомию. В толщу печени через периферический внутривенный катетер 18G вводили 2 мл 70% раствора этилового спирта. Далее лапаротомную рану ушивали с фиксацией катетера к коже. Через сутки выполняли повторное введение животного в наркоз, открытие ушитой лапаротомной раны, под визуальным контролем в установленный в паренхиме печени катетер вводили взвесь стафилококков (штамм *S. aureus* ATCC 6538-P, Штамм был получен из коллекции ГИСК им. Л.А.Тарасевича (г. Москва)) в концентрации $2,0 \times 10^6$ КОЕ в 1,0 мл, после катетер извлекали, лапаротомную рану ушивали наглухо. Наличие некробиотических изменений печени, возникающих после введения спирта в паренхиму, создает благоприятные условия для инфицирования и в последующем формирования абсцесса печени.

Третьим этапом непосредственно исследовалось влияние «неравновесной плазмы» на ткань печени в условиях гнойного воспаления. Объекты исследования – 60 экспериментальных животных с заранее смоделированным абсцессом печени, разделённых на 3 группы (по 20 животных в каждой). Модель исследования – исследование в параллельных группах. Оперативный приём в каждой группе заключался в следующем: анестезию проводили ингаляционным путём аппаратом E-Z Anesthesia, препарат – Форан. Доступ к абсцессу печени осуществляли верхнесрединной лапаротомией с последующим выведением доли печени с абсцессом в рану. Далее производили вскрытие абсцесса печени с эвакуацией гнойного

содержимого и соответствующую обработку стенки абсцесса в зависимости от экспериментальной группы. После обработки стенки абсцесса осуществляли контроль на гемостаз, инородные тела, погружали печень в брюшную полость, рану послойно ушивали нитью Vicryl 5/0 на атравматической игле, затем накладывали асептическую повязку.

В каждой экспериментальной группе выполняли соответствующее воздействие на стенку абсцесса:

1. Группа плацебо (n=20). Промывание полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl.
2. Контроль (n=20). Промывание полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl, воздействие на стенку абсцесса низкими температурами – с помощью специального криозонда к стенке абсцесса подводили жидкий азот (температура -196 °С), воздействие осуществлялось в течение 1 мин.
3. Экспериментальная группа (n=20). Промывание полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl, обработка стенки абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1» в течение 1 мин.

Выведение животных из эксперимента в каждой группе осуществлялось на 1, 5, 15 и 30 сутки при помощи CO₂-асфиксии в специализированной камере.

На третьем этапе в эксперименте *in vivo* выполнялись следующие методы исследования:

- исследование влияния способа обработки абсцесса печени на жизнеспособность бактериальной микрофлоры (посев из полости абсцесса после воздействия на его стенку).

Стерильным ватным тампоном проводили 4 – 5 раз по внутренней поверхности вскрытого абсцесса. Затем тампон погружали в пробирку с 1% сахарным бульоном. Посев на селективные среды производили в течение 1 часа;

- гистологическое исследование.

Для приготовления гистологических препаратов использовали фрагменты стенки абсцесса и окружающей паренхимы печени. Изготовление и анализ полученных гистологических препаратов осуществляли аналогично описанному выше гистологическому исследованию первого этапа настоящей работы. Далее цифровые фотографии подвергали морфометрическому исследованию с использованием компьютерной программы ImageJ 1.43. За единицу измерения принимали 1 мм² ткани печени. С помощью метода точечного счета Автандилова с использованием Plugins «Grid» в биоптатах подсчитывали удельные объемы следующих структур: удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии (мм³/мм³), удельный объем двуядерных гепатоцитов (мм³/мм³), удельный объем соединительной ткани (мм³/мм³), удельный объем сосудов (мм³/мм³) (Автандилов Г.Г. 2002; Автандилов Г.Г. 2006; Гуцол А.А. 2006). При помощи Plugins «Cell» программы ImageJ на 1 мм² паренхимы печени подсчитывали плотность воспалительного инфильтрата и число гепатоцитов с некротическими и апоптотическими

изменениями (Автандилов Г.Г. 2002; Автандилов Г.Г. 2006; Гуцол А.А. 2006).

- биохимический анализ плазмы крови на наличие маркёров функционального состояния печени (глюкоза, общий белок, билирубин общий, билирубин прямой, АСТ, АЛТ, ГГТ, α -амилаза, мочевины, креатинин, щелочная фосфатаза).

Забор крови у экспериментальных животных осуществляли после CO_2 -асфиксии и забора стерильным шприцом 5 мл крови из сердца. Анализ указанных выше биохимических показателей выполняли по стандартной методике на биохимических анализаторах (полуавтоматический анализатор Photometer 5010 v5+ (Riele, Germany)) секции иммунологии ЦНИЛ СибГМУ.

- статистический анализ полученных данных.

Данные представляли в виде медианы (Me) и интерквартильных разбросов – ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). В связи с тем, что небольшой объем выборки не позволил отнести данное распределение к нормальному закону, статистический анализ осуществляли с использованием непараметрических критериев: для попарно несвязанных выборок применяли метод Манна – Уитни. Сравнение показателей в трех несвязанных группах проводили дисперсионным анализом ANOVA Крускала – Уоллиса. Критическим уровнем значимости считали значение $p < 0,05$.

Оценка влияния «неравновесной плазмы» и криодеструкции на жизнеспособность клеток печени (I этап экспериментального исследования)

Фрагменты для аутопсии печени всех групп исследования были взяты после CO_2 -асфиксии крыс в специализированной камере из области воздействия «неравновесной плазмой» или низкими температурами.

Группа плацебо. В препаратах печени морфология соответствует норме: глиссонова капсула тонкая, покрыта мезотелием, при окрашивании по Ван-Гизону видны коллагеновые волокна, образующие тонкую прослойку плотной неоформленной соединительной ткани, строение печеночных долек не нарушено, некоторые синусоиды несколько расширены, встречаются единичные лимфоциты, что, вероятнее всего, является реакцией на наркозный препарат.

Контрольная группа. Воздействие жидким азотом на поверхность печени визуально сопровождалось значительным повреждением: нарушением фиброзной капсулы и формированием зоны некроза. На микроскопическом уровне в зоне воздействия жидким азотом отмечаются отсутствие фиброзной оболочки, скудный клеточный детрит (вероятнее всего, значительная его часть потеряна во время приготовления препарата), слой сильно поврежденных гепатоцитов и далее зона реактивных изменений. Слой сильно поврежденных клеток толщиной 800-1000 мкм характеризуется нарушением тинкториальных свойств, отсутствием ядер у части клеток. Слой сильноповрежденных клеток от морфологически менее поврежденных отграничен явно выраженной линией разделения, в процессе развития патологических изменений на основе её будет формироваться

демаркационная линия. Непосредственно за данной линией разделения располагаются относительно сохраненные гепатоциты в составе целостных печеночных пластин и печеночных долек. Также, как и в группе контроля, некоторые синусоиды расширены, в непосредственной близости к зоне разделения отмечается полнокровие печеночных синусоидов.

Экспериментальная группа. После воздействия неравновесной плазмой визуально отмечаются сохранность глиссоновой капсулы и отсутствие существенного повреждения ткани печени. На микроскопическом уровне толщина фиброзной капсулы несколько увеличена (вероятнее за счет набухания коллагена), ядра мезотелия увеличены в размерах, окрашены бледно, местами практически не отличимы от цитоплазмы. Гепатоциты, непосредственно прилежащие к фиброзной капсуле, «погружены» в мембрану и имеют плотное ядро (кариопикноз). Далее идет слой около 50 мкм малоповрежденных гепатоцитов, за которым следует слой поврежденных гепатоцитов толщиной 150-350 мкм, в последнем отмечаются уплотнение цитоплазмы, нарушение тинкториальных свойств и уплотнение ядер гепатоцитов. Синусоиды расширены и полнокровны на всей толщине повреждения.

Резюме. Воздействие «неравновесной плазмой» более щадящее по сравнению с воздействием жидким азотом, также её отличительной особенностью является наличие зоны без повреждений ткани, находящейся непосредственно под контактной поверхностью.

Моделирование абсцесса печени (II этап экспериментального исследования)

В ходе отработки модели получения абсцесса печени на животных согласно патенту на изобретение №2318248 во всех случаях формировался гнойник. Введение 70% раствора этилового спирта вызывало местный некроз с формированием полости, а введение микрофлоры её инфицировало.

Исследование влияния «неравновесной плазмы» и криодеструкции на ткань печени в условиях гнойного воспаления (III этап экспериментального исследования)

Оценка летальности экспериментальных животных после оперативного вмешательства

При моделировании абсцесса печени и последующем оперативном вмешательстве во всех группах летальные исходы отсутствовали.

Исследование влияния способа обработки абсцесса печени на жизнеспособность бактериальной микрофлоры

При анализе результатов посева из полости абсцесса после воздействия на его стенку выявлено, что в группе Плацебо во всех случаях высевался *S. Aureus*, который использовался для создания абсцесса печени. В Контрольной и Экспериментальной группах во всех случаях микрофлора не высевалась.

Макроскопическая оценка печени крыс после вскрытия абсцесса

При макроскопической оценке состояния печени после оперативного вмешательства во всех группах отмечается развитие выраженной дистрофии

паренхимы печени вокруг капсулы абсцесса, а также спаечного процесса в данной области. Особенно это выражено на 1-е и 5-е сутки. В некоторых случаях в группе Плацебо в ранние сроки повторно формировались абсцессы печени. С течением времени воспалительная реакция постепенно стихает. Во всех группах на 30-е сутки признаки ранее существовавшего абсцесса печени не выявляются, имеется лишь незначительный спаечный процесс. При этом следует отметить, что более выраженная воспалительная реакция отмечается в группе Плацебо.

Результаты биохимического анализа крови

Таблица 1. Сводная таблица биохимических показателей крови крыс в норме и в исследуемых группах в различные сроки

Показатели	Норма	Группа	1-е сут	5-е сут	15-е сут	30-е сут
АЛТ (Ед/л)	118 [97;139]	Плацебо	37 [33;46]	40 [34;62]	86 [85;94]	100 [94;100]
		Контроль	84 [83;90]	89 [70;96]	95 [83;100]	80 [59;90]
		Экспериментальная группа	61,5 [59;78,5]	79 [78;81,5]	80 [80;113]	78 [83;84]
АСТ (Ед/л)	134 [72;196]	Плацебо	133 [122;135]	113 [92;118]	110 [106;121]	120 [118;121]
		Контроль	184 [163;207]	121 [117;135]	124 [115;126]	125 [124;137]
		Экспериментальная группа	195,5 [169,5;206]	156 [149,5;166,5]	146 [78;159]	153 [147;158]
Билирубин общий мкмоль/мл	8,5 [7,9;9,0]	Плацебо	8,0 [8,0;9,0]	6,5 [6,0;7,0]	7,0 [6,0;7,0]	7,0 [7,0;7,0]
		Контроль	5,0 [5,0;6,0]	5,0 [5,0;6,0]	6,0 [5,0;6,0]	13,0 [13,0;13,0]
		Экспериментальная группа	6,5 [5,5;7,0]	14,0 [13,2;15,4]	8,7 [8,7;9,8]	13,8 [12,4;14,9]
Билирубин прямой мкмоль/мл	0	Плацебо	0,0 [0,0;1,0]	0,0 [0,0;1,0]	0	0
		Контроль	0	0,9 [0,3;	0	3,0 [2,0;

				1,3]		3,0]
		Экспериментальная группа	0	0	0	0
α-амилаза (Ед/л)	549 [489;609]	Плацебо	237 [237;302]	284,5 [256,8;362]	505 [503;507]	511,9 [495;560,2]
		Контроль	460,6 [459,4;539,1]	505,6 [449,4;557]	615,6 [600,2;636,6]	594 [576;637]
		Экспериментальная группа	397,15 [378,75;459,4]	609 [507,8;688,5]	592 [504;754]	574 [520;574]
ГГТ (Ед/л)	5,5 [1;10]	Плацебо	7 [6; 8]	4,3 [2,5; 10,7]	34 [15,4; 34,9]	17 [13,1; 23,9]
		Контроль	0,9 [0; 8,1]	20,4 [19,8; 28]	0,8 [0; 3,2]	9 [8; 10]
		Экспериментальная группа	0,75 [0,25; 2,75]	2,5 [2; 3,9]	0,8 [0; 9]	8 [8; 9]
Общий белок (г/л)	66 [54;78]	Плацебо	68,0 [67,0;69,0]	70,6 [68,0;71,5]	73 [71,0;74,0]	71,9 [71,5; 73,0]
		Контроль	77,1 [75,2;77,3]	72,0 [70,6;74,4]	80,1 [77,1; 81,1]	76,0 [76,0;76,0]
		Экспериментальная группа	79,1 [78,9;82,05]	68,0 [67,0;68,5]	66,0 [62,0;73,0]	57,0 [55,0;64,0]
Глюкоза (ммоль/л)	6,2 [3,9;8,5]	Плацебо	3,8 [3,4;4,6]	5,35 [3,5;7,2]	11,1 [9,5;11,3]	10,8 [9,8; 11,4]
		Контроль	13,2 [11,1;17,1]	10,2 [9,3;12,7]	9,4 [7,6;12,6]	13,9 [12,7;15,9]
		Экспериментальная группа	3,8 [3,0;4,75]	7,3 [6,95;7,45]	5,7 [5,1;8,9]	9,4 [8,7;9,5]
Мочевина (ммоль/л)	6,6 [5,6;7,6]	Плацебо	7,3 [7,2;8,6]	5,75 [4,8;6,7]	8,7 [7,0;9,5]	5,8 [5,5; 6]
		Контроль	7 [6,7;7,9]	9,1 [8,3;9,1]	8,3 [7,4;8,3]	6,4 [5,9;6,5]

]
		Экспериментальная группа	6,85 [6,4;6,95]	6,5 [5,7;6,65]	4,2 [3,4;4,6]	7,8 [6,6;7,8]
Креатинин(моль/л)	0,114 [0,068; 0,159]	Плацебо	0,094 [0,092; 0,097]	0,106 [0,105; 0,107]	0,113 [0,113; 0,118]	0,110 [0,108; 0,110]
		Контроль	0,082 [0,081; 0,092]	0,074 [0,072; 0,078]	0,073 [0,071; 0,076]	0,066 [0,065; 0,069]
		Экспериментальная группа	0,049 [0,047; 0,056]	0,110 [0,105; 0,110]	0,110 [0,110; 0,120]	0,09 [0,08; 0,09]

При анализе данных было выявлено лишь небольшое колебание значений относительно нормы всех показателей во всех исследуемых группах. Данная картина свидетельствует только о локальных изменениях, возникающих в печени в области оперативного вмешательства и не влияющих на работу органа в целом.

Результаты гистологического исследования

Группа плацебо. В препаратах печени после промывания полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl на 1-е сутки в просвете наблюдаются эритроциты, полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация с преобладанием сегментоядерных нейтрофилов. В стенке капсулы абсцесса обнаруживаются обильная полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация (лимфоциты, мононуклеары, макрофаги, в том числе гемосидерофаги, сегментоядерные эозинофилы, тучные клетки), интерстициальный отёк разной степени выраженности, а также желчные протоки с признаками дистрофии в эпителиоцитах их стенки. В печени наблюдается периваскулярный фиброз и утолщение соединительнотканых прослоек, содержащих сегментоядерные нейтрофилы и мононуклеары. В паренхиме печени встречаются полиморфизм гепатоцитов, зоны с мелко- или крупнозернистой вакуолизацией цитоплазмы, кариопикноз. Синусоидные капилляры расширены и полнокровны, вокруг них определяются небольшие диапедезные геморрагии и мелкоочаговые кровоизлияния. Наблюдается дисконфлексация печеночных пластин, гепатоциты формируют неупорядоченные структуры или располагаются независимо друг от друга. Среди гепатоцитов определяются клетки мононуклеарной инфильтрации.

На 5-е сутки в гистологических препаратах пограничной зоны печени и абсцесса в его просвете наблюдаются обильные скопления полиморфных воспалительных клеток, капсула по сравнению с 1 сутками значительно утолщена, происходит инфильтрация пиогенной мембраны. В толще стенки абсцесса повсеместно наблюдаются полиморфноклеточная инфильтрация (лимфоциты, макрофаги, в том числе гемосидерофаги, тучные клетки, сегментоядерные нейтрофилы, единичные моноциты), обилие разнонаправленных капилляров, появляются артериолы и венулы, что

говорит об активном разрастании и созревании соединительной ткани. Как в пограничной зоне, так и в дольках печени, находящихся на удалении от нее, наблюдаются гепатоциты с признаками гидропической дистрофии, нарушением тинкториальных свойств, уменьшением размеров, а также двуядерные гепатоциты. Происходит утолщение и инфильтрация соединительнотканых междольковых прослоек в паренхиме печени.

К 15-м суткам происходит дальнейшее интенсивное прорастание соединительной ткани в паренхиму печени, в результате которого в толще капсулы наблюдаются остаточные единичные или в виде мелких скоплений гепатоциты с признаками дегенерации (дистрофии, апоптоза), окруженные коллагеновыми волокнами и полиморфноклеточной воспалительной инфильтрацией. Центральные вены нередко расширены, синусоиды долек расширены, полнокровны. Отмечаются дисконфлексация печеночных пластин, признаки вакуольной дистрофии гепатоцитов.

На 30-е сутки в печени происходит разрастание соединительной ткани на относительном удалении от границы абсцесса (зоны, не находящиеся в непосредственном контакте с пиогенной капсулой), отмечаются нарушение целостности синусоидов и более крупных сосудов печени, что приводит к увеличению количества гемосидерофагов. Гепатоциты как пограничной зоны, так и в печеночных дольках, не граничащих с абсцессом, разных размеров, полиморфны, имеют признаки дистрофии. Наблюдаются замещение соединительной тканью части печеночных долек, дисконфлексация печеночных пластин, расширение синусоидов и центральных вен.

Контрольная группа. Промывание полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl, воздействие на стенку абсцесса низкими температурами (жидкий азот, температура -196 °C). В микропрепаратах печени на 1 сутки определяется тонкая соединительнотканная капсула, сразу под которой отмечается зона некроза гепатоцитов, образовавшаяся под действием низких температур, глубиной от 500 до 850 мкм. В просвете абсцесса, в толще капсулы, а также в зоне некроза гепатоцитов обнаруживается обилие эритроцитов, лимфоцитов, мононуклеаров, макрофагов, сегментоядерных эозинофилов. В пиогенной мембране определяется интерстициальный отёк. В непосредственном контакте с зоной некроза расположены гепатоциты, уменьшенные в размере, более интенсивного цвета, в которых наблюдается кариопикноз. В паренхиме печени синусоиды расширены, полнокровны, присутствует незначительная мононуклеарная инфильтрация.

К 5 суткам происходит замещение некротизированных гепатоцитов на соединительную ткань, также происходит разрастание соединительной ткани и образование ее «островков» в паренхиме печени в области междольковых прослоек и периваскулярно. Соединительная ткань инфильтрирована клетками воспаления, в том числе наблюдается обилие гемосидерофагов. В паренхиме печени отмечаются заустевание одних сосудов на фоне полнокровия других, явления плазмостаза, интерстициальный отёк,

полиморфизм гепатоцитов, двуядерные гепатоциты, дисконкомплексация печеночных пластин.

К 15 суткам происходит разрастание и созревание соединительной ткани, расширение междольковых соединительнотканых прослоек. Пиогенная мембрана отёчна, инфильтрирована клетками воспаления, в том числе моноцитами и макрофагами. В паренхиме печени синусоиды расширены, гепатоциты различной формы и размеров.

На 30 сутки в печени обнаруживается обилие соединительной ткани (капсула, периваскулярный фиброз, утолщение междольковых соединительнотканых прослоек, «островки» соединительной ткани полигональной формы, формирование соединительной ткани вокруг центральных вен дольки), в толще которой наблюдаются остаточные единичные или в виде скоплений гепатоциты с признаками дегенерации, синусоиды местами расширены, полнокровны.

Экспериментальная группа. Промывание полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl, обработка стенки абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1». В препаратах печени на 1 сутки, в отличие от группы Плацебо, везде присутствует ярко выраженная пиогенная мембрана. В стенке капсулы обнаруживаются вновь образованные сосуды мелкого калибра, обильная полиморфноклеточная инфильтрация (лимфоциты, мононуклеары, макрофаги, гемосидерофаги, сегментоядерные нейтрофилы, тучные клетки). По сравнению с группой Плацебо в воспалительной инфильтрации меньшее количество эозинофилов, также в стенке капсулы отсутствуют желчные протоки. В гепатоцитах пограничной зоны наблюдаются перинуклеарный отек, признаки дистрофии, набухание цитоплазмы. В печени наблюдаются периваскулярный фиброз, плазмостаз в междольковых артериях и венах, дисконкомплексация печеночных пластин, полиморфизм гепатоцитов, двуядерные гепатоциты, признаки вакуольной дистрофии, кариопикноз. При этом, в отличие от контрольной группы зона некроза гепатоцитов не встречается.

К 5-м суткам происходит увеличение размеров пиогенной капсулы и периваскулярного фиброза, наблюдаются созревание коллагеновых волокон, полиморфноклеточная инфильтрация, образование неососудов разного калибра. Морфологическое состояние паренхимы печени неоднородное от дольки к дольке, что создает впечатление мозаичной структуры. В паренхиме печени наблюдаются гепатоциты с признаками мелко- или крупнозернистой дистрофии, дисконкомплексация печеночных пластин, незначительная лимфоцитарная инфильтрация.

К 15-м суткам, по сравнению с группой Плацебо, отсутствуют гепатоциты в толще капсулы, наблюдаются отёк соединительнотканых «островков», меньшее количество гемосидерофагов. Среди клеток воспалительной инфильтрации обнаруживаются: лимфоциты, макрофаги, в том числе единичные гемосидерофаги, тучные клетки, сегментоядерные нейтрофилы, единичные эозинофилы и моноциты. Паренхима печени неоднородна, гепатоциты имеют признаки вакуольной дистрофии разной

степени выраженности, различные размеры и тинкториальные свойства. В паренхиме обнаруживается незначительная мононуклеарная инфильтрация.

На 30 сутки происходит дальнейшее прорастание соединительной ткани в паренхиму печени, в результате которого в толще капсулы встречаются единичные гепатоциты с признаками дегенерации, окруженные коллагеновыми волокнами и мононуклеарной воспалительной инфильтрацией. В паренхиме печени отмечается дисконфигурация печеночных пластин, центральные вены расширены, гепатоциты имеют признаки гидропической дистрофии. В периваскулярной соединительной ткани наблюдается мононуклеарная инфильтрация.

Резюме. Обработка стенки абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1» способствовала раннему образованию и созреванию пиогенной капсулы, меньшему количеству сегментоядерных эозинофилов в составе полиморфноклеточной инфильтрации, разрастанию соединительной ткани по менее агрессивному сценарию, нежели в других группах.

Результаты морфометрии

Данные обзорной морфометрии микропрепаратов представлены в таблице 2.

Таблица 2. Сводная таблица показателей морфометрии печени крыс в исследуемых группах в различные сроки

Показатели	Группа	1-е сут	5-е сут	15-е сут	30-е сут
УО гепатоцитов с признаками дистрофии (Объёмных единиц, мкм ³ /мкм ³)	Плацебо	0,234 [0,106;0,35]	0,40 [0,319;0,462]	0,456 [0,425;0,568]	0,666 [0,500;0,706]
	Контроль	0,40 [0,34;0,45]	0,459 [0,393;0,55]	0,612 [0,562;0,650]	0,718 [0,637;0,725]
	Экспериментальная группа	0,547 [0,494;0,649]	0,63 [0,562;0,649]	0,523 [0,456;0,593]	0,563 [0,514;0,672]
УО гепатоцитов с признаками некроза (Объёмных единиц, мкм ³ /мкм ³)	Плацебо	0,006 [0,00;0,031]	0,00 [0,00;0,00]	0,00 [0,00;0,00]	0,00 [0,00;0,00]
	Контроль	0,00 [0,00;0,006]	0,00 [0,00;0,00]	0,00 [0,00;0,00]	0,00 [0,00;0,05]
	Экспериментальная группа	0,00 [0,00;0,025]	0,006 [0,00;0,025]	0,003 [0,00;0,012]	0,009 [0,003;0,016]
УО двуядерных гепатоцитов (Объёмных	Плацебо	0,016 [0,006;0,056]	0,031 [0,012;0,037]	0,042 [0,025;0,044]	0,009 [0,00;0,012]
	Контроль	0,019	0,012	0,0156	0,012

единиц, мкм ³ /мкм ³)		[0,009;0,019]	[0,006;0,037]	[0,00;0,019]	[0,006;0,014]
	Экспериментальная группа	0,011 [0,007;0,013]	0,011 [0,009;0,019]	0,019 [0,012;0,026]	0,016 [0,012;0,025]
УО соединительной ткани (Объёмных единиц, мкм ³ /мкм ³)	Плацебо	0,113 [0,044;0,187]	0,134 [0,094;0,187]	0,119 [0,05;0,141]	0,147 [0,10;0,187]
	Контроль	0,184 [0,156;0,247]	0,137 [0,112;0,187]	0,128 [0,094;0,175]	0,112 [0,081;0,119]
	Экспериментальная группа	0,132 [0,103;0,187]	0,13 [0,081;0,149]	0,139 [0,098;0,175]	0,128 [0,119;0,158]
УО сосудов (Объёмных единиц, мкм ³ /мкм ³)	Плацебо	0,239 [0,225;0,262]	0,203 [0,181;0,225]	0,206 [0,183;0,214]	0,153 [0,112;0,187]
	Контроль	0,175 [0,141;0,203]	0,162 [0,131;0,20]	0,184 [0,112;0,235]	0,092 [0,072;0,10]
	Экспериментальная группа	0,145 [0,082;0,174]	0,094 [0,082;0,183]	0,153 [0,111;0,183]	0,132 [0,105;0,147]
УО воспалительной инфильтрации (Объёмных единиц, мкм ³ /мкм ³)	Плацебо	0,053 [0,037;0,062]	0,066 [0,044;0,075]	0,037 [0,031;0,059]	0,044 [0,025;0,056]
	Контроль	0,05 [0,031;0,066]	0,037 [0,031;0,037]	0,031 [0,012;0,062]	0,031 [0,012;0,044]
	Экспериментальная группа	0,044 [0,028;0,056]	0,041 [0,028;0,044]	0,043 [0,032;0,049]	0,045 [0,033;0,048]
УО гепатоцитов с признаками апоптоза (Объёмных единиц, мкм ³ /мкм ³)	Плацебо	0,006 [0,006;0,006]	0,012 [0,006;0,012]	0,006 [0,00;0,012]	0,00 [0,00;0,006]
	Контроль	0,006 [0,003;0,012]	0,009 [0,00;0,012]	0,00 [0,003;0,012]	0,00 [0,00;0,006]
	Экспериментальная группа	0,007 [0,003;0,012]	0,006 [0,00;0,009]	0,01 [0,003;0,014]	0,006 [0,003;0,01]
УО нормальных	Плацебо	0,30 [0,25;	0,10 [0,075;	0,112 [0,044;	0,009 [0,006;

гепатоцитов (Объёмных единиц, мкм ³ /мкм ³)		0,375]	0,287]	0,116]	0,025]
	Контроль	0,147 [0,109; 0,206]	0,153 [0,118; 0,20]	0,022 [0,015; 0,05]	0,018 [0,00; 0,019]
	Экспериментальная группа	0,035 [0,012; 0,20]	0,066 [0,012; 0,117]	0,117 [0,076; 0,118]	0,086 [0,016; 0,116]

УО - удельный объём

Анализ данных морфометрии показал характерную для всех групп тенденцию, показатели, характеризующие повреждение паренхимы печени (УО гепатоцитов с признаками некроза, УО соединительной ткани, УО воспалительной инфильтрации, УО гепатоцитов с признаками апоптоза), имеют тенденцию к нарастанию с 1-х суток после оперативного вмешательства, достигая максимума к 15-м суткам. Далее к 30-м суткам отмечается их снижение. Для морфометрических данных, характеризующих регенеративные процессы печени (УО нормальных гепатоцитов, УО сосудов, УО двуядерных гепатоцитов), также отмечено возрастание с 1-х до 15-х суток, а затем постепенное снижение к 30-м суткам. Данная картина свидетельствует о преобладании повреждения паренхимы печени над её регенерацией в ранние сроки после оперативного вмешательства, а также о дальнейшем стихании патологических и доминировании восстановительных процессов в органе в поздние сроки.

Обсуждение полученных результатов

Аппарат «Источник холодной плазмы-1» (ИХП-1) способен генерировать «неравновесную плазму» в воздухе при атмосферном давлении с помощью барьерного разряда. Биохимические процессы в полученной плазме являются довольно сложными и включают большое количество элементарных реакций. С помощью эмиссионной спектроскопии выявлено, что основными компонентами плазменного пучка являются атомы N, O и H. Они инициируют другие плазмохимические процессы, такие как образование озона (O₃), пероксида водорода (H₂O₂), оксида азота (NO) и многих других реактивных компонентов. Именно с наличием данных химических реагентов связывают положительный лечебный эффект «неравновесной плазмы». В частности активные частицы, входящие в состав «плазмы», обладают выраженным бактерицидным действием за счёт развития окислительного стресса. При исследовании влияния плазмы на инактивацию микроорганизмов выявлено, что воздействие плазменным пучком на питательную среду, содержащую 10⁹ мл⁻¹ микроорганизмов, в течение 20 сек. приводит к полной гибели бактерий. При этом активные частицы плазмы воздействуют на внешнюю мембрану микроорганизмов, индуцируя в ней необратимые изменения. После того, как мембраны получили достаточное количество повреждений, происходит интенсивная гибель бактерий. Несмотря на выраженное бактерицидное действие активных частиц, входящих в состав «неравновесной плазмы», в ряде научных исследований показано незначительное повреждающее действие «плазмы» на здоровые

ткани и органы. Например, Т. Carus и К. Rasckebrandt (2011) проводили сравнительную оценку эффективности гемостаза и выраженности повреждающего действия на ткань паренхиматозных органов моно-, биполярного, «холодно-плазменного» и ультразвукового коагуляторов. В своей работе они пришли к выводу, что с помощью «холодно-плазменной» коагуляции можно достичь эффективного гемостаза, при этом повреждение окружающих тканей незначительно. Также G. Fridman (2006) и S. Kalghatgi (2007) в своих трудах рассматривали «неравновесную плазму» в качестве метода коагуляции, который не приводит к развитию ожогов и глубоких повреждений тканей.

Результаты настоящей работы, в целом, соответствуют вышеизложенной информации. В частности, при сравнительном анализе обработки «неравновесной плазмой» и криодеструкции здоровой ткани печени крыс выявлено, что действие «плазмы» более щадящее по сравнению с воздействием жидким азотом. Её отличительной особенностью является наличие зоны без повреждений ткани, находящейся непосредственно под контактной поверхностью.

Посев из полости абсцесса в экспериментальной группе (воздействие на стенку абсцесса «неравновесной плазмой») не выявил роста *S. Aureus*. Аналогичный результат характерен и для контрольной группы (воздействие жидким азотом).

Анализ данных биохимического исследования крови выявил незначительные колебания большинства показателей относительно нормы во всех исследуемых группах. Если какие-либо показатели превышали норму, то лишь на небольшое значение. В частности, биохимические показатели повреждения печени (АЛТ, АСТ, ГГТ, общий и прямой билирубин) в экспериментальной и контрольной группах были ниже либо соответствовали норме практически во всех случаях. Аналогичная ситуация характерна и для шлаков (мочевина, креатинин). Данная картина, в целом, свидетельствует только о локальных изменениях, возникающих в печени в области оперативного вмешательства и не влияющих на работу органа в целом.

Согласно данным гистологического исследования, ни один из представленных способов оперативного лечения абсцесса печени не обеспечил полной асептики в случае моделирования гнойника согласно приведенной методике. Однако, обработка стенки абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1» способствовала раннему образованию и созреванию пиогенной капсулы, меньшему количеству сегментоядерных эозинофилов в составе полиморфноклеточной инфильтрации, разрастанию соединительной ткани по менее агрессивному сценарию, нежели в других группах. В случае обработки «неравновесной плазмой» отсутствовали диапедез и зона некроза, характерные для обработки стенки капсулы абсцесса жидким азотом, тем не менее, плазмостаз в мелких сосудах приводил к мозаичным изменениям паренхимы печени и интерстициальному отёку. Отсюда можно предположить, что в случае подбора оптимальных условий работы аппарата «ИХП-1» возможно

обеспечить асептические условия без формирования зоны некроза, минимизировать кровопотерю.

При анализе данных морфометрии была выявлена характерная для всех групп тенденция преобладания повреждения паренхимы печени над её регенерацией в ранние сроки после оперативного вмешательства, а также стихания патологических и доминирование восстановительных процессов в органе в поздние сроки. При этом в группе обработки стенки абсцесса неравновесной плазмой средние значения морфометрических показателей, свидетельствующих о повреждении печени, меньше, чем в группе плацебо и контроле, а средние значения показателей регенерации органа выше.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Главным преимуществом «неравновесной плазмы» над криодеструкцией жидким азотом при обработке хронических абсцессов печени будет бактерицидное действие за счёт окислительного стресса, развивающегося под воздействием активных частиц плазмы, а не за счёт температурного фактора, как в случае с криодеструкцией. Следовательно, «неравновесная плазма» оказывает значительно меньший повреждающий эффект на окружающие гепатоциты. Таким образом, из всего вышеизложенного следует, что «неравновесная плазма» оказывает значительно меньший повреждающий эффект на окружающие гепатоциты, здоровая ткань печени страдает меньше, чем при воздействии низкими температурами.

ВЫВОДЫ

1. Воздействие «неравновесной плазмы» на здоровую ткань печени приводит к значительно меньшему повреждению паренхимы органа по сравнению с криодеструкцией.
2. Предлагаемый экспериментальный способ хирургического лечения хронических абсцессов печени с применением «неравновесной плазмы» приводит к излечиванию гнойников при полном отсутствии летальных исходов в исследованных группах.
3. Криодеструкция и воздействие «неравновесной плазмой» на внутреннюю стенку хронического абсцесса печени при оперативном вмешательстве приводят к гибели пиогенных бактерий.
4. Криодеструкция и обработка «неравновесной плазмой» оказывают локальное воздействие на ткань печени, не нарушают работу органа и ведут к постепенной регенерации паренхимы в области патологического очага вплоть до 30 суток. При этом использование «неравновесной плазмы» приводит к меньшему повреждению окружающих гнойник тканей органа, чем криодеструкция.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Предлагаемый экспериментальный способ хирургического лечения хронических абсцессов печени крыс с применением «неравновесной плазмы» приводит к излечиванию гнойников. Обработку внутренней стенки абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1» следует производить в течение 1 минуты для полной гибели бактерий и

одновременного коагуляционного эффекта в случае развития кровотечения из паренхимы печени.

2. Разработанный способ хирургического лечения абсцессов печени (обработка внутренней стенки абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1») может быть рекомендован для дальнейшего исследования в клинике.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сравнительный анализ использования «неравновесной плазмы» и криодеструкции при оперативном лечении хронических абсцессов печени в эксперименте. Бушланов П.С., Мерзликин Н.В., Семичев Е.В., Байков А.Н., Цхай В.Ф., Иванов В.В., Каланда Н.С., Кошцевец Е.С., Миронов Н.Е., Рукавишников А.А. **Анналы хирургической гепатологии**. 2018. Т. 23, № 1. С. 55–64. ИФ РИНЦ 0,666.
2. 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.
3. Исследование применения криодеструкции и «неравновесной плазмы» при оперативном лечении хронических абсцессов печени крыс. П.С. Бушланов, Е.В. Семичев, А.Н. Байков, Н.В. Мерзликин. Материалы XXIII съезда Физиологического общества имени И.П. Павлова. Воронеж: Издательство «ИСТОКИ», 2017. С 1776-1778.
4. Экспериментальное применение «неравновесной плазмы» и криодеструкции при оперативном лечении абсцессов печени крыс. Бушланов П.С., Мерзликин Н.В., Семичев Е.В., Байков А.Н. «Актуальные вопросы панкреатологии, гепатологии и билиарной хирургии». материалы межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 50-летию образования Кузбасского Областного гепатологического центра. 2017.
5. 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.
6. «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.
7. Морфофункциональные изменения селезенки после гемостаза неравновесной плазмой. Семичев Е.В., Байков А.Н., Шевцова Н.М., Бушланов П.С., Геренг Е.А., Алейник А.Н. **Вестник Российской академии медицинских наук**. 2015. Т. 70. № 5. С. 592-598. SCOPUS, ИФ РИНЦ 1,070. SJR(2015): 0.116
8. 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.
9. 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.
10. 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.

11. Холодная плазма в биологических приложениях / Н.Д. Тургунова, О.И. Денеко, Е.В. Семичев, П.С. Бушланов. **Известия вузов. Физика**. 2013. Т. 56, № 4–2. С. 302–304. ИФ РИНЦ 0,671.

12. Comparative analysis of application of «nonequilibrium plasma» and cryodestruction during surgery of chronic liver abscesses in the experiment. Bushlanov P.S., Merzlikin N.V., Semichev E.V., Baikov A.N., Tskhai V.F., Aleinik A.N., Yun V.E., Yakovleva D.O. Стендовый доклад. Международная научно-практическая конференция "Молекулы и системы для диагностики и адресной терапии", посвященная 55-летию Центральной научно-исследовательской лаборатории (ЦНИЛ) СибГМУ.

За помощь в выполнении оперативного вмешательства, уходе за экспериментальными животными и выведении их из эксперимента, а также за выполненные гистологические, морфометрические, бактериологические исследования и консультативную поддержку автор настоящей работы выражает благодарность заведующему Центральной научно-исследовательской лаборатории, профессору кафедры нормальной физиологии, доктору медицинских наук Байкову А.Н., руководителю научного отдела ФГБУ ФСНКЦ ФМБА России, кандидату медицинских наук Семичеву Е.В., доктору медицинских наук, профессору кафедры хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии Цхай В.Ф., кандидату биологических наук, доценту кафедры биохимии и молекулярной биологии с курсом клинической лабораторной диагностики Иванову В.В., кандидату медицинских наук, доценту кафедры морфологии и общей патологии Гутору С.С., научному сотруднику ЦНИЛ СибГМУ Каланда Н.С., старшему научному сотруднику кафедры прикладной физики ФТИ ТПУ.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АП	–	абсцесс печени
АЛТ	–	аланинаминотрансфераза
АСТ	–	аспартатаминотрансфераза
ГГТ	–	гамма глутамил трансфераза
ГМФ	–	гидролизат мясной ферментативный
ИХП-1	–	источник холодной плазмы-1
КТ	–	компьютерная томография
Ув.	–	увеличение
УО	–	удельный объём
ЦНИЛ	–	Центральная научно-исследовательская лаборатория Сибирского
СибГМУ	–	государственного медицинского университета
Me	–	медиана
Q _{0,25}	–	25% квартиль
Q _{0,75}	–	75% квартиль