

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

*На правах рукописи*

**Бушланов Павел Сергеевич**

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

14.01.17 – Хирургия

диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научный руководитель:

Заведующий кафедрой хирургических болезней

с курсом травматологии и ортопедии,

д-р мед. наук, профессор Мерзликин Н.В.

Томск – 2018

ВВЕДЕНИЕ	3
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	11
1.1. Этиология, классификация абсцессов печени	11
1.2. Лечение абсцессов печени	15
1.3. Заключение	29
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	31
Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	43
3.1. Исследование влияния «неравновесной плазмы» и криодеструкции на жизнеспособность клеток печени	43
3.2. Моделирование абсцесса печени	46
3.3. Исследование влияние «неравновесной плазмы» и криодеструкции на ткань печени в условиях гнойного воспаления	47
3.3.1. Оценка летальности экспериментальных животных после оперативного вмешательства	47
3.3.2. Исследование влияния способа обработки абсцесса печени на жизнеспособность бактериальной микрофлоры	48
3.3.3. Макроскопическая оценка печени крыс после вскрытия абсцесса	48
3.3.4. Результаты биохимического анализа крови	54
3.3.5. Результаты гистологического исследования биоптатов печени	60
3.3.6. Результаты морфометрии биоптатов печени	82
Глава 4. ОБСУЖДЕНИЕ	86
Глава 5. ЗАКЛЮЧЕНИЕ	100
ВЫВОДЫ	107
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	108
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	109
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	110

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность

Абсцессы печени являются тяжелым полиэтиологическим заболеванием, частота которого в общем хирургическом стационаре имеет четкую тенденцию к увеличению [10, 11, 12, 13, 44]. 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%. При амёбных и описторхозных гнойниках комплексное лечение также даёт 26% и 15,5% летальности соответственно [4, 6, 10, 11, 12, 13, 61, 76, 85, 91, 107, 115]. Летальность при множественных абсцессах печени существенно выше, чем при одиночных и может достигать, по данным некоторых авторов, 50–80% [4, 6, 10, 11, 12, 13, 107, 115].

В настоящее время вопрос лечения абсцессов печени по-прежнему остаётся открытым, поэтому продолжается поиск и разработка новых методик. Одним из таких инновационных методов может стать коагуляция «неравновесной плазмой». «Плазма» имеет неоднородный состав и состоит из электронов, ионов и нейтральных частиц. Температура «неравновесной плазмы» («холодной плазмы») небольшая ( $< 45^{\circ}\text{C}$ ), вследствие малой энергии активных частиц. Лечебное действие «холодной плазмы» обусловлено наличием в ней  $\text{O}_3$ ,  $\text{NO}$ ,  $\text{HO}$ ,  $\text{H}_2\text{O}_2$ , атомарного кислорода и других компонентов. Активные частицы, входящие в состав «плазмы», обладают выраженным бактерицидным действием за счёт активации перекисного окисления липидов [30, 32, 41, 47, 62, 72, 86, 93, 106, 123, 130].

Положительные результаты были достигнуты в лечении эмпиемы плевры при туберкулезном бронхите и плеврите [106, 129]. Аналогичная динамика

наблюдалась при лечении инфицированных ран после секвестрэктомии, при остеомиелите и т.д. Широкое применение «неравновесная плазма» получила в стоматологии в основном с гемостатическим и бактерицидным действием [17, 35, 98].

В ряде работ показано влияние «холодной плазмы» на опухолевые клетки *in vitro* и доказан апоптотический эффект [18, 96, 102, 104, 106, 116, 131]. Способность «холодной плазмы» стимулировать заживление вследствие обеззараживания и коагуляции раневого дефекта так же активно обсуждается рядом авторов [103-105]. Одним из главных положительных эффектов «холодной плазмы» является отсутствие ожогового струпа после воздействия и повреждения окружающих тканей, что снижает количество послеоперационных осложнений и не нарушает процессы регенерации тканей.

### Научная работа

Настоящая работа посвящена изучению влияния «неравновесной плазмы» и криодеструкции на ткань печени в условиях развития гнойного воспаления (абсцесса печени).

Цель: 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:

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

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

Важным аспектом данной работы является изучение влияния «неравновесной плазмы» на жизнеспособность клеток печени. В качестве метода сравнения будет использоваться методика обработки полости абсцесса печени низкими температурами (в качестве хладагента используется жидкий азот, температура  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), применяемая в настоящее время в Гепатологическом центре ОГАУЗ ГКБ №3 г. Томска.

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 вызывает 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.

Результаты исследования позволят широко внедрить в клиническое использование метод обработки стенки абсцесса печени и других патологических гнойно-воспалительных образований с помощью «неравновесной плазмы», особенно в гепатологических центрах и в гнойных хирургических отделениях.

#### Практическая ценность

Результаты научного исследования позволят выработать рекомендации по клиническому использованию метода воздействия «неравновесной плазмой» и криодеструкции при лечении абсцессов печени. Полученные данные можно будет экстраполировать на гнойно-воспалительные процессы в целом, что в дальнейшей поспособствует разработке новых методов лечения гнойных ран с помощью «неравновесной плазмы». Кроме того результаты исследования влияния «неравновесной плазмы» на бактериальные патогены расширят и углубят общие знания о действии «плазмы» на организмы, что поспособствует поиску новых областей, в которых возможно использование «неравновесной (холодной) плазмы».

#### Методология и методы исследования

Эксперименты выполнены на животных – крысах-самцах массой тела 200 – 220 г. Критерии отбора популяции были следующими.

Критерии включения: Эксперименты выполнены на здоровых лабораторных крысах самцах линии Вистар массой 200–220 г, ранее не участвовавших в других исследованиях.

Критерии исключения: В случае гибели животного до назначенной временной точки данное обстоятельство фиксировалось, однако забор биологического материала для исследований у данного животного не производился.

Модель исследования – исследование в параллельных группах.

3 группы исследования:

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

Технологии контроля:

1. Плацебо-контроль – оперативное вмешательство без какого-либо воздействия на печень.
2. Активный контроль – оперативное вмешательство и воздействие на паренхиму печени низкими температурами.

Вывод животных из эксперимента в каждой группе осуществлялся на 1, 5, 15 и 30 сутки при помощи  $\text{CO}_2$ -асфиксии в специализированной камере.

Выполнялись следующие методы исследования:

- исследование 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. Обзорная микроскопия и морфометрия осуществлялись на препаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван-Гизону.
- биохимический анализ плазмы крови на наличие маркёров функционального состояния печени (глюкоза, АСТ, АЛТ, ГГТ,  $\alpha$ -амилаза,

общий билирубин, прямой билирубин, мочеви́на, креатинин, общий белок, щелочная фосфатаза)

- статистическая обработка полученных данных. Статистический анализ выполнен на пакете программы SPSS. Данные представлены в виде медианы (Me) и интерквартильных разбросов – ( $Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$ ). Так как небольшой объем выборки не даёт возможности отнести данное распределение к нормальному закону, анализ выполнен с использованием непараметрических критериев: для попарно несвязанных выборок применяли метод Манна – Уитни. В трех несвязанных группах проведён дисперсионный анализ ANOVA Крускала – Уоллиса. Критическим уровнем значимости считалось 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 без термических повреждений окружающих тканей (паренхимы органа).
2. Воздействие «неравновесной плазмой» на внутреннюю стенку хронического абсцесса печени ведёт 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.

Апробация. 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).

Публикации. За время проведения исследования 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 тезиса 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.

Личный вклад автора. Автор подготовил план и задачи диссертационного исследования. Кроме того лично разработал экспериментальную модель оперативного лечения абсцессов печени крыс с использованием «неравновесной плазмы», адаптированную для клинического применения. В экспериментальной части исследования самостоятельно выполнил все оперативные вмешательства, провёл оценку послеоперационной клинической картины, результатов лабораторных методов исследования, участвовал в описании и научной оценке гистологических препаратов. Самостоятельно провел сбор и обработку медицинской информации, выполнил математико-статистическую обработку и анализ полученных результатов. Личный вклад автора в исследование составляет

более 90%. Автором самостоятельно написан текст диссертации и автореферата, подготовлена электронная версия доклада для апробации и защиты.

## Глава 1

### ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

#### 1.1. Этиология, классификация абсцессов печени

Абсцесс печени (АП) – это гнойно-воспалительное заболевание микробной или паразитарной природы, характеризующееся развитием локальных деструктивных процессов в паренхиме печени и формированием ограниченного скопления гноя, в центре которого находится очаг литического расплавления ткани [14, 29, 31, 33, 39, 48, 53, 67, 73, 79, 80, 88, 94, 97, 101, 110, 111, 121, 126].

Классическими клиническими проявлениями абсцесса печени является триада симптомов: боли в правом подреберье, гипертермия, гепатомегалия. При множественных и крупных абсцессах может наблюдаться желтуха, при холангиогенных абсцессах она встречается практически у всех больных. Довольно редко встречаются асцит и спленомегалия, которые возникают в результате портальной гипертензии как следствие острого тромбоза воротной вены [4, 10, 11, 12, 13, 33]. Бессимптомное течение абсцессов печени отмечается в 30% случаев [10, 11, 12, 13].

В настоящее время абсцессы печени классифицируют следующим образом.

По этиологии:

1. Холангиогенные - вследствие распространения инфекции в печень по желчным путям, выделяют 2 группы холангиогенных абсцессов: имеющие связь с желчными протоками и изолированные от них [10, 11, 12, 13];
2. Абсцессы печени, развившиеся как осложнения гнойных заболеваний органов брюшной полости [1, 2, 28, 50, 78];
3. Посттравматические абсцессы печени вследствие нагноения внутрипечёночных гематом после травм [10, 33, 46];

4. Абсцессы печени, являющиеся осложнениями паразитарных поражений органа (амебиаз, альвеококкоз, описторхоз и др.) [20, 26, 69, 76, 109];
5. Абсцессы печени, развившиеся вследствие гематогенного заноса инфекта в печень при сепсисе;
6. Криптогенные абсцессы печени, когда этиология не ясна.

По количеству: одиночные и множественные абсцессы печени.

По расположению относительно долей печени: абсцессы правой доли, левой доли, обеих долей.

По локализации абсцессов относительно поверхности печени: субкапсулярно-паренхиматозные (наиболее часто встречаемые, более 50 % случаев), субкапсулярные, интрапаренхиматозные [81].

Этиология гнойных абсцессов печени многообразна, однако чаще всего абсцессы бывают холангиогенные. В эпоху до применения антибактериальных препаратов лидирующее положение занимали пилефлебитические абсцессы печени, возникающие в результате деструктивных форм аппендицита [24]. По данным Osner и DeVakey о структуре заболеваемости абсцессами печени от 1938 года, пилефлебитические абсцессы печени составили 43%, криптогенные – 22% и холангиогенные – 14%, при общей летальности около 80%. В связи с широким применением антибиотиков и успехами в лечении гнойно-воспалительных заболеваний брюшной полости частота встречаемости пилефлебитических абсцессов печени, составлявших ранее основную этиологическую группу, снизилась до единичных случаев [10, 11, 12, 13, 28]. С 1950 г. отмечается резкое увеличение частоты встречаемости холангиогенных абсцессов, а за последние 25 лет являются основной причиной возникновения гнойников печени - от 37 до 55%. В данной ситуации они в основном формируются из-за обструкции желчных протоков. Основными причинами холангиогенного формирования гнойников

являются рубцовые стриктуры гепатикохоледоха и холедохолитиаз [10, 13], к факторам риска относятся также применение транспеченочных дренажей, эндобилиарных стентов, наличие холедоходуоденоанастомоза [40]. Ключевыми звеньями патогенеза развития холангиогенных абсцессов печени являются нарушение пассажа желчи, длительный холестаз, иммуносупрессия, на фоне которой неизбежно происходит вторичное инфицирование желчи [90]. Холангиогенные абсцессы печени характеризуются тяжелым клиническим течением и высокой летальностью, что, как правило, обусловлено сочетанием их с гнойным холангитом [13, 36, 49, 92, 133].

Абсцессы печени, возникшие у больных с различными воспалительными процессами в брюшной полости, составляют около 30 % [1, 2, 78]. В настоящее время самыми распространёнными из них (12,1 %) являются паравезикальные абсцессы печени при остром калькулезном холецистите [50]. Ещё одной причиной является пилефлебит – гнойное воспаление в системе воротной вены – который обычно представляет собой вторичный процесс, осложняющий течение основного, не обязательно гнойного заболевания. Основной причиной острого пилефлебита является гнойное воспаление аппендикса. В этом случае воспаление изначально возникает в соответствующей брыжеечной вене, а затем распространяется на всю мезентериальную и воротную вену. Несколько реже встречаются гнойные пилефлебиты, вызванные пенетрирующими язвами желудка, проктитами и другими воспалительными процессами брюшной полости [28].

Посттравматический абсцесс печени — состояние, характеризующееся наличием гнойной полости в паренхиме печени вследствие травматической деструкции. Они составляют 7,3–15 % от числа всех гнойников печени.

Посттравматические абсцессы печени развиваются в результате тупой травмы живота с размозжением паренхимы печени, краевого разрыва печени, ушивания ее после значительных разрывов, вследствие нагноения

посттравматической, послеоперационной гематом, колото-резаных или огнестрельных ран печени. Развитие посттравматических абсцессов печени, которое происходит в сроки от 14 дней до 2 месяцев после повреждения, обусловлено, как правило, повреждением при травме сосудистых и билиарных структур с септическим некрозом паренхимы печени. Посттравматические абсцессы печени, как правило, одиночные, больших размеров, неправильной формы, которая повторяет линию разрыва [10, 33, 46].

У жителей стран Азии, Африки, Южной Америки 80–90% всех паразитарных заболеваний составляют амебные абсцессы печени, что связано с эпидемиологическими и культурными особенностями данных регионов (высокая среднегодовая температура окружающей среды, употребление в пищу сырой воды, продуктов, низкий социальный уровень жизни) [10, 76, 109, 112, 124].

Сепсис как причина абсцессов печени составляет около 10 % случаев [11, 78, 81].

В 18% случаев абсцессы считают криптогенными [10, 11, 71, 81].

По данным большинства клиник, одиночные и множественные абсцессы встречаются с одинаковой частотой, преимущественно в правой доле печени (около 65 %), в обеих долях в 30 % случаев [4, 11, 78, 82]. Одиночные очаги чаще обнаруживаются в печени при неустановленной этиологии, тогда как холангиогенные абсцессы с большей вероятностью оказываются множественными [10-13]. Среди больных, в основном, преобладают мужчины [10, 11, 12, 13, 78, 82].

Исследование видового состава бактерий выявило, что в структуре заболевания преобладают аэробы *Escherichia coli* и *Klebsiella spp* [4, 11, 52, 109]. В случае холангиогенных абсцессов печени высеваются анаэробы - *Bacteroides fragilis*, также удаётся выделить *Bacteroides spp.* [11, 50, 109]. У больных с криптогенными абсцессами печени в основном (88 %) встречаются *K. Pneumoniae*

[10, 11]. В ассоциативной аэробной микрофлоре чаще выявляются представители грамотрицательных бактерий (семейство Enterobacteriaceae и Proteus). В некоторых случаях роста микроорганизмов не обнаруживается [50]. Раннее начало применения эффективных антибактериальных препаратов обуславливает высокую частоту стерильных посевов крови и отделяемого абсцессов. По данным различных исследований, бактериемию выявляют у 38–57 % больных с абсцессами печени [4, 10, 11].

## 1.2. Лечение абсцессов печени

Впервые анатомия печени была описана еще 2000 лет до нашей эры в древнем Вавилоне. Гиппократ также понимал всю серьезность повреждений печени и описывал их в своих работах. В 1654 году Фрэнсис Глиссон впервые детально описал анатомическое расположение кровеносных сосудов печени. Первые простейшие оперативные вмешательства на печени выполнялись в случае эвентрации печени при проникающих ранениях брюшной полости. Первый зарегистрированный случай частичной гепатэктомии приписывается Verta, который выполнил ампутацию выступающей части печени пациенту с колотой раной в 1716 г. [111].

Абсцесс печени впервые был описан за 400 лет до н.э Гиппократом. Еще тогда он предположил, что имеется зависимость между характером содержимого абсцесса и тяжестью течения болезни. В начале XIX века Bright впервые высказал идею о возможности формирования абсцессов печени при инфицировании амебиазом, а в 1890 г. данную гипотезу подтвердил Osler, который первый обнаружил амеб в абсцессе печени и каловых массах у одного и того же пациента. Dieulafoy и Fitz среди различных этиологических факторов формирования абсцессов печени также рассматривали наличие нагноительных болезней органов брюшной полости. В 30х годах прошлого века, когда антибактериальные препараты еще не были синтезированы, поздно диагностированный деструктивный аппендицит являлся главной причиной развития

пилефлебических абсцессов печени. Для описания множественных гнойников печени при перфоративном аппендиците, осложненном пилефлебитом, был предложен термин “La foie appendiculaire”. В 1926 г. впервые описан пилефлебический абсцесс печени у больного дивертикулитом толстой кишки. В 1903 г. Rogers отметил связь между гнойным холангитом, обструкцией желчных протоков и гнойниками печени [4, 10, 11, 12, 13, 109].

Историю диагностики и лечения абсцессов печени с определенной долей условности можно разделить на два этапа: I-й – операционное вскрытие и дренирование абсцессов печени путем лапаротомии или применения внебрюшинного доступа; II-й – пункция и лечение абсцессов под контролем УЗИ или КТ с использованием чрескожного чреспечёночного доступа. С момента зарождения хирургии и до 1980 г основным методом лечения абсцессов печени считалось вскрытие инфицированной полости оперативным путем и ее дренирование. В 1938 году коллектив исследователей под руководством Ochsner впервые в современной хирургической практике сообщил о группе пациентов с абсцессами печени, которым было выполнено дренирование полости абсцесса с использованием хирургических методов. В исследование было включено 47 пациентов, выживаемость составила 67%. До проведения операции определялась область на поверхности тела, где расстояние до абсцесса было наименьшим, после чего проводилось вскрытие, санация, тампонирование и дренирование инфицированной полости. Виды оперативных доступов подробно описаны в литературе. При локализации абсцесса на диафрагмальной поверхности применялся чресплевральный доступ, при локализации ближе к висцеральной поверхности – лапаротомный. Однако, проведенное полноценное лечение нередко приводило к гибели пациента от прогрессирования и осложнений гнойного процесса ввиду отсутствия системной антибактериальной терапии, высокой частоты множественности абсцессов печени, большого количества запущенных случаев. Поэтому появление антибактериальной терапии сразу же

стало основой современного лечения абсцессов печени в сочетании с хирургическим дренированием [79, 80, 88, 94, 97, 110, 115, 121, 126].

На сегодняшний день благодаря широкому внедрению в современную медицину достижений фармакологии, химии, микробиологии, кибернетики и техники был разработан ряд эффективных способов воздействия на воспалительные очаги печени, что значительно улучшило результаты лечения пациентов [8, 60]. Первый опыт миниинвазивного лечения абсцесса печени был представлен McFadzean и соавторами в 1953 году. Они доложили о группе из 14 пациентов, которым было выполнено чрескожное дренирование абсцессов печени, при этом летальные исходы в группе отсутствовали. Несмотря на это, широкое распространение чрескожное дренирование получило только после 1980 г., когда появились новые доклады об успешном лечении абсцессов печени данным способом [9, 38, 55, 57, 58, 59].

Внедрение в клиническую практику методов УЗИ (США, 1960-е годы) и КТ (1970-е) не только дало новый толчок развитию диагностики абсцессов печени, но и изменило общепринятые подходы к лечению, благодаря более широкому применению закрытых методов путем одно- или многократных чрескожных пункций и дренирования абсцессов под контролем УЗИ или КТ, что явилось альтернативой полостному вмешательству [15, 23, 54, 89, 90, 111, 115].

В настоящее время в лечении гнойников печени применяют консервативные и оперативные методы лечения.

После установки диагноза абсцесса печени немедленно начинается медикаментозная терапия комбинацией антибактериальных препаратов и перекрытием спектра наиболее вероятных возбудителей (цефтриаксон или ципрофлоксацин в комбинации с метронидазолом). Коррекция антибактериальной терапии проводится с учетом чувствительности к антибиотикам [5, 50].

В некоторых случаях в лечении абсцессов печени достаточно назначения только консервативной антибактериальной терапии без последующего оперативного лечения. Данная тактика лечения возможна, если размеры гнойников не превышают 15-30 мм. Чаще всего такие абсцессы являются холангиогенными, поэтому назначение антибактериальной терапии должно сопровождаться восстановлением проходимости желчных протоков. Выявление положительной клинической и лабораторно-инструментальной динамики через несколько дней после начала консервативной терапии позволяет воздержаться от оперативного вмешательства и продолжить назначенную антибактериальную терапию [8, 10, 11, 12, 13, 60]. По данным различных авторов, длительность антибактериальной терапии в среднем составляет 16 дней.

При подозрении на инфицирование *Entamoeba histolytica* в протокол лечения включают препараты группы имидазола, наибольшее распространение получил метронидазол. При наличии инфицирования эхинококковой кисты показано лечение противогельминтными препаратами: альбендазол, мебендазол [37, 76].

Препараты дезинтоксикационного действия и средства для улучшения функции печени должны входить в схемы сопутствующей медикаментозной терапии. Кроме того, она должна носить посиндромный характер [16, 19, 25, 27, 64, 65, 68, 70, 74, 77]. До недавнего времени они не входили в обязательном порядке в протоколы лечения пациентов с абсцессами печени. Однако, многие авторы считают, что применение гепатопротекторов достоверно улучшает результаты лечения пациентов в случае появления признаков печеночной недостаточности.

Для введения препаратов наиболее часто используется внутривенный путь через центральную или периферическую вены. Широкое применение нашли также новые способы введения фармакологических препаратов, направленные на создание максимальной концентрации действующего вещества в печени.

Довольно часто и успешно с этой целью применяют регионарные внутриартериальные и внутрипортальные инфузии путем предварительной рентгено-эндоваскулярной катетеризации чревного ствола через бедренную артерию или катетеризации ветвей воротной вены через пупочную вену.

Другими методами, применяемыми при выраженной печеночно-клеточной недостаточности на фоне абсцесса печени, являются методы гравитационной хирургии, такие как экстракорпоральная мембранная и гипербарическая оксигенации, гемосорбция, озонотерапия, плазмаферез. Как правило, данные методы не могут быть самостоятельными, но их включение в комплексную терапию улучшает результаты лечения [30, 32, 41, 47, 51, 63].

Ультрафиолетовое облучение крови (УФОК) широко используется в комплексном лечении больных с гнойно-воспалительными заболеваниями [44]. При бактериальных абсцессах печени отмечается активация перекисного окисления липидов и угнетение антиоксидантной системы, что проявляется повышением уровня диеновых конъюгат, малонового диальдегида сыворотки, снижением активности каталазы и уровня токоферола. Установлено положительное влияние ультрафиолетового облучения крови на показатели системы «перекисное окисление липидов/антиоксидантная система», а именно снижение содержания в крови продуктов перекисного окисления липидов — конечного (малонового диальдегида) и промежуточных (диеновых конъюгат), повышение активности фермента антиоксидантной системы каталазы и уровня токоферола сыворотки [45]. Также известно, что УФОК увеличивает кислородную емкость крови и улучшает оксигенацию органов и тканей [44]. Поэтому включение ультрафиолетового облучения крови в комплекс лечебных мероприятий при бактериальных абсцессах печени патогенетически обосновано и клинически перспективно [45].

При размерах патологического очага более 15-30 мм и исключении его паразитарного происхождения показано хирургическое вмешательство.

Среди хирургических методов лечения выделяют:

1. Чрескожные методы лечения абсцессов печени;
2. Открытое хирургическое вмешательство.

На настоящем этапе развития лечения абсцессов печени малоинвазивные вмешательства под ультразвуковым или КТ-контролем в сочетании с системной антибактериальной терапией являются основополагающим способом лечения больных. Преимуществами метода являются малая травматичность, относительная безопасность, быстрота исполнения, более лёгкая переносимость истощёнными пациентами и пациентами с сепсисом (открытые операции на фоне холангиогенного сепсиса сопровождаются летальностью до 40 % [10, 55, 57, 58]), отсутствие необходимости в наркозе, экономический и косметический эффект, большая точность дренирования и возможность перемещения дренажа при изменении размеров гнойника. Применение малоинвазивных технологий уменьшает вероятность таких осложнений, как инфицирование брюшной полости, нагноение послеоперационных ран, эвентрация, послеоперационные грыжи, послеоперационная спаечная болезнь, гипостатическая пневмония и тромбоэмболия легочной артерии [56, 120].

После устранения первичного очага инфекции (ликвидация холангита, острого холецистита, острого панкреатита, гнойного дивертикулита) и при отсутствии секвестров в полости абсцесса высокую эффективность лечения показывают чрескожные методы лечения. Пункции наиболее эффективны при размерах абсцессов печени менее 80 мм, а дренирования - 120 мм [10, 11, 12, 13, 52].

При выполнении пункции абсцесса печени под контролем УЗИ или КТ без дренирования выполняют аспирацию содержимого абсцесса, далее полость промывают раствором антисептика. При этом не всем больным бывает достаточно одной пункции для санации полости абсцесса и достижения эффекта

выздоровления. Многим пациентам производятся повторные пункции, по данным литературы, максимальное количество которых у одной больной было 12 [13]. Показаниями к повторной пункции являются сохранение прежних размеров гнояника при динамическом контроле через 2–3 дня после первой пункции и сохраняющиеся клинические проявления заболевания [3, 24]. Средний срок пребывания в стационаре этой группы больных составляет 19,4 дня (от 5 до 78 дней) [13].

Если размеры абсцесса печени более 80 мм, чрескожную пункцию дополняют дренированием полости абсцесса. При этом используют методику «стиллет-катетер», которая обеспечивает соответствие диаметра дренажа пункционному каналу, что профилактирует подтекание содержимого гнояника в брюшную полость. Также избирают безопасное акустическое окно, не затрагивающее крупные кровеносные сосуды и желчные протоки, кратчайший доступ не считается обязательным условием. Стремятся найти доступ, при котором дренаж до проведения в полость абсцесса проходит не менее 2–3 см здоровой ткани печени во избежание подтекания содержимого в свободную брюшную полость. Использование доплерографических режимов способствует оптимизации ультразвукового контроля: позволяет визуализировать значимые кровеносные сосуды, контролировать перемещение дренажа и отток содержимого [3, 10, 52]. Если абсцесс расположен глубоко или имеет тесный контакт с жизненно важными анатомическими структурами, то применение находят дренажи по типу «свиной хвост» ("Pigtail") (2 мм) [3, 4].

Устройство типа "Pigtail" представляет собой стерильный, тонкий, длинный катетер универсального назначения, который при введении и настройке медицинским работником образует форму свиного хвоста, отсюда и характерное наименование устройства. Наконечник катетера такого типа оснащен несколькими отверстиями, что способствует интенсификации процесса дренажа. Форма "свиного хвоста" придается другому концу катетера путем вытягивания с

небольшим усилием тонкого шнура из свободного конца катетера; при этом шнур первоначально обмотан вокруг конца катетера и удерживается на своем месте при помощи стопорного механизма (упора). Спиральный конец катетера помогает удерживать катетер на его посадочном месте, а также может быть использован для замедления скорости потока жидкостей, вводимых через катетер, благодаря чему жидкости не вырываются наружу под давлением, не травмируют пациента и не закрывают область проведения лучевых (оптических) исследований.

Хирургическая дренажная трубка типа "Pigtail" представляет собой определенный тип центрального венозного катетера, единственной целью применения которого является удаление нежелательных количеств биологических жидкостей из какого-либо органа, протока или абсцесса. Применение катетера позволяет предотвратить процесс скапливания жидкости, в результате которого пациент начинает ощущать боль вследствие повышения давления внутри определенного органа. Катетер может быть подключен к пакету, в который осуществляется сбор жидкости. В результате выполнения процедуры сбора жидкости улучшается общее санитарное состояние, медицинские работники получают возможность осуществления измерений объемов выделяющихся жидкостей, а также, при необходимости, сбора образцов жидкостей для проведения анализов [4, 10, 11, 12, 13].

Большие и гигантские абсцессы дренируются с использованием корзинчатых дренажей (3 и 5 мм), одновременное применение которых в количестве 2–3 позволяет создать ирригационно-эвакуационную систему [3, 24, 56, 120].

После установки дренажа пациент в течение 1 часа находится под наблюдением, после чего выполняется контрольное УЗИ [33].

Пациентам ежедневно производится УЗИ для контроля редукции полости абсцесса. В случае дренирования абсцесса производится ежедневная санация его

полости растворами антисептиков, также возможно введение в полость абсцесса антибиотиков 1 раз в день. Последнее производится и при аспирационном методе лечения после каждой аспирации содержимого абсцесса. Нормализация температуры тела и клинического анализа крови, отсутствие отделяемого по дренажу, отрицательные результаты бактериологического исследования и спадение полости абсцесса являются критериями для удаления дренажа [24, 56, 120]. Контракция полости зависит от наличия или отсутствия капсулы абсцесса: при несформированных его стенках период редукции полости, по данным литературы, составляет  $12,3 \pm 3,7$  суток, при сформированных –  $17 \pm 4,1$  суток. Средняя продолжительность дренирования абсцессов печени составляет  $15,1 \pm 5,4$  суток [56]. Средняя продолжительность пребывания больного в стационаре составляет  $21,8 \pm 1,7$  суток [4].

При выполнении чрескожных вмешательств возможно развитие осложнений. По данным литературы, чрескожное вмешательство осложнялось развитием внутрибрюшного кровотечения, желчеистечения, абсцессов брюшной полости, экссудативного плеврита, пневмонии. После пункционного дренирования отмечались летальные исходы в связи с массивной тромбоэмболией легочной артерии. Тем не менее, осложнения при пункционном дренировании абсцессов под УЗ-контролем возникают в 3 раза реже, чем при открытых операциях. [10, 52].

Проведению пункционного лечения препятствуют множественное поражение печени, неудобная локализация одиночных очагов, сочетание с другими патологическими процессами в брюшной полости: межпечельными, поддиафрагмальными, забрюшинными абсцессами, абсцессами малого таза, холециститом, аппендицитом, гнойным воспалением придатков [4].

Холангитические абсцессы печени требуют восстановления проходимости желчевыводящих путей путем наложения различных видов билиодегистивных анастомозов, стентированием общего желчного протока, ЭРХПГ с

папиллосфинктеротомией и удалением конкремента из общего желчного протока, назобилиарным дренированием и т. д. [13, 61, 91].

При абсцессах печени размерами  $>120$  мм, наличии секвестров, а также при деструкции целой доли печени показано применение лапаротомного доступа с проведением открытой санации и дренирования воспалительного очага в печени [10, 13, 52]. Также показанием к лапаротомии служат такие осложнения, как прорыв абсцесса печени в брюшную полость, аррозивное кровотечение из полости абсцесса, абсцессы травматического или иного генеза, сопровождающиеся образованием крупных секвестров, которые не возможно удалить при малоинвазивном вмешательстве. Хронические абсцессы печени больших размеров, соответствующие доле печени, особенно при наличии толстой ригидной стенки обычно полностью не спадаются после пункционного дренирования. Это служит фактором риска развития рецидивов. Если эффекта от проводимого лечения не наступает, то проводят резекцию печени [60].

После лапаротомии выполняют ревизию брюшной полости и забрюшинного пространства, вскрытие и дренирование гнойника печени. Также одним из методов хирургического лечения абсцессов печени является выполнение анатомических и атипичных резекций. Зачастую такие операции сочетают с другими вмешательствами (аднексэктомия, аппендэктомия, вскрытие абсцессов брюшной полости и малого таза, забрюшинного пространства, мягких тканей, холецистэктомия с наружным дренированием общего желчного протока).

При локализации абсцесса на висцеральной поверхности печени используют абдоминальные доступы: по Федорову, по Кохеру, верхнюю срединную лапаротомию. Если абсцесс локализуется на диафрагмальной поверхности, применяют лапаротомные доступы. Оперативное вмешательство - пунктирование полости абсцесса, эвакуация экссудата, санация антисептическими растворами, дренирование. В послеоперационном периоде осуществляют

программированное промывание остаточной полости антисептическим раствором [81].

В послеоперационном периоде также возможно развитие осложнений: подтекание желчи в брюшную полость, внутрибрюшное кровотечение из полости вскрытого абсцесса, свищ двенадцатиперстной кишки, спаечная кишечная непроходимость, холангит. В связи с этим требуется выполнение релапаротомий. Тяжесть состояния и сопутствующая патология органов брюшной полости определяет высокую частоту послеоперационных осложнений. По данным J. A. Alvarez Pérez et al., летальность при лечении больных множественными абсцессами печени открытым хирургическим способом либо пункционным дренированием остается примерно одинаковой и составляет 20–22 %. [4].

Следует особо остановиться на крупных хронических абсцессах с толстой ригидной капсулой, особенно если они являются осложнением других очаговых заболеваний печени (альвеококкоз, эхинококкоз печени, доброкачественные и злокачественные опухоли печени). При данных заболеваниях методом выбора будет радикальная резекция печени, дабы исключить вероятность развития рецидива заболевания. Однако это удаётся выполнить не всегда. В случае распространения патологического процесса на важные анатомические структуры печени (элементы ворот, нижняя полая вена и т.д.) необходимо выполнить как можно большее удаление патологического очага, а на оставшуюся нерезектабельную часть воздействовать интраоперационно с целью разрушения. Среди применяемых в настоящее время и наиболее доступных методов деструкции можно выделить следующие:

Электрокоагуляция. Механизм действия электрокоагулятора основан на генерации высокочастотного электрического тока, который провоцирует мгновенное испарение внутриклеточной жидкости в месте контакта активного электрода с тканью. Однако, довольно быстро были выявлены побочные эффекты

данного метода. Наиболее значимым оказалось повреждающее действие на ткани в зоне воздействия с формированием ожогового струпа глубиной около 5 мм с возможным его отслоением и развитием кровотечения. Появлению внутренних ожогов, повреждению сосудов и нервных окончаний способствует действие токов, проводимых через обратный электрод. Также к осложнениям относят формирование грубого рубца и спаечный процесс, что приводит к нарушению функции органа. Таким образом, электрокоагуляция сопровождается нанесением организму электротравмы со всеми вытекающими последствиями. [42, 43, 66, 87, 95, 99, 100].

Аргоноплазменная коагуляция. Электрохирургический метод аргонноплазменной коагуляции (Argon Plasma Coagulation – APC) в последние годы все шире и успешнее применяется для девитализации аномальных тканей. Механизм действия APC базируется на воздействии на ткани высокочастотного тока через ионизированную аргоновую плазму. Благодаря надежному гемостазу, равномерной коагуляции обширных участков тканей и возможности регулировать глубину проникновения термического эффекта аргонноплазменная коагуляция не дает осложнений и отмечается высокой эффективностью. Так как воздействие осуществляется без непосредственного контакта, вероятность прилипания наконечника APC-инструмента исключена. Глубина коагуляции достигает 1–2 мм. Длительность экспозиции на 1 единицу площади составляет 2–3 с. В результате монополярной аргонусиленной коагуляции формируется прочный струп, что снижает риск развития поздних послеоперационных кровотечений. Однако, аргонноплазменная коагуляция имеет и недостатки: сложность эксплуатации комплекса, необходимость охлаждения плазматрона проточной водой с высокой степенью очистки, заправка баллонов дефицитным рабочим газом (аргоном или гелием) [22, 34, 75, 127].

Криодеструкция. Активное развитие методов криохирургии берёт свое начало в XX в. В роли хладоагента в криодеструкторах выступают твердая

углекислота, фреоны, жидкий азот [7]. Профессор Б.И. Альперович с учениками и коллегами внесли неоценимый вклад в становление криохирургии паренхиматозных органов. Криоультразвуковой скальпель, инновационный проект Б.И. Альперовича, Л.М. Парамоновой и сотрудников Сибирского физико-технического института (г. Томск), явился одной из актуальнейших разработок коллектива. Несмотря на формирование устойчивого гемостаза на капиллярном уровне, криоультразвуковой скальпель, однако, имел ряд недостатков. Результатом продолжающихся работ в данной области явилось создание криовиброскальпеля (авторы Б.И. Альперович, Л.М. Парамонова, А.И. Парамонов). В противопоставление криоультразвуковому скальпелю, ультразвуковые колебания которого приводили к избыточному повышению температуры инструмента, криовиброскальпель был лишен этих технических недостатков (Альперович Б.И. 2010). Криоультразвуковой и криовиброскальпели обеспечивают возможность симультанного механического разъединения тканей, в сочетании с гипотермическим воздействием. Срок апробации данных методик Б.И. Альперовичем (2006) составил более 30 лет, с их помощью было выполнено более 500 операций гепатологического профиля при различных формах патологии. В Гепатологическом центре ОГАУЗ ГКБ №3 г. Томска используется методика, при которой жидкий азот подводится к стенке абсцесса для её последующей криодеструкции с помощью специальных криозондов. При этом мощностной ресурс и время экспозиции определяют глубину «промораживания» тканей. Это позволяет индивидуально подходить к объёму каждого оперативного вмешательства и уменьшить повреждение окружающей печёночной паренхимы [5, 6, 7, 76].

Метод воздействия «неравновесной плазмой». Еще в первой половине XX века был введен термин «плазма» был использован И. Лэнгмюром применительно к медицине (Compton К.Т., 1930). Плазма это четвертое агрегатное состояние вещества, которое представлено смесью электронов, ионов и нейтральных частиц. «Неравновесная плазма» («холодная плазма») имеет низкую температуру, которая

составляет в среднем 45-50 °С вследствие малой энергии частиц, образующих плазменный пучок. «Плазма» находит обширное применение в промышленности и физических науках, применение же в сфере медицины до сих пор крайне ограничено, однако в настоящее время существует положительная тенденция относительно её использования в данной отрасли [72]. Активные химические реагенты ( $O_3$ , NO, HO,  $H_2O_2$ , атомарный кислород и другие), входящие в состав «плазмы» оказывают основное лечебное действие. Обуславливая снижение тонуса сосудистой стенки, принимая активное участие в системе гемостаза, принимая участие в формировании иммунного ответа, оксид азота (II) является важным биологически активным соединением, обладая, в том числе, антимикробными и противоопухолевыми свойствами [108, 113, 114, 117, 118, 122, 125, 128, 132, 134]. Хорошо зарекомендовала себя NO-терапия в случае гнойного воспаления придатков матки. Окись азота эффективно используется при лечении псориаза, экзем, дерматитов и других кожных болезней [119]. В отдельных работах экспериментально подтверждено влияние барьерного разряда на гемостаз [104, 105]. В настоящее время разработано несколько типов аппаратов, генерирующих «неравновесную плазму». Одним из подобных аппаратов, образующих «плазму», является хорошо известный в России аппарат «Plazon», разработанный в Московском государственном техническом университете им. Н.Е. Баумана в 1998 г. Однако, основным его отличием является то, что он вырабатывает «высокотемпературную плазму», а затем в специальной охлаждающей камере её температура снижается, приводя к потере активных элементов. Аппарат «Источник холодной плазмы-1» (ИХП-1), разработанный в Томском политехническом университете (г. Томск), создаёт на конце коагулирующего электрода низкотемпературную (45-50°С) «неравновесную плазму». Его основные эффекты достигаются за счет воздействия на зону обработки озоном, HO,  $H_2O_2$  и другими возникающими в результате барьерного разряда активными химическими реагентами. Главным положительным эффектом «неравновесной плазмы» является отсутствие термического повреждения

обрабатываемых тканей. Поэтому «неравновесную плазму» можно использовать при лечении абсцессов печени с целью обработки внутренней стенки гнойника при оперативных вмешательствах.

### 1.3. Заключение

Таким образом, больные с абсцессами печени требуют различных подходов к тактике ведения в зависимости от размеров и локализации.

Если размеры абсцессов не превышают 15-30 мм, возможно обойтись консервативной антибактериальной терапией.

При поверхностном расположении и размерах до 40-80 мм, достоверно установленных при комплексном обследовании, показана пункция и санация полости под контроле ультразвука с последующей поэтапной антибактериальной и противовоспалительной терапией.

При размерах абсцесса 80-120 мм после выполнения чрескожной пункции абсцесса показана постановка дренажа в полость гнойника для ежедневной санации и эвакуации содержимого.

Резекция печени показана при множественных абсцессах печени в пределах одной анатомической области и крупных абсцессах, занимающих всю анатомическую область печени [10, 13, 50].

При наличии крупных хронических абсцессов с толстой ригидной капсулой, особенно если они являются осложнением других очаговых заболеваний печени (альвеококкоз, эхинококкоз печени, доброкачественные и злокачественные опухоли печени), и невозможности выполнения радикальной резекции печени (в случае распространения патологического процесса на важные анатомические образования) необходимо выполнить по возможности большее удаление патологического очага, а на оставшуюся нерезектабельную часть воздействовать интраоперационно с целью девитализации.

Раннее и систематическое проведение УЗИ-контроля с ежедневной санацией являются важным этапом лечебной тактики, который во многом определяет характер и длительность послеоперационного периода [4, 50].

Нельзя противопоставлять оперативный и малоинвазивный методы лечения данной патологии, потому что для каждого метода существуют свои показания. Длительность пребывания в стационаре больных, леченных оперативным и малоинвазивным методами, существенно не отличается [10, 13].

## Глава 2

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящая работа носит экспериментальный характер и посвящена изучению влияния «неравновесной плазмы» на ткань печени в условиях развития гнойного воспаления. Её важным аспектом является изучение влияния «неравновесной плазмы» на жизнеспособность клеток печени.

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. В общей сложности прооперировано 85 животных. Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986) и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (приказ 755 от 12.08.1977 МЗ СССР). До начала эксперимента животных выдерживали на протяжении 2х-недельного карантина в условиях вивария с учётом требований к их содержанию. Животные находились в стационарных условиях вивария на специализированном брикетном вскармливании с добавлением овощей, зерновых, сена и молочной продукции. Производили дозированное освещение (12:12, свет с 08:00 часов). В одной клетке содержали по три крысы. Ежедневно у всех животных оценивали общее состояние и течение послеоперационного периода. Все данные заносили в дневник.

Критерии отбора популяции.

Критерии включения:

Эксперименты выполнены на здоровых лабораторных крысах самцах линии Вистар массой 200–220 г, ранее не участвовавших в других исследованиях.

Критерии исключения:

В случае гибели животного до назначенной временной точки данное обстоятельство фиксировалось, однако забор биологического материала для исследований у данного животного не производился.

Исследование проведено в несколько этапов (Таблица 1).

На первом этапе изучено влияние «неравновесной плазмы» 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.

Технологии контроля:

1. Плацебо-контроль – оперативное вмешательство без какого-либо воздействия на печень.
2. Активный контроль – оперативное вмешательство и воздействие на паренхиму печени низкими температурами.

Оперативный приём в каждой группе заключался в следующем: экспериментальное животное вводят в наркоз, анестезию проводили ингаляционным путём аппаратом E-Z Anesthesia препаратом Форан (Рисунок 1, 2).

Таблица 1. Схема эксперимента

Этапы исследования	Группа	Количество животных				Итого количество животных
I. Исследование влияния «неравновесной плазмы» на жизнеспособность клеток здоровой печени	Плацебо-контроль	5				15
	Активный контроль	5				
	Экспериментальная группа	5				
II. Отработка модели получения абсцесса печени		10				10
III. Исследование влияния «неравновесной плазмы» на ткань печени в условиях гнойного воспаления	Группа \ Сутки	1 сутки	5 сутки	15 сутки	30 сутки	60
	Плацебо-контроль	5	5	5	5	
	Активный контроль	5	5	5	5	
	Экспериментальная группа	5	5	5	5	
ИТОГО:						85



Рисунок 1. Аппарат для проведения ингаляционного наркоза E-Z Anesthesia



Рисунок 2. Масочный ингаляционный наркоз

Далее осуществляли доступ к печени путём верхнесрединной лапаротомии с последующим выведением доли печени в рану. Затем производили соответствующую обработку поверхности печени в зависимости от групп исследования:

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  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 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 CO<sub>2</sub>-асфиксии в специализированной камере. Животное помещалось в герметизированную камеру, наполненную углекислым газом (CO<sub>2</sub>), 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: осуществляли фиксирование в 10% нейтральном формалине, обезвоживали в 8 порциях изопропилового спирта, далее заливали в парафин по стандартной методике (Меркулов Г.А. 1954). Срезы толщиной 5-7 мкм получали при помощи ротационного микротома Accu-Cut®SRM™200 (Sakura, Япония). Обзорную микроскопию и морфометрию осуществляли на микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Для анализа выраженности фиброза использовали окраску пикрофуксином по Ван-Гизону (Лилли Р., Меркулов Г.А. 1969). Полученные препараты изучали с использованием бинокулярного светового микроскопа Carl Zeiss Axioskop 40 FL. При обзорной световой микроскопии оценивали воспалительные, регенераторные, дисрегенераторные (пролиферация, гиперплазия), фиброзные процессы. С помощью цифровой фотокамеры Canon Power Shot G10 производили съемку гистологических препаратов (7-10 случайных полей зрения для каждого среза).

Второй этап включал в себя отработку модели получения абсцесса печени на животных согласно патенту (М.А. Нартайлаков, А.Х. Мустафин, Х.Х. Мурзабаев и др.) на изобретение № 2318248 [84]. Объектами исследования

являлись 10 экспериментальных животных. Модель исследования – исследование в одной группе.

Абсцесс печени моделировали следующим образом:

Экспериментальное животное вводят в наркоз. Анестезию проводят ингаляционным путём аппаратом E-Z Anesthesia препаратом Форан. Затем осуществляют верхнесрединную лапаротомию. В толщу печени через периферический внутривенный катетер 18G вводят 2 мл 70% раствора этилового спирта. Далее лапаротомную рану ушивают с фиксацией катетера к коже (Рисунок 3).



Рисунок 3. Установленный в толщу паренхимы печени катетер

Через сутки выполняют повторное введение животного в наркоз, вскрытие ушитой лапаротомной раны, под визуальным контролем в установленный в паренхиме печени катетер вводят взвесь стафилококков в концентрации  $2,0 \times 10^6$  КОЕ в 1,0 мл, после катетер извлекают, лапаротомную рану ушивают наглухо. Наличие некробиотических изменений печени, возникающих после введения спирта в паренхиму, создает благоприятные условия для инфицирования и, в последующем, формирования абсцесса печени [21, 83, 84].

Для создания модели стафилококковой инфекции использовали штамм *S. aureus* ATCC 6538-P. Штамм был получен из коллекции ГИСК им. Л.А.Тарасевича (г. Москва). Суточную агаровую культуру (18 ч, 37°C) бактерий *S. aureus* ATCC 6538-P смывали стерильным 0,9% раствором натрия хлорида с поверхности скошенного агара и приготавливали взвесь микроорганизмов в концентрации  $2,0 \times 10^9$  КОЕ/мл (что соответствует 20 Единицам по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-84-2016). Затем приготовленную микробную взвесь разводили в 100 раз на питательном бульоне (ГМФ-бульон или бульон на основе гидролизата мясного ферментативного, НИЦФ, г. Санкт-Петербург), после чего концентрация микроорганизмов в ней составила  $2,0 \times 10^6$  КОЕ/мл. Приготовленную бактериальную взвесь использовали в течение 30 минут.

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.

Технологии контроля:

1. Плацебо-контроль – оперативное вмешательство без какого-либо воздействия на стенку абсцесса.
2. Активный контроль – оперативное вмешательство и воздействие на стенку абсцесса низкими температурами.

Оперативный приём в каждой группе заключался в следующем: анестезию проводили ингаляционным путём аппаратом E-Z Anesthesia препаратом 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 (Ethicon, Шотландия), затем накладывали асептическую повязку.

В каждой экспериментальной группе после вскрытия абсцесса печени и эвакуации гнойного содержимого выполняли соответствующее воздействие на стенку абсцесса:

1. Группа плацебо (n=20). Промывание полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl (Рисунок 4).



Рисунок 4. Полость абсцесса печени крыс после промывания 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 из никелида титана к стенке абсцесса подводился жидкий азот (температура  $-196^{\circ}\text{C}$ ), воздействие осуществлялось в течение 1 мин. (Рисунок 5, 6).



Рисунок 5. Специальный криозонд для подведения жидкого азота

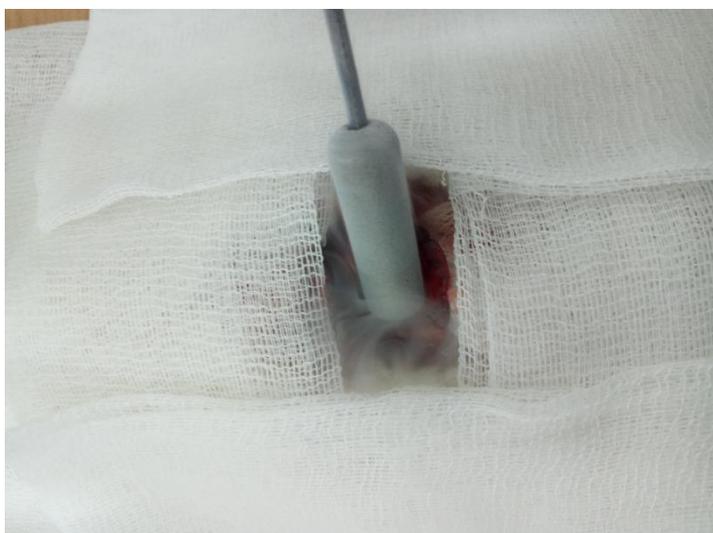


Рисунок 6. Криодеструкция стенки абсцесса печени крыс

3. Экспериментальная группа (n=20). Промывание полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl, воздействие на стенку абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1» в течение 1 мин. (Рисунок 7, 8).



Рисунок 7. Воздействие на стенку абсцесса печени «неравновесной плазмой»



Рисунок 8. Полость абсцесса печени крыс после воздействия «неравновесной плазмой». Обработанная поверхность указана стрелкой

Выведение животных из эксперимента в каждой группе осуществлялось на 1, 5, 15 и 30 сутки при помощи  $\text{CO}_2$ -асфиксии в специальной 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 (режим доступа <https://www.rsb.info.nih.gov/ij/>). За единицу измерения принимали 1 мм<sup>2</sup> ткани печени. С помощью метода точечного счета Автандилова (Автандилов Г.Г., 2002) с использованием Plugins «Grid» в биоптатах подсчитывали удельные объемы следующих структур: удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии (мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>), удельный объем двуядерных гепатоцитов (мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>), удельный объем соединительной ткани (мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>), удельный объем сосудов (мм<sup>3</sup>/мм<sup>3</sup>) (Автандилов Г.Г., 2002; Автандилов Г.Г., 2006; Гуцол А.А., 2006). При помощи Plugins «Cell» программы ImageJ на 1 мм<sup>2</sup> 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 следующим образом: после СО<sub>2</sub>-асфиксии вскрывали переднюю брюшную стенку и стерильным шприцом набирали 5 мл крови из сердца. Для биохимических

исследований кровь набирали в пробирки для исследования и транспортировки (Improvacuter® с активатором свертывания). Пробирки оставляли до спонтанного образования сгустка, затем отделяли сыворотку при помощи центрифугирования при 1000 – 1500 оборотах в течение 10 – 15 минут. Анализ указанных выше биохимических показателей выполняли по стандартной методике на биохимических анализаторах (полуавтоматический анализатор Photometer 5010 v5+ (Riele, Germany)) секции иммунологии ЦНИЛ СибГМУ. Определение активности щелочной фосфатазы, трансаминаз (АСТ, АЛТ), гамма глутамил трансферазы (ГГТ) проводили кинетическим методом, количественное измерение концентрации мочевины – ферментативным двухступенчатым методом, креатинина – кинетически без депротеинизации, общего белка крови – биуретовым методом, глюкозы – ферментативным (глюкозооксидазно – пероксидазным) методом с колориметрическим определением при Hg 540, общего и конъюгированного билирубина – модифицированным методом Йендрассика-Грофа,  $\alpha$ -амилазы – оптимизированным энзиматическим кинетическим методом.

- статистический анализ полученных данных.

Статистическую обработку проводили при помощи пакета программы SPSS. 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  $p < 0,05$ .

Проведенный анализ позволил изучить изменения, возникающие в паренхиме печени под влиянием «неравновесной плазмы» как в здоровом органе, так и в условиях воспалительного процесса.

## Глава 3

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**3.1. 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<sub>2</sub>-асфиксии крыс в специальной 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 (Рисунок 9).

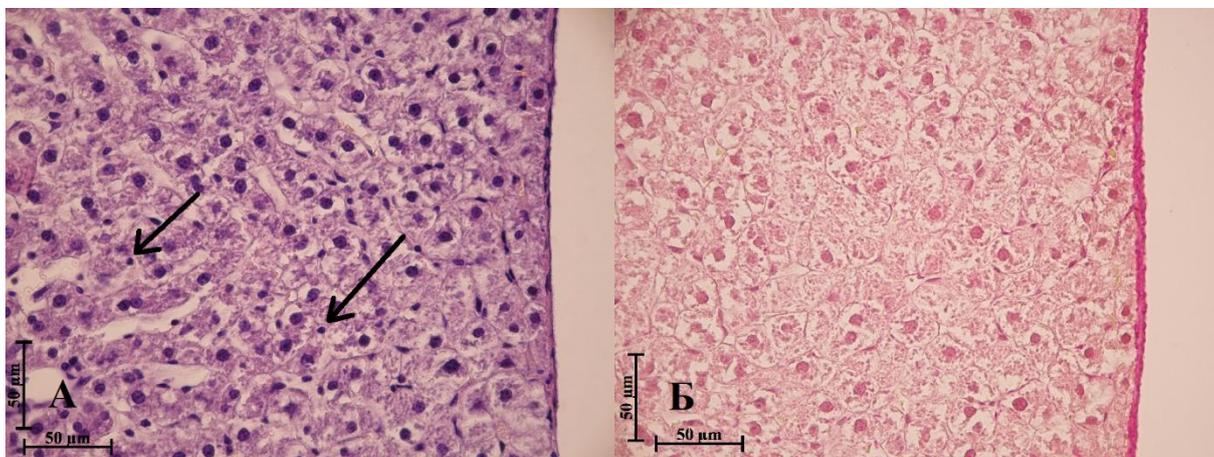


Рисунок 9. Печень крысы из группы контроля (ложно оперированные животные). А) нормальная морфология печени, некоторые синусоиды несколько расширены, единичные лимфоциты (стрелка). Б) коллагеновые волокна в Глиссоновой капсуле. Ув. x400. Окраска: А) гематоксилин-эозин, Б) по Ван-Гизону.

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 (значительная его часть потеряна во время приготовления препарата), слой сильно поврежденных гепатоцитов и далее зона реактивных изменений (Рисунок 10). Слой сильно поврежденных клеток толщиной 800-1000 мкм характеризуется нарушением тинкториальных свойств, отсутствием ядер у части клеток (Рисунок 11А). Так как материал был получен сразу после воздействия фактора, невозможно определить наверняка, но вероятнее всего, данный слой клеток погибнет преимущественно путем некроза.

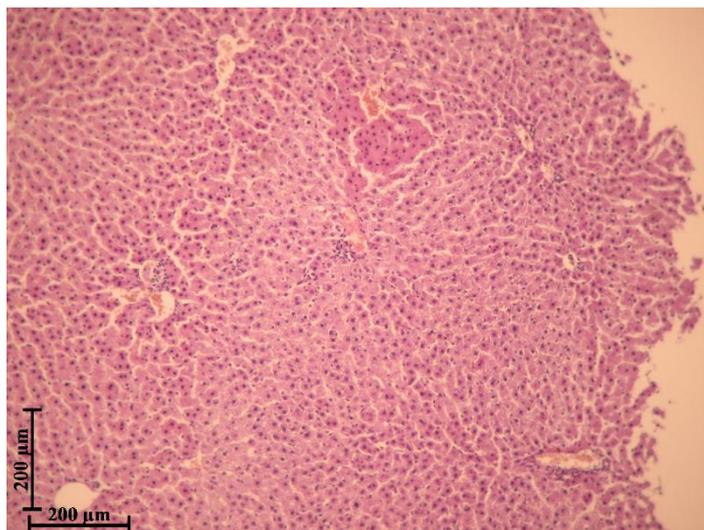


Рисунок 10. Печень крысы после воздействия жидким азотом. Фиброзная оболочка отсутствует, скудный детрит, слой гепатоцитов с нарушением тинкториальных свойств, отчетливая линия, разделяющая поврежденный участок, от неповрежденного (демаркационная). Ув. x100.

Непосредственно слой сильно поврежденных клеток от морфологически менее поврежденных отграничен явно выраженной линией разделения, вероятнее всего, в процессе развития патологических изменений на основе её будет формироваться демаркационная линия (Рисунок 11Б). Непосредственно за данной линией разделения располагаются относительно сохраненные гепатоциты в составе

целостных печеночных пластин и печеночных долек, встречаются единичные гепатоциты с нарушением тинкториальных свойств, а также, как и в группе контроля, некоторые синусоиды расширены, в непосредственной близости к зоне разделения отмечается полнокровие печеночных синусоидов (Рисунок 11Б).

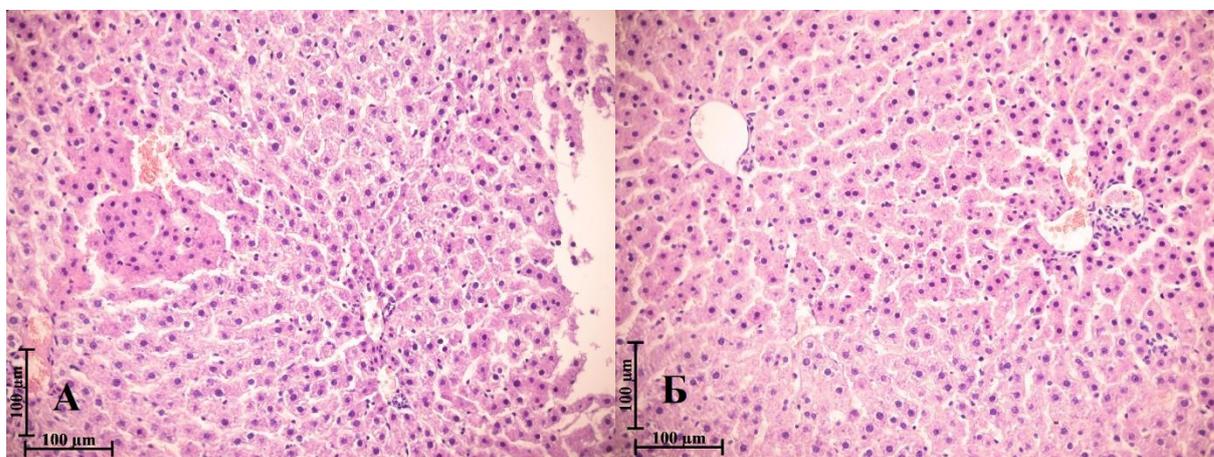


Рисунок 11. Печень крысы после воздействия жидким азотом. А) Зона сильного повреждения гепатоцитов, нарушение тинкториальных свойств, отсутствие ядер у некоторых гепатоцитов. Б) Линия разделения сильно поврежденных клеток от относительно не поврежденных, полнокровие синусоидов. Ув. x200. Окраска: гематоксилин-эозин.

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 (Рисунок 12). 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 (Рисунок 12). Синусоиды расширены и полнокровны на всей толщине повреждения.

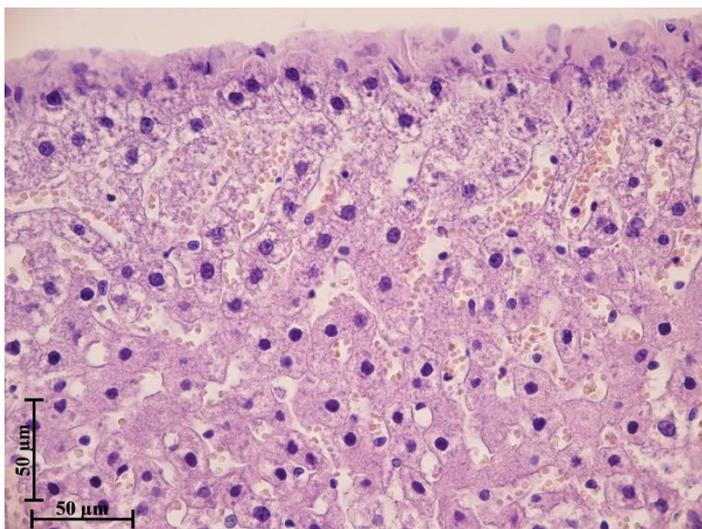


Рисунок 12. Печень крысы после воздействия неравновесной плазмы. Утолщение фиброзной капсулы, нарушение тинкториальных свойств гепатоцитов, уплотнение ядер, синусоиды расширены и полнокровны. Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин.

#### 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.

### **3.2. 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 вызывает местный некроз с формированием полости (Рисунок 13), а введение микрофлоры позволяет ее инфицировать (Рисунок 14).



Рисунок 13. Сутки после введения 2 мл 70% раствора этилового спирта в паренхиму печени



Рисунок 14. Сформированный абсцесс печени крысы

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

#### **3.3.1. Оценка летальности экспериментальных животных после оперативного вмешательства**

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

### **3.3.2. 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 высеивался *S. Aureus*, который использовался для создания абсцесса печени. В Контрольной и Экспериментальной группах во всех случаях после обработки стенки абсцесса печени микрофлора не высеивалась.

### **3.3.3. 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 (Рисунок 15-20).

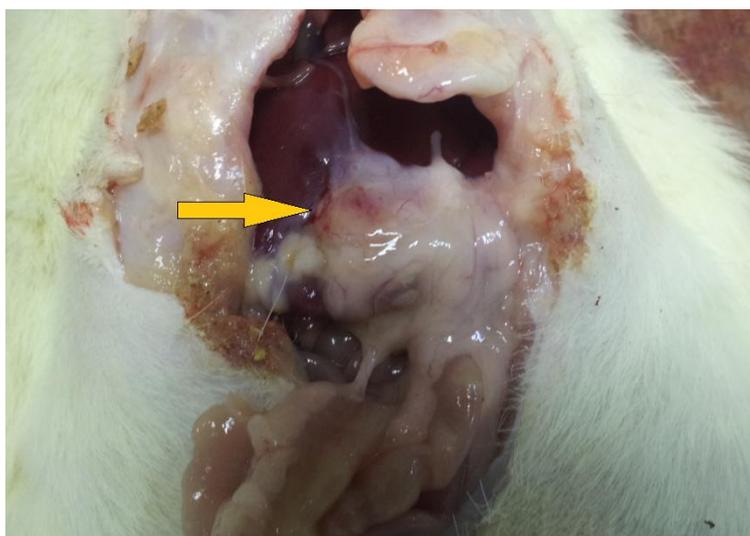


Рисунок 15. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в группе Плацебо на 1-е сутки

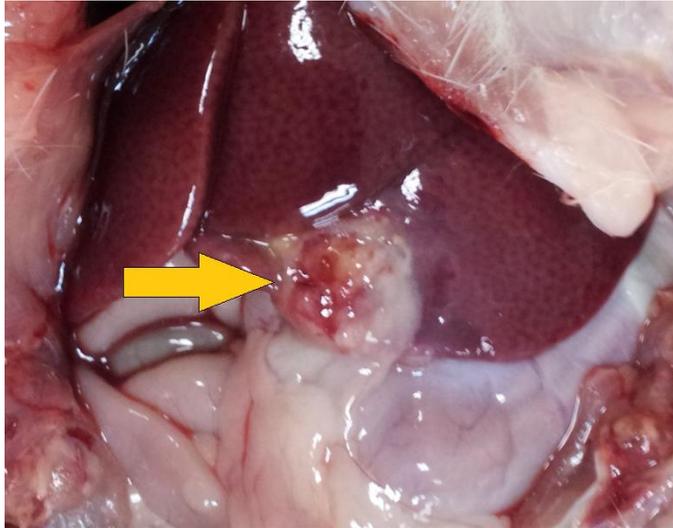


Рисунок 16. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в Контрольной группе на 1-е сутки

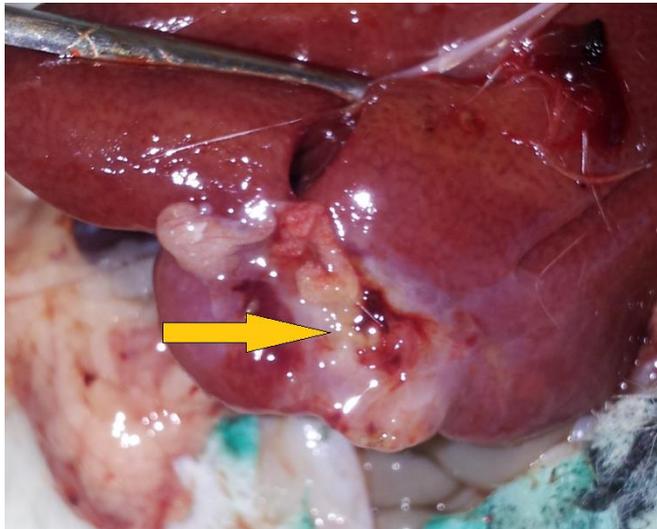


Рисунок 17. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в Экспериментальной группе на 1-е сутки

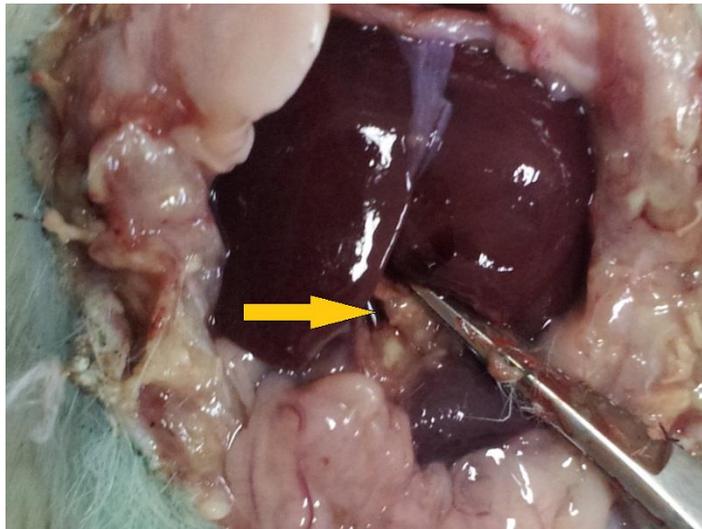


Рисунок 18. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в группе  
Плацебо на 5-е сутки

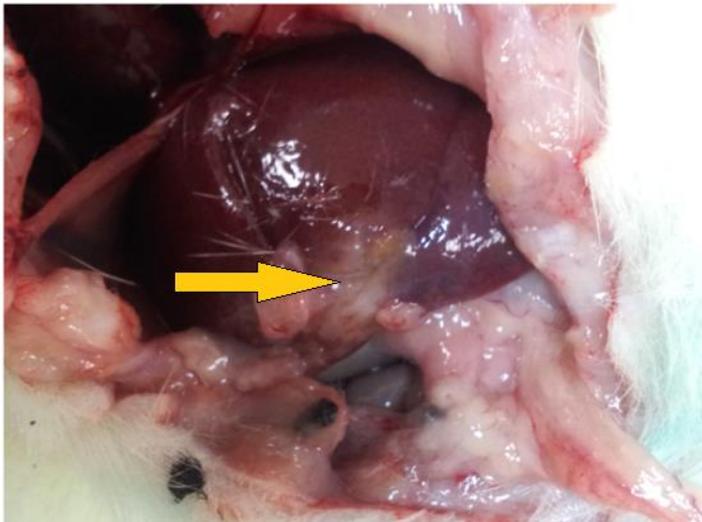


Рисунок 19. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в  
Контрольной группе на 5-е сутки

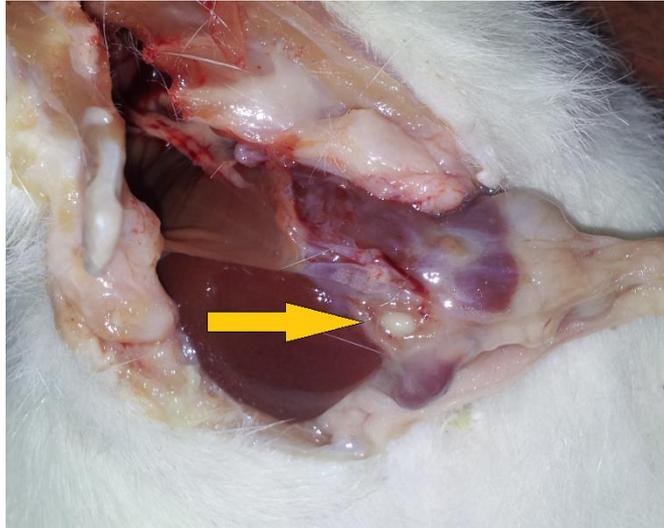


Рисунок 20. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в Экспериментальной группе на 5-е сутки

В некоторых случаях в группе Плацебо в ранние сроки повторно формировались абсцессы печени (Рисунок 21).

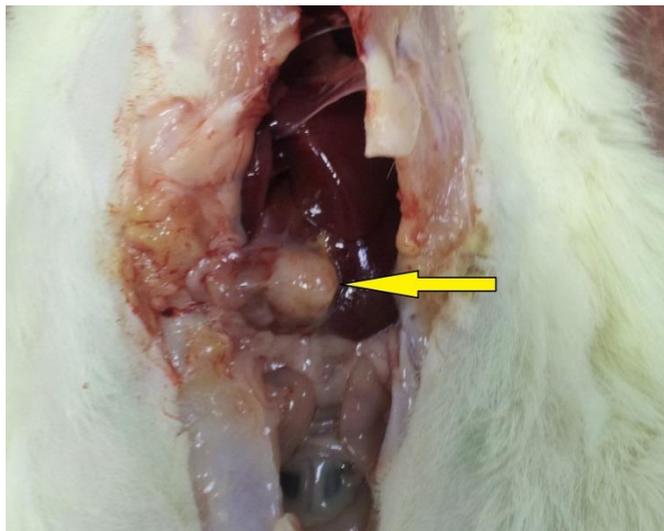


Рисунок 21. Рецидив абсцесса печени в группе Плацебо на 1-е сутки.

Абсцесс указан стрелкой

С течением времени воспалительная реакция постепенно стихает (Рисунок 22-24).

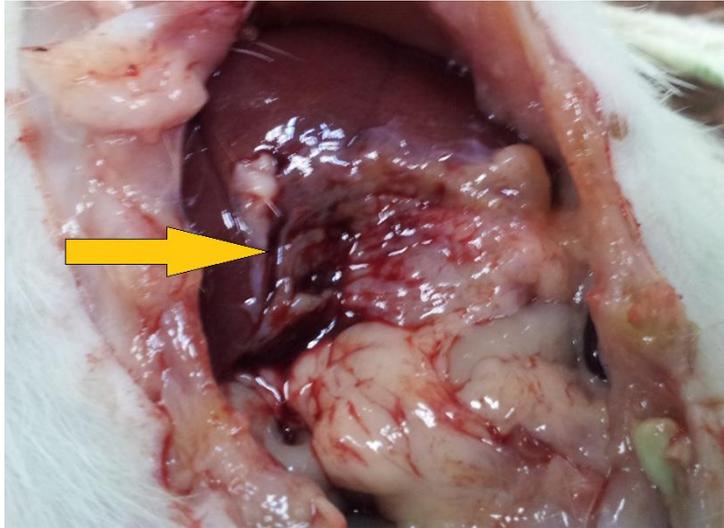


Рисунок 22. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в группе  
Плацебо на 15-е сутки



Рисунок 23. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в  
Контрольной группе на 15-е сутки

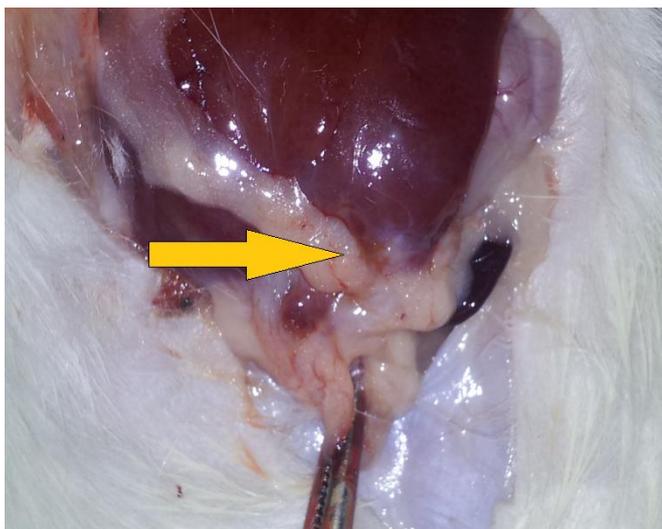


Рисунок 24. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в Экспериментальной группе на 15-е сутки

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 (Рисунок 25-27).

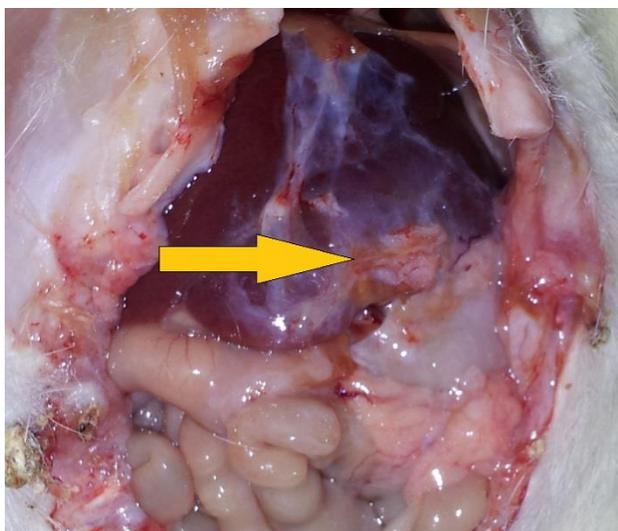


Рисунок 25. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в группе Плацебо на 30-е сутки

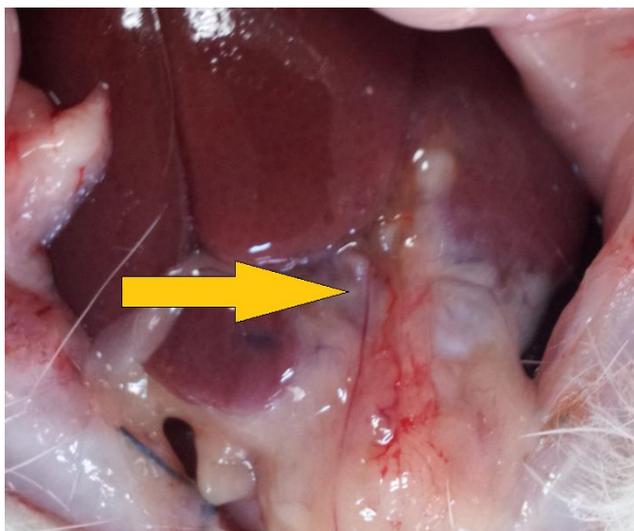


Рисунок 26. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в Контрольной группе на 30-е сутки



Рисунок 27. Область абсцесса печени крыс (указана стрелкой) в Экспериментальной группе на 30-е сутки

#### **3.3.4. Результаты биохимического анализа крови**

При анализе независимых данных (больше двух групп исследования) с использованием критерия Крускала-Уоллиса было выявлено, что только показатель АСТ не имеет статистически значимых различий во всех группах и во все сроки ( $p=0,118$ ). Для остальных показателей требуется провести попарный анализ групп методом Манна-Уитни.

### Группа Плацебо

- При сравнении биохимических показателей крови крыс группы Плацебо на 1-е сутки и нормальных показателей крови крыс выявлено статистически значимое различие по содержанию АЛТ ( $p=0,014$ ). Показатель меньше нормы.
- При анализе показателей группы Плацебо на 5-е сутки выявлено статистически значимое различие по уровню общего билирубина ( $p=0,015$ ), АЛТ ( $p=0,011$ ),  $\alpha$ -амилазы ( $p=0,046$ ). Все показатели меньше нормы.
- При сравнении показателей группы Плацебо на 15-е сутки и нормальных показателей выявлено статистически значимое различие по уровню общего билирубина ( $p=0,008$ ). Показатель меньше нормы.
- При сравнении показателей группы Плацебо на 30-е сутки и нормы статистически значимых различий не выявлено.

### Группа Контроля (Криодеструкция стенки абсцесса)

- При сравнении показателей крови крыс группы Контроля на 1-е сутки и нормальных показателей крови крыс выявлено статистически значимое различие по показателю общего билирубина ( $p=0,009$ ). Показатель меньше нормы.

При сравнении группы Контроля на 1-е сутки и Плацебо на 1-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям глюкозы ( $p=0,009$ ), общего белка ( $p=0,016$ ), общего билирубина ( $p=0,011$ ),  $\alpha$ -амилазы ( $p=0,009$ ), креатинина ( $p=0,024$ ). В Контрольной группе показатели глюкозы, общего белка,  $\alpha$ -амилазы выше, а показатели общего билирубина и креатинина ниже, чем в группе Плацебо.

- При сравнении группы Контроля на 5-е сутки и нормы выявлено статистически значимое различие по показателю общего билирубина ( $p=0,008$ ), прямого билирубина ( $p=0,019$ ), и мочевины ( $p=0,009$ ). Показатель общего билирубина меньше нормы, а показатели прямого билирубина и мочевины выше нормы.

При сравнении группы Контроля на 5-е сутки и Плацебо на 5-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям глюкозы ( $p=0,011$ ), ГГТ ( $p=0,008$ ), общего билирубина ( $p=0,02$ ),  $\alpha$ -амилазы ( $p=0,011$ ), АЛТ ( $p=0,018$ ), мочевины ( $p=0,006$ ), креатинина ( $p=0,008$ ). В Контрольной группе показатели АЛТ, глюкозы, ГГТ,  $\alpha$ -амилазы, мочевины выше, а показатели общего билирубина и креатинина ниже, чем в группе Плацебо.

- При сравнении группы Контроля на 15-е сутки и нормы выявлено статистически значимое различие по показателю общего билирубина ( $p=0,008$ ). Показатель общего билирубина меньше нормы.

При сравнении группы Контроля на 15-е сутки и Плацебо на 15-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям общего белка ( $p=0,028$ ), ГГТ ( $p=0,008$ ),  $\alpha$ -амилазы ( $p=0,009$ ), креатинина ( $p=0,009$ ). В группе Контроля показатели  $\alpha$ -амилазы, общего белка выше, а показатели ГГТ и креатинина ниже, чем в группе Плацебо.

- При сравнении группы Контроля на 30-е сутки и нормы выявлено статистически значимое различие по показателю общего билирубина ( $p=0,008$ ) и прямого билирубина ( $p=0,005$ ). Оба показателя выше нормы.

При сравнении группы Контроля на 30-е сутки и Плацебо на 30-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям общего белка ( $p=0,015$ ), общего билирубина ( $p=0,006$ ), прямого билирубина ( $p=0,005$ ), креатинина ( $p=0,009$ ). В группе Контроля показатели общего, прямого билирубина и общего белка выше, а показатель креатинина ниже, чем в группе Плацебо.

Экспериментальная группа (воздействие на стенку абсцесса «неравновесной плазмой»)

- При сравнении показателей крови крыс Экспериментальной группы на 1-е сутки и нормы выявлено статистически значимое различие по показателю АЛТ ( $p=0,042$ ) и общего билирубина ( $p=0,014$ ). Показатели меньше нормы.

При сравнении Экспериментальной группы на 1-е сутки и Плацебо на 1-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям АЛТ ( $p=0,014$ ), ГГТ ( $p=0,027$ ), общего белка ( $p=0,014$ ), общего билирубина ( $p=0,024$ ),  $\alpha$ -амилазы ( $p=0,014$ ), креатинина ( $p=0,014$ ). В Экспериментальной группе показатели АЛТ, общего белка,  $\alpha$ -амилазы выше, а показатели общего билирубина, креатинина, ГГТ ниже, чем в группе Плацебо.

При сравнении Экспериментальной группы на 1-е сутки и Контроля на 1-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям глюкозы ( $p=0,014$ ),  $\alpha$ -амилазы ( $p=0,014$ ), креатинина ( $p=0,014$ ). В Экспериментальной группе все показатели ниже, чем в группе Контроля.

- При сравнении Экспериментальной группы на 5-е сутки и нормы выявлено статистически значимое различие по показателям общего билирубина ( $p=0,024$ ), АЛТ ( $p=0,034$ ). Показатель общего билирубина выше нормы, а АЛТ ниже нормы.

При сравнении Экспериментальной группы на 5-е сутки и Плацебо на 5-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям АЛТ ( $p=0,02$ ), общего билирубина ( $p=0,018$ ),  $\alpha$ -амилазы ( $p=0,039$ ). В Экспериментальной группе все показатели выше, чем в группе Плацебо.

При сравнении Экспериментальной группы на 5-е сутки и Контроля на 5-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям глюкозы ( $p=0,025$ ), ГГТ ( $p=0,012$ ), общего белка ( $p=0,025$ ), общего билирубина ( $p=0,021$ ), мочевины ( $p=0,024$ ), креатинина ( $p=0,024$ ). В Экспериментальной группе показатели мочевины, общего белка, ГГТ и глюкозы ниже, а показатель креатинина, общего билирубина выше, чем в группе Контроля.

- При сравнении Экспериментальной группы на 15-е сутки и нормы выявлено статистически значимое различие по показателю мочевины ( $p=0,009$ ). Показатель ниже нормы.

При сравнении Экспериментальной группы на 15-е сутки и Плацебо на 15-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям глюкозы

( $p=0,047$ ), общего билирубина ( $p=0,008$ ), мочевины ( $p=0,009$ ), ГГТ ( $p=0,021$ ). В Экспериментальной группе показатель общего билирубина выше, а остальные показатели ниже, чем в группе Плацебо.

При сравнении Экспериментальной группы на 15-е сутки и Контроля на 15-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям общего белка ( $p=0,028$ ), общего билирубина ( $p=0,008$ ), мочевины ( $p=0,009$ ), креатинина ( $p=0,016$ ). В Экспериментальной группе показатели мочевины, общего белка, ниже, а показатели креатинина, общего билирубина выше, чем в группе Контроля.

- При сравнении Экспериментальной группы на 30-е сутки и нормы выявлено статистически значимое различие по показателю общего билирубина ( $p=0,009$ ). Показатель общего билирубина выше нормы.

При сравнении Экспериментальной группы на 30-е сутки и Плацебо на 30-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям общего белка ( $p=0,009$ ), общего билирубина ( $p=0,007$ ), креатинина ( $p=0,008$ ). В Экспериментальной группе показатель общего билирубина выше, а показатели креатинина и общего белка ниже, чем в группе Плацебо.

При сравнении Экспериментальной группы на 30-е сутки и Контроля на 30-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателям общего белка ( $p=0,008$ ), прямого билирубина ( $p=0,005$ ), креатинина ( $p=0,009$ ). В Экспериментальной группе показатели общего белка и прямого билирубина ниже, а показатель креатинина выше, чем в группе Контроля.

### Резюме

Биохимический анализ крови выявил лишь небольшие колебания значений большинства показателей относительно нормы во всех исследуемых группах (Таблица 2). Данная картина свидетельствует только о локальных изменениях, возникающих в печени в области оперативного вмешательства, и не влияющих на работу органа в целом.

Таблица 2. 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; 1,3]	0	3,0 [2,0; 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 (ммоль/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]

### 3.3.5. Результаты гистологического исследования

Фрагменты для аутопсии печени во все сроки всех групп исследования были взяты после CO<sub>2</sub>-асфиксии крыс из пограничной зоны между тканями печени и абсцессом (Рисунок 28).

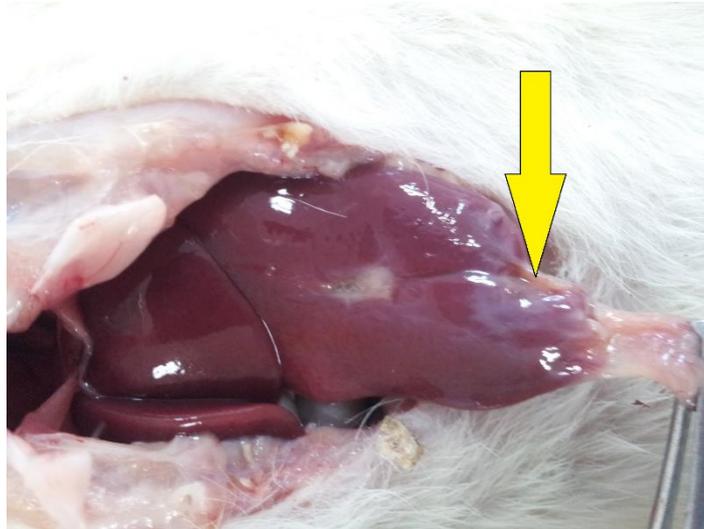


Рисунок 28. Печень крысы со сформировавшимся абсцессом. Стрелкой отмечена зона взятия аутопсии.

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 (Рисунок 29). Вокруг полости наблюдается пиогенная мембрана, которая в части случаев отсутствует на препарате, возможно, вследствие слабой интеграции с внутripеченочными структурами и ее отслоением в процессе приготовления микропрепаратов. 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. Возможно, это связано с тем, что образование капсулы происходит на месте лизированных тканей печени,

однако, стенки желчных протоков более устойчивы к повреждению, чем гепатоциты и остаются в толще капсулы (Рисунок 29).

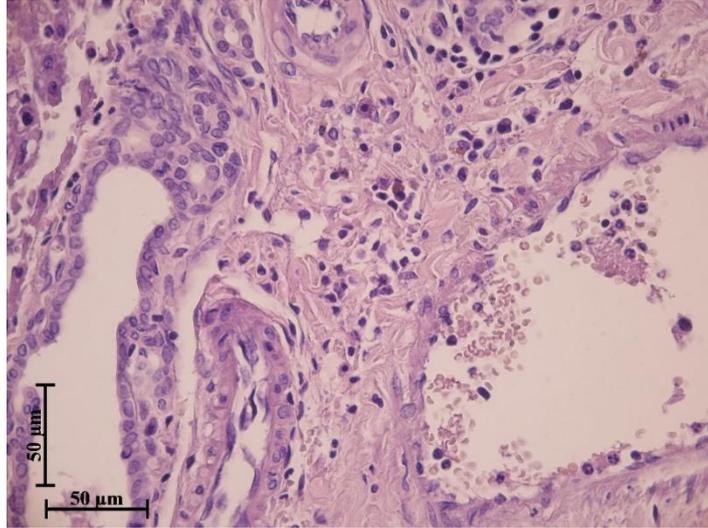


Рисунок 29. Соединительнотканная капсула абсцесса крысы из группы Плацебо на 1 сутки после вскрытия. Эритроциты, полиморфноклеточная инфильтрация в просвете абсцесса. Желчные протоки, полиморфноклеточная инфильтрация в толще капсулы. Ув. x400. Окраска: гематоксилин-эозин

В печени наблюдаются периваскулярный фиброз и утолщение соединительнотканых прослоек, содержащих сегментоядерные нейтрофилы и мононуклеары (Рисунок 30). В зонах разрастания соединительной ткани наблюдаются ретикулиновые волокна (Рисунок 30Б).

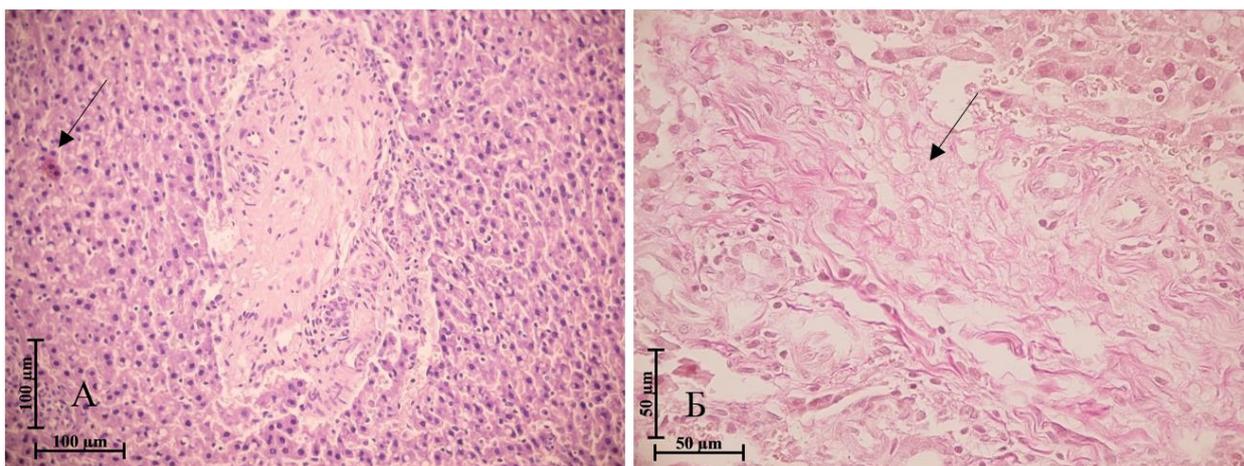


Рисунок 30. Печень крыс из группы Плацебо на 1 сутки после вскрытия абсцесса. Периваскулярный фиброз, клетки воспалительной инфильтрации. А – апоптотическое тельце (стрелка). Ув. x200, окраска: гематоксилин-эозин; Б – ретикулиновые волокна (стрелка). Ув. x400, окраска: на соединительную ткань по Ван-Гизону

В паренхиме печени встречаются полиморфизм гепатоцитов, зоны с мелко- или крупнозернистой вакуолизацией цитоплазмы, кариопикноз. Синусоидные капилляры расширены и полнокровны, вокруг них определяются небольшие диапедезные гемorragии и мелкоочаговые кровоизлияния. Наблюдается дисконтакт печеночных пластин, гепатоциты формируют неупорядоченные структуры или располагаются независимо друг от друга. Среди гепатоцитов определяются клетки мононуклеарной инфильтрации (Рисунок 31, 32).

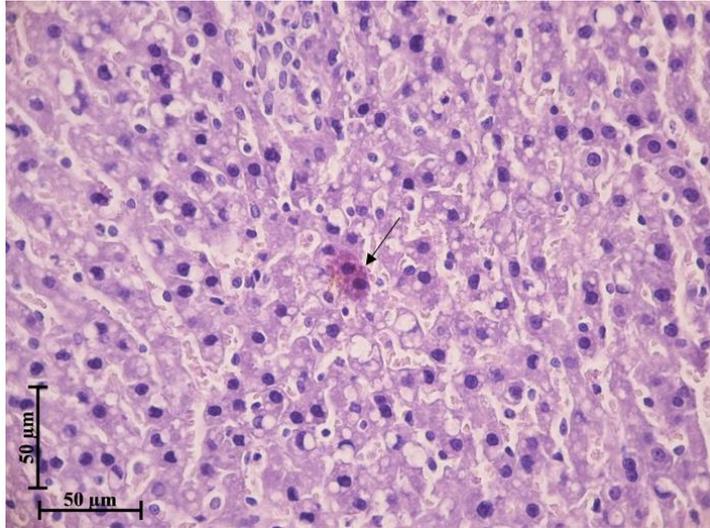


Рисунок 31. Печень крысы из группы Плацебо на 1 сутки после вскрытия абсцесса. Вакуолизация, некроз гепатоцитов. Апоптотическое тельце (стрелка). Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин

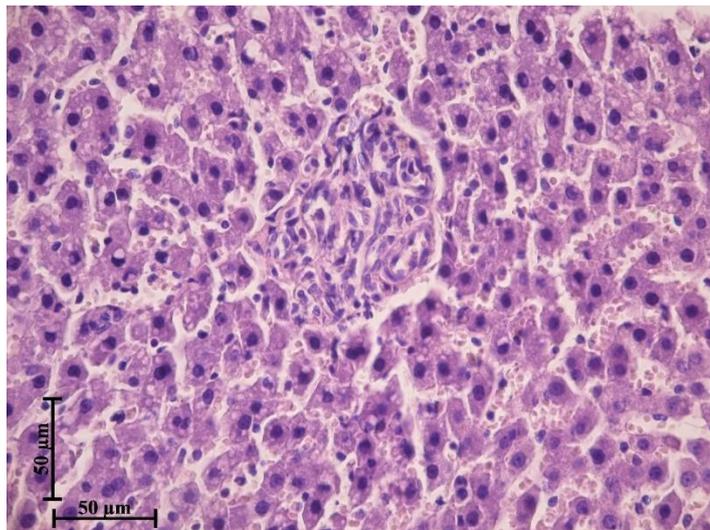


Рисунок 32. Печень крысы из группы Плацебо на 1 сутки после вскрытия абсцесса. Мелкозернистая вакуолизация гепатоцитов, признаки гидропической дистрофии, дисконфлексация печеночных пластин. Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин

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 (Рисунок 33, 34).

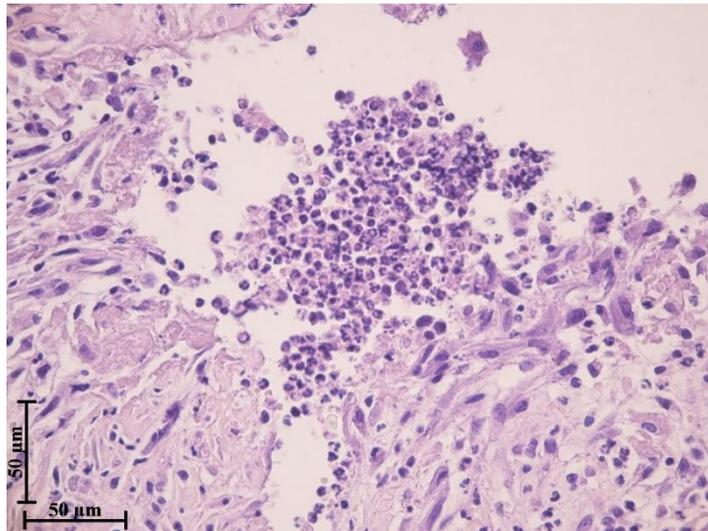


Рисунок 33. Печень крысы из группы Плацебо на 5-ые сутки после вскрытия абсцесса. Полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация в его просвете. Ув.  $\times 400$ . Окраска: гематоксилин-эозин

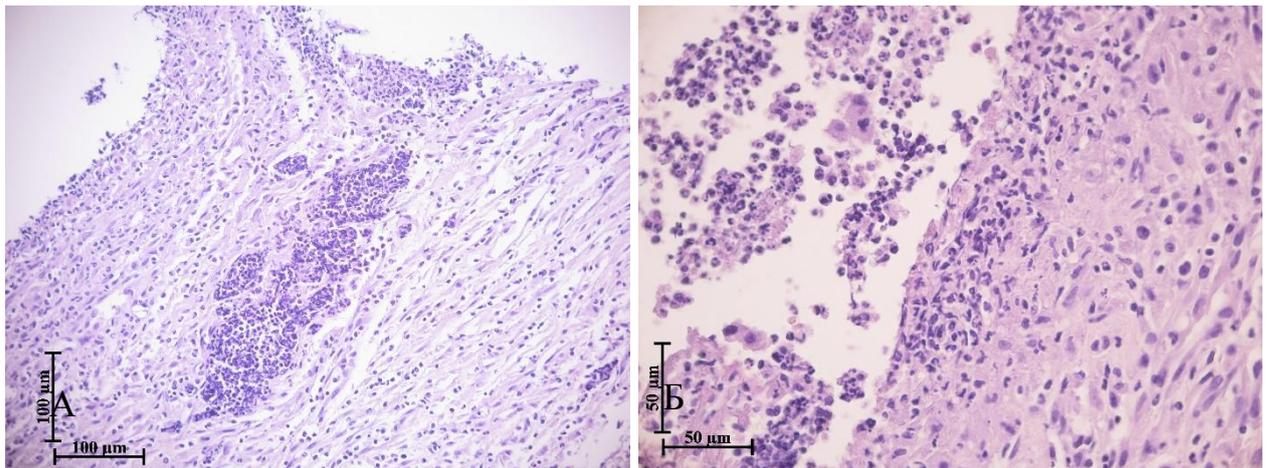


Рисунок 34. Печень крысы из группы Плацебо на 5-ые сутки после вскрытия абсцесса. Инфильтрация клетками воспаления соединительнотканной капсулы. Ув. А –  $\times 200$ ; Б –  $\times 400$ . Окраска: гематоксилин-эозин

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 (Рисунок 35).

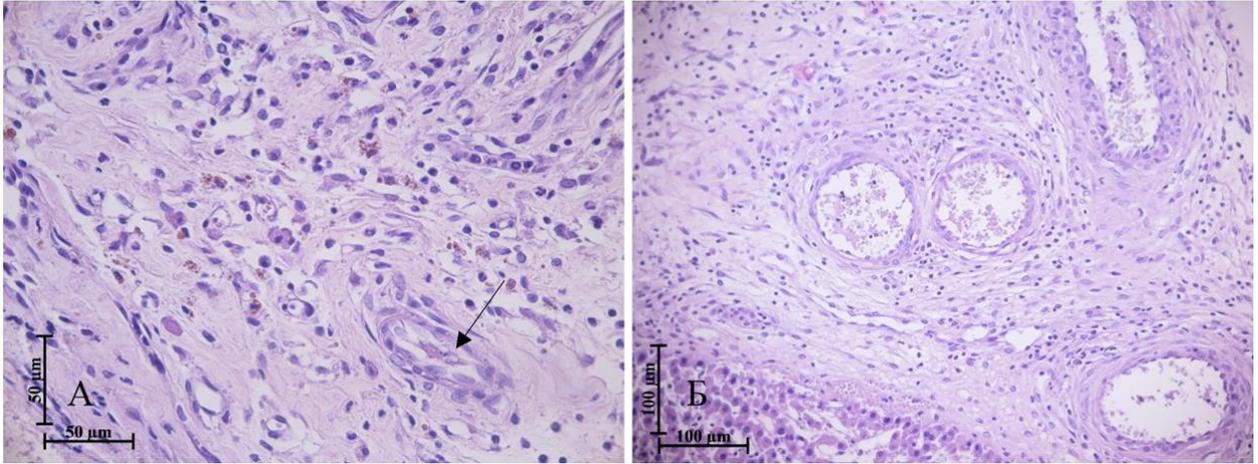


Рисунок 35. Печень крысы из группы Плацебо на 5-ые сутки после вскрытия абсцесса: пиогенная мембрана. А – обилие разнонаправленных капилляров, полиморфноклеточная инфильтрация, спавшийся желчный проток (стрелка), диссоциация эпителиоцитов стенки протока, наличие в них признаков дистрофических изменений. Ув. x400. Окраска: гематоксилин-эозин. Б – Смешанная полиморфноклеточная инфильтрация, вновь образованные артериолы и венулы. Ув. x200. Окраска: гематоксилин-эозин

В пограничной зоне отмечаются гепатоциты небольших размеров, признаки вакуольной дистрофии, нарушение ориентации и целостности печеночных пластин, расширение печеночных синусоидов (Рисунок 36). 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 (Рисунок 37). Происходит утолщение и инфильтрация соединительнотканых междольковых прослоек в паренхиме печени.

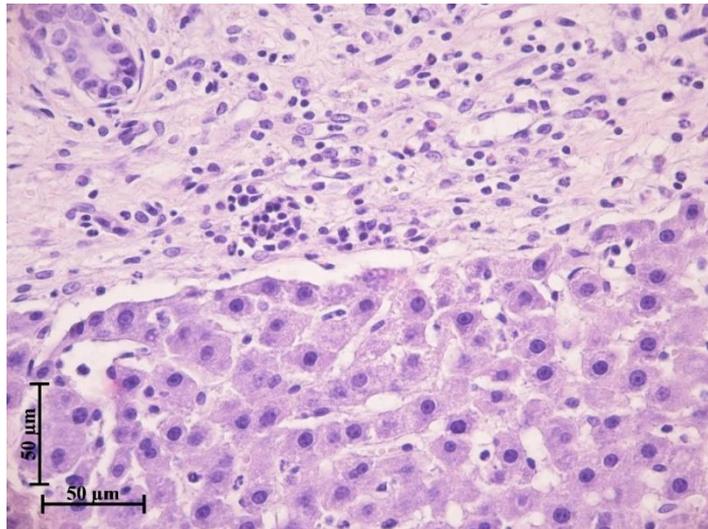


Рисунок 36. Печень крысы из группы Плацебо на 5-ые сутки после вскрытия абсцесса: пограничная зона. Уменьшение размеров гепатоцитов, признаки мелкозернистой вакуольной дистрофии. Расширение печеночных синусоидов. Ув. x400. Окраска: гематоксилин-эозин

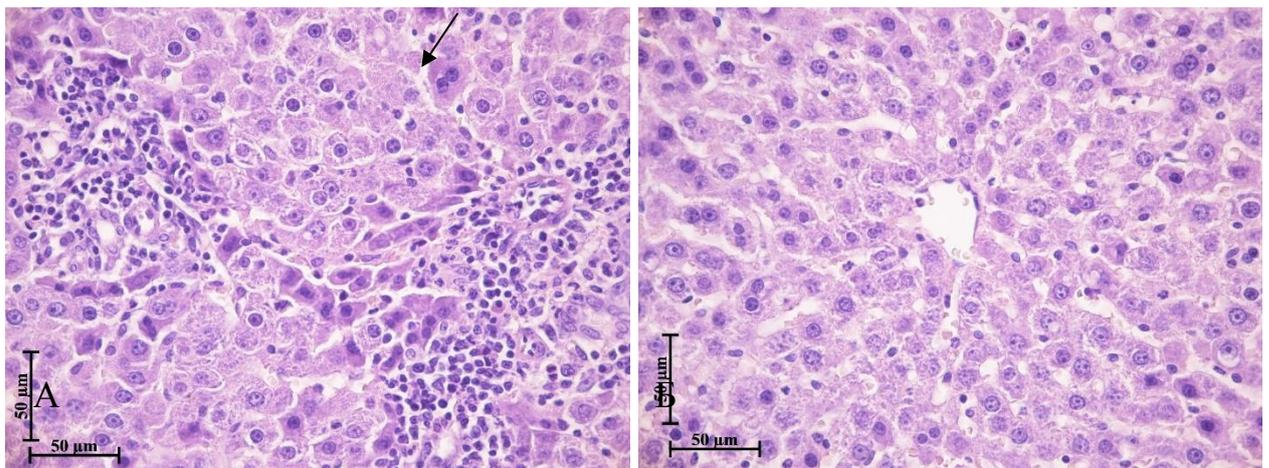


Рисунок 37. Печень крысы из группы плацебо на 5-ые сутки после вскрытия абсцесса. А – гепатоциты с нарушением тинкториальных свойств, двуядерный гепатоцит (стрелка), перивазальная инфильтрация. Б – центральная вена дольки печени, дисконкомплексация печеночных пластин, признаки дистрофии. Ув. x400. Окраска: гематоксилин-эозин

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 (Рисунок 38).

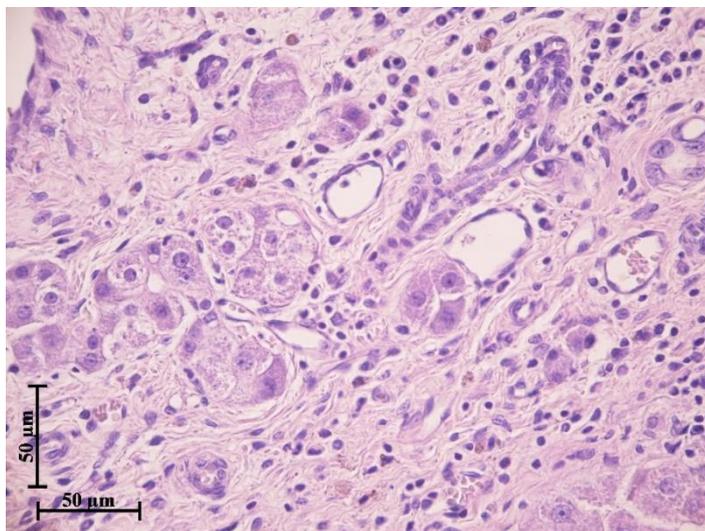


Рисунок 38. Печень крысы из группы Плацебо на 15-ые сутки после вскрытия абсцесса. Стенка абсцесса, содержащая остаточные группы гепатоцитов с признаками дегенерации, полиморфноклеточная инфильтрация. Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин

В ткани печени, находящейся на удалении от пограничной зоны наблюдаются соединительнотканые «островки», расположенные паравазально и вдоль междольковых перегородок, с интенсивной воспалительной инфильтрацией, преимущественно мононуклеарной природы, а также в них отмечаются гемосидерофаги, тучные клетки, апоптотические тельца (Рисунок 39). Центральные вены нередко расширены, синусоиды долек расширены, полнокровны (Рисунок 40). Отмечается дисконфлексация печеночных пластин, признаки вакуольной дистрофии гепатоцитов (Рисунок 40).

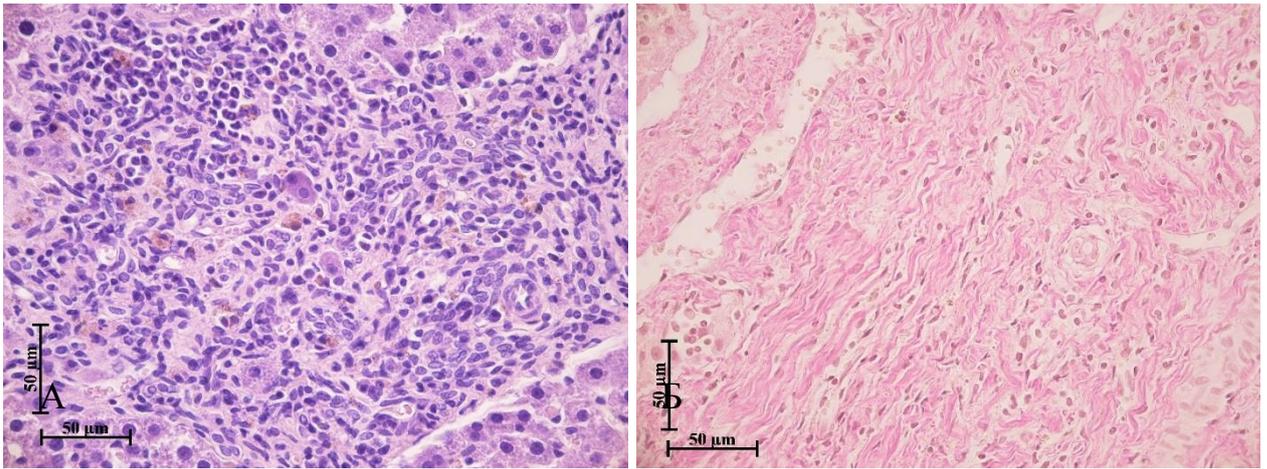


Рисунок 39. Печень крысы из группы Плацебо на 15-ые сутки после вскрытия абсцесса. А – полиморфноклеточная инфильтрация в пограничной зоне, тучные клетки, гемосидерофаги, апоптотическое тельце. Окраска: гематоксилин-эозин; Б – пучки коллагеновых волокон в пиогенной мембране. Ув. х400. Окраска: на соединительную ткань по Ван-Гизону.

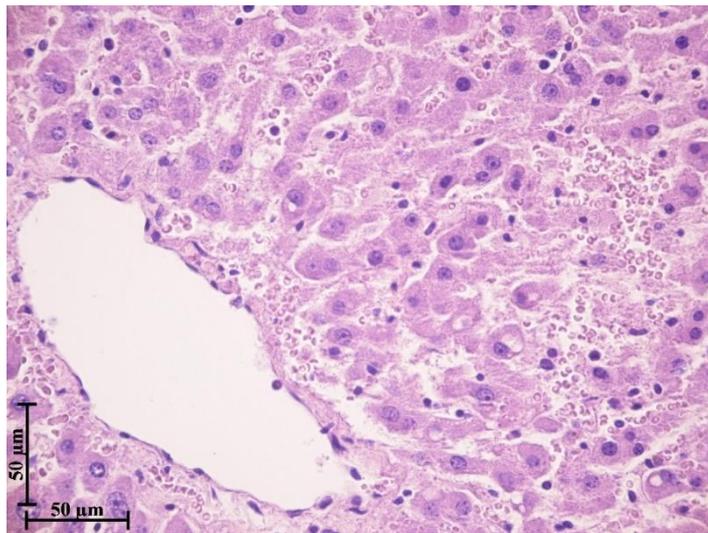


Рисунок 40. Печень крысы из группы Плацебо на 15-ые сутки после вскрытия абсцесса. Центральная вена расширена, синусоиды расширены, полнокровны, дисконфлексация печеночных пластин, признаки вакуольной дистрофии гепатоцитов. Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин

На 30-е сутки в препаратах печени после промывания полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl происходит разрастание соединительной ткани на относительном удалении от границы абсцесса (зоны, не находящиеся в

непосредственном контакте с пиогенной капсулой), нарушение целостности синусоидов и более крупных сосудов печени, что приводит к увеличению количества гемосидерофагов (Рисунок 41).

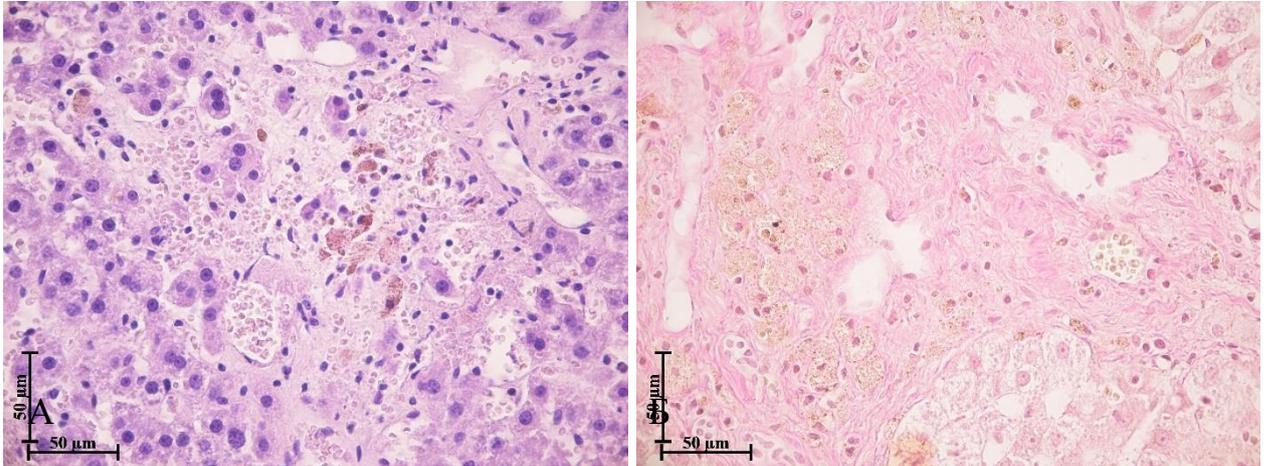


Рисунок 41. Печень крысы из группы Плацебо на 30-ые сутки после вскрытия абсцесса. Зона фиброза, содержащая зрелые коллагеновые волокна, инфильтрация (лимфоциты, гемосидерофаги) соединительной ткани, полнокровие сосудов, диапедез, признаки вакуольной дистрофии в пограничных гепатоцитах. А – двуядерные гепатоциты, остаточные тельца. Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин. Б – зрелые коллагеновые волокна. Ув. х400. Окраска: на соединительную ткань по Ван-Гизону.

Гепатоциты как пограничной зоны, так и в печеночных дольках не граничащих с абсцессом, разных размеров, полиморфны, имеют признаки дистрофии (Рисунок 42). Наблюдается замещение соединительной тканью части печеночных долек, дисконплексация печеночных пластин, расширение синусоидов и центральных вен (Рисунок 42).

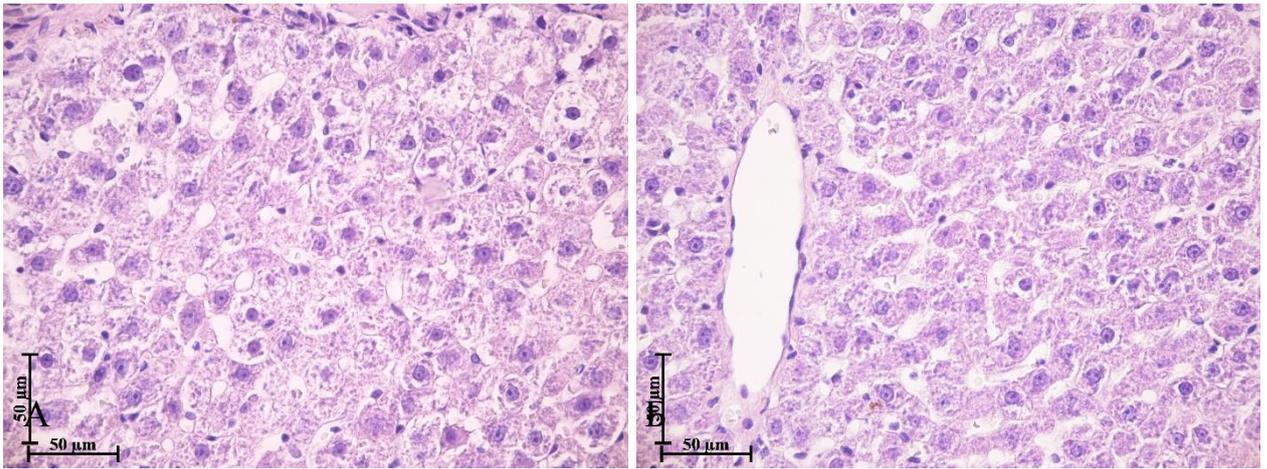


Рисунок 42. Печень крысы из группы Плацебо на 30-ые сутки после вскрытия абсцесса. А – пограничная зона абсцесса. Б – центральная вена печеночной дольки. Гепатоциты разных размеров с признаками дистрофии. Дисконкомплексация печеночных пластин. Центральная вена и синусоиды расширены. Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин.

Экспериментальная группа. Промывание полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl, воздействие на стенку абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1».

В препаратах печени после промывания полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl и обработки стенки абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1» 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 (Рисунок 43), также в стенке капсулы отсутствуют желчные протоки.

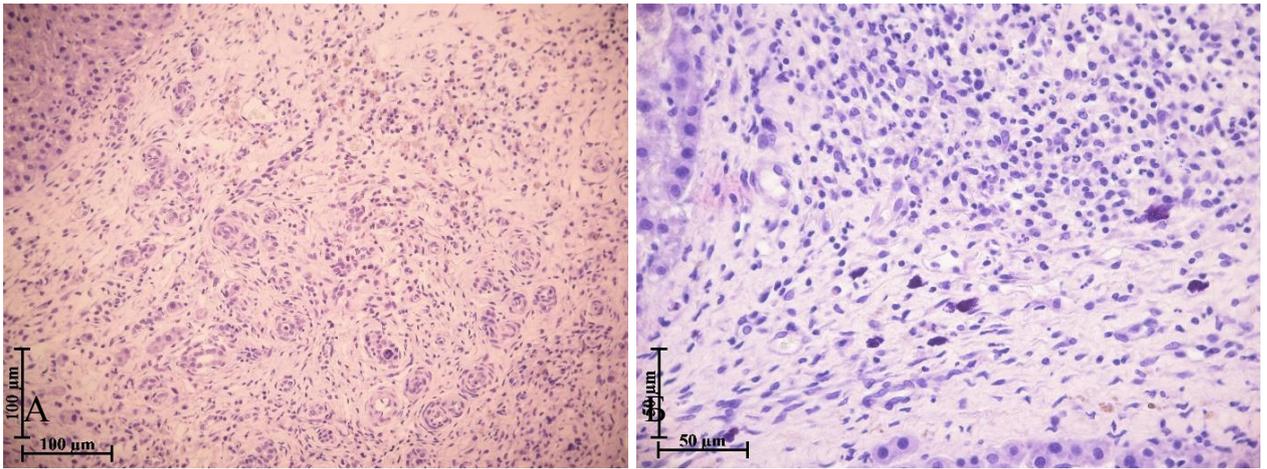


Рисунок 43. Печень крысы на 1 день после вскрытия абсцесса и обработки неравновесной плазмой: капсула абсцесса. Воспалительная полиморфноклеточная инфильтрация. А – неососуды малого калибра, гемосидерофаги. Ув.  $\times 200$ . Б – лимфоциты, мононуклеары, тучные клетки, сегментоядерные нейтрофилы. Ув.  $\times 400$ . Окраска: гематоксилин-эозин.

В гепатоцитах пограничной зоны наблюдаются перинуклеарный отек, признаки дистрофии, набухание цитоплазмы (Рисунок 44).

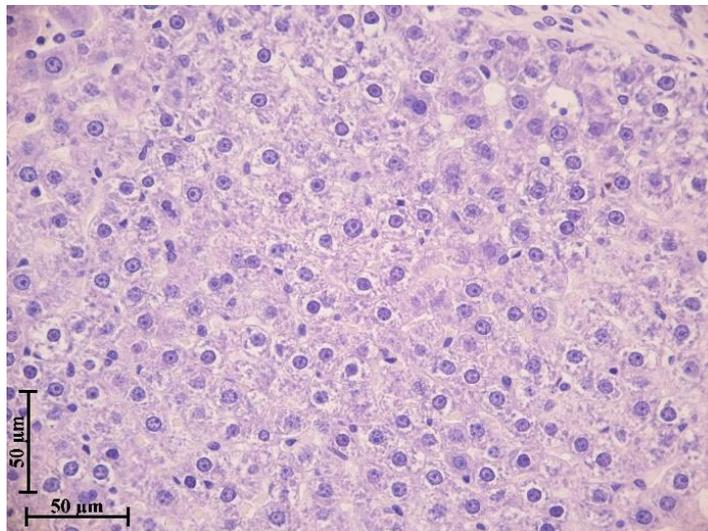


Рисунок 44. Печень крысы на 1 день после вскрытия абсцесса и обработки неравновесной плазмой. Гепатоциты пограничной зоны различных размеров с признаками дистрофии. Ув.  $\times 400$ . Окраска: гематоксилин-эозин.

В печени наблюдаются периваскулярный фиброз, плазмостаз в междольковых артериях и венах, дисконфлексация печеночных пластин,

полиморфизм гепатоцитов, двуядерные гепатоциты, признаки вакуольной дистрофии, кариопикноз (Рисунок 45).

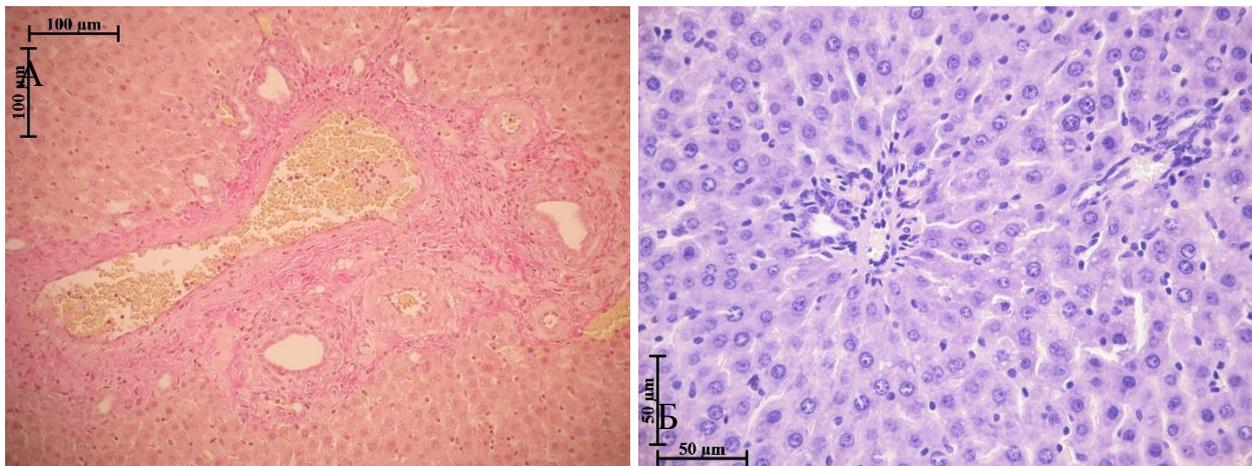


Рисунок 45. Печень крысы на 1-ые сутки после вскрытия абсцесса и обработки неравновесной плазмой. Периваскулярный фиброз. А – зрелые коллагеновые волокна. Окраска: на соединительную ткань по Ван-Гизону; Ув. x200. Б – дисконфлексация печеночных пластин, двуядерные гепатоциты, признаки вакуольной дистрофии гепатоцитов, паравазальная полиморфноклеточная инфильтрация. Ув. x400. Окраска: гематоксилин-эозин.

К 5-м суткам происходит увеличение размеров пиогенной капсулы и усиление периваскулярного фиброза, наблюдаются созревание коллагеновых волокон, полиморфноклеточная инфильтрация, образование неососудов разного калибра (Рисунок 46).

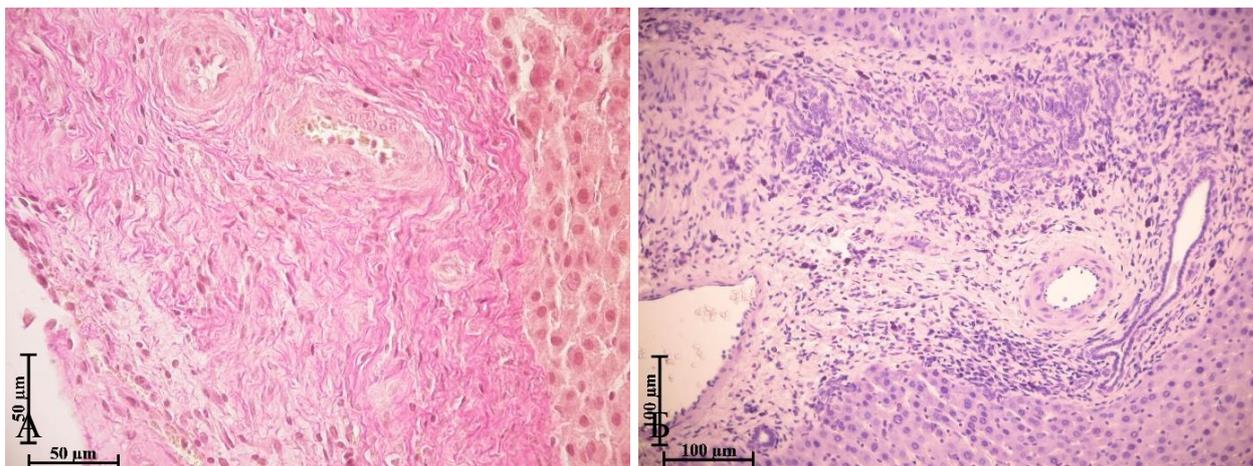


Рисунок 46. Печень крысы на 5-ые сутки после вскрытия абсцесса и обработки неравновесной плазмой. А – пиогенная мембрана, зрелые коллагеновые волокна. Окраска: на соединительную ткань по Ван-Гизону; Ув. х400. Б – периваскулярный фиброз, полиморфноклеточная инфильтрация. Ув. х200. Окраска: гематоксилин-эозин.

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 (Рисунок 47).

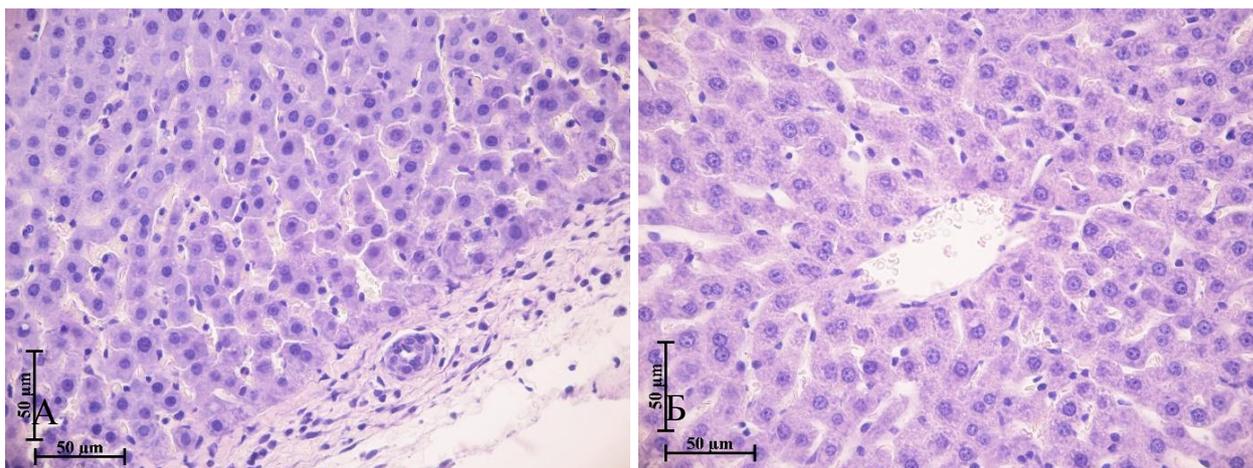


Рисунок 47. Печень крысы на 5-ые сутки после вскрытия абсцесса и обработки плазмой. Дисконкомплексация печеночных пластин, вакуольная дистрофия гепатоцитов, лимфоцитарная инфильтрация. А – пограничная зона. Б – центральная вена. Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин

К 15-м суткам по сравнению с группой Плацебо отсутствуют гепатоциты в толще капсулы, наблюдаются отёк соединительнотканых «островков», меньшее количество гемосидерофагов (Рисунок 48). Среди клеток воспалительной инфильтрации обнаруживаются: лимфоциты, макрофаги, в том числе единичные гемосидерофаги, тучные клетки, сегментоядерные нейтрофилы, единичные эозинофилы и моноциты.

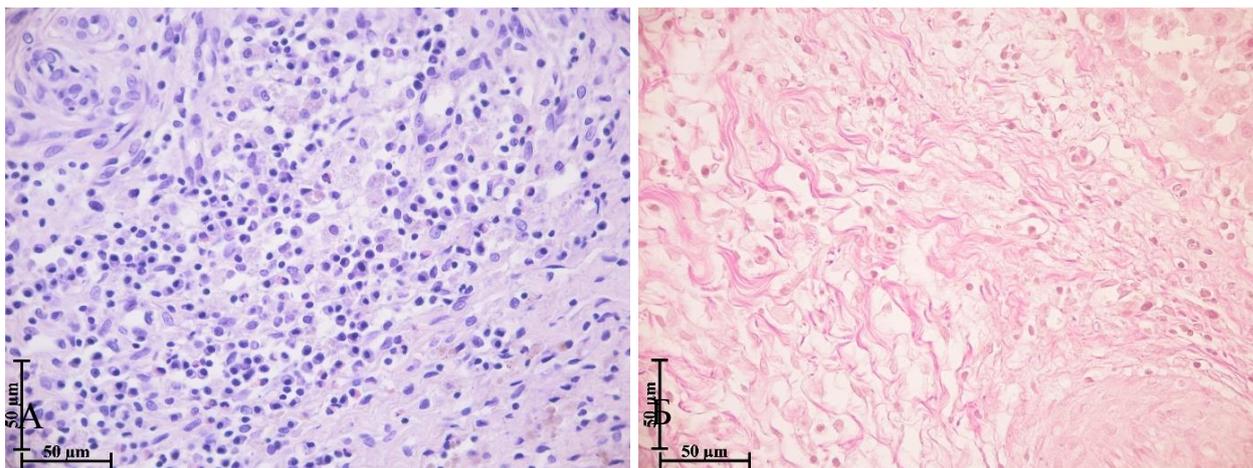


Рисунок 48. Печень крысы на 15-ые сутки после вскрытия абсцесса и обработки неравновесной плазмой. Пиогенная мембрана, интерстициальный отёк. А – полиморфноклеточная инфильтрация. Окраска: гематоксилин-эозин. Б – коллагеновые волокна. Ув. х400. Окраска: на соединительную ткань по Ван-Гизону.

Паренхима печени неоднородна, гепатоциты имеют признаки вакуольной дистрофии разной степени выраженности, различные размеры и тинкториальные свойства (Рисунок 49). В паренхиме обнаруживается незначительная мононуклеарная инфильтрация.

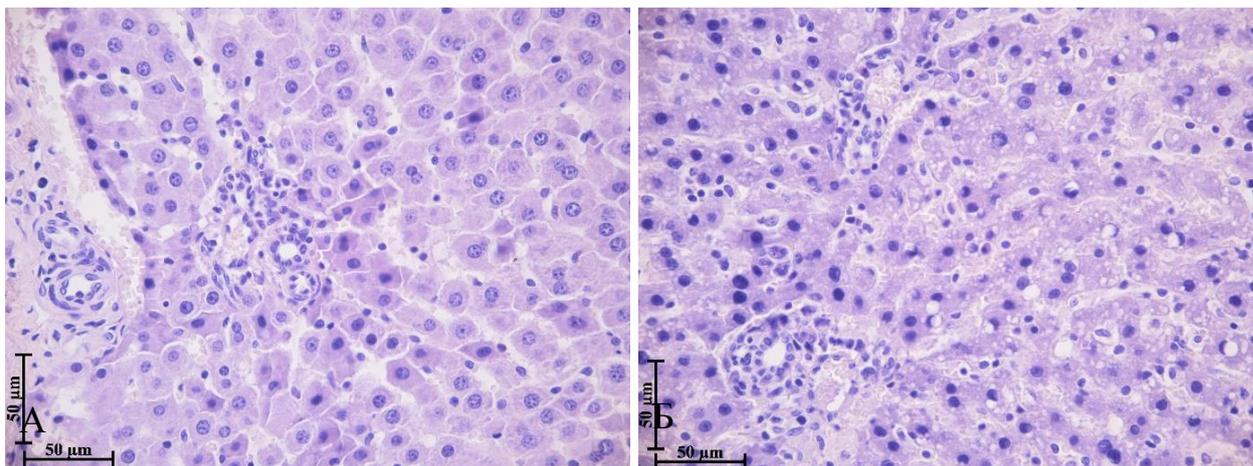


Рисунок 49. Печень крысы на 15-ые сутки после вскрытия абсцесса и обработки неравновесной плазмой. Гепатоциты различных размеров и тинкториальных свойств. Кариопикноз гепатоцитов. Полиморфноклеточная инфильтрация. А – относительно сохраненные гепатоциты. Б – вакуолярная дистрофия гепатоцитов. Ув. x400. Окраска: гематоксилин-эозин.

На 30 сутки после промывания полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl и обработки неравновесной плазмой 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 (Рисунок 50).

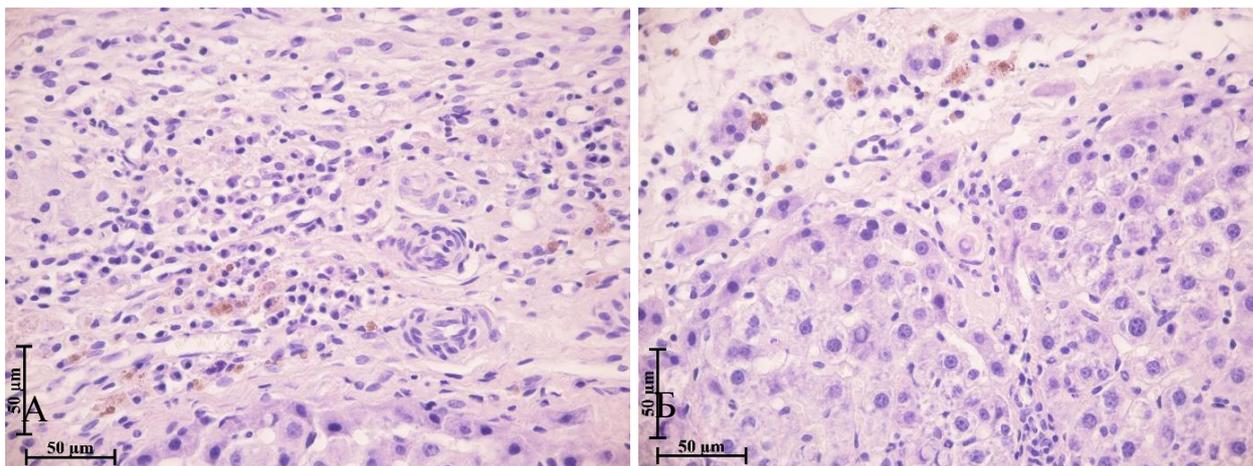


Рисунок 50. Печень крысы на 30-ые сутки после вскрытия абсцесса и обработки неравновесной плазмой. Пиогенная мембрана, полиморфноклеточная инфильтрация, в том числе гемосидерофаги. А – неососуды разного калибра. Б – единичные гепатоциты в толще пиогенной мембраны. Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин.

В паренхиме печени отмечается дисконфлексация печеночных пластин, центральные вены расширены, гепатоциты имеют признаки гидропической дистрофии (Рисунок 51). В периваскулярной соединительной ткани наблюдается мононуклеарная инфильтрация (Рисунок 51).

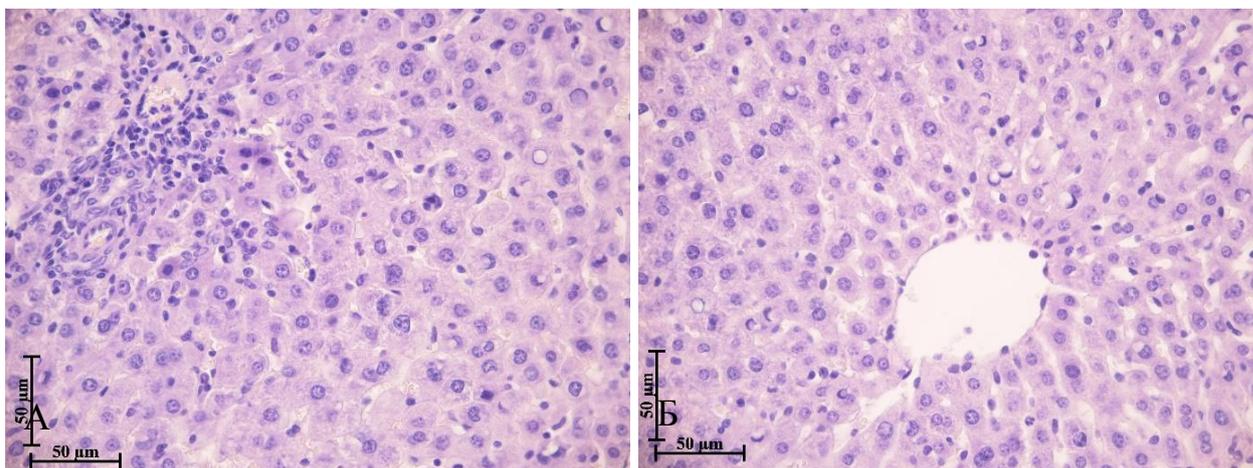


Рисунок 51. Печень крысы на 30-ые сутки после вскрытия абсцесса и обработки неравновесной плазмой. Гепатоциты разных размеров и тинкториальных свойств, признаки гидропической дистрофии гепатоцитов. А – периваскулярная мононуклеарная инфильтрация. Б – расширенная центральная вена. Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин.

Контрольная группа. Промывание полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl, воздействие на стенку абсцесса низкими температурами (жидкий азот, температура -196 °С).

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 (Рисунок 52). В пиогенной мембране определяется интерстициальный отёк (Рисунок 52).

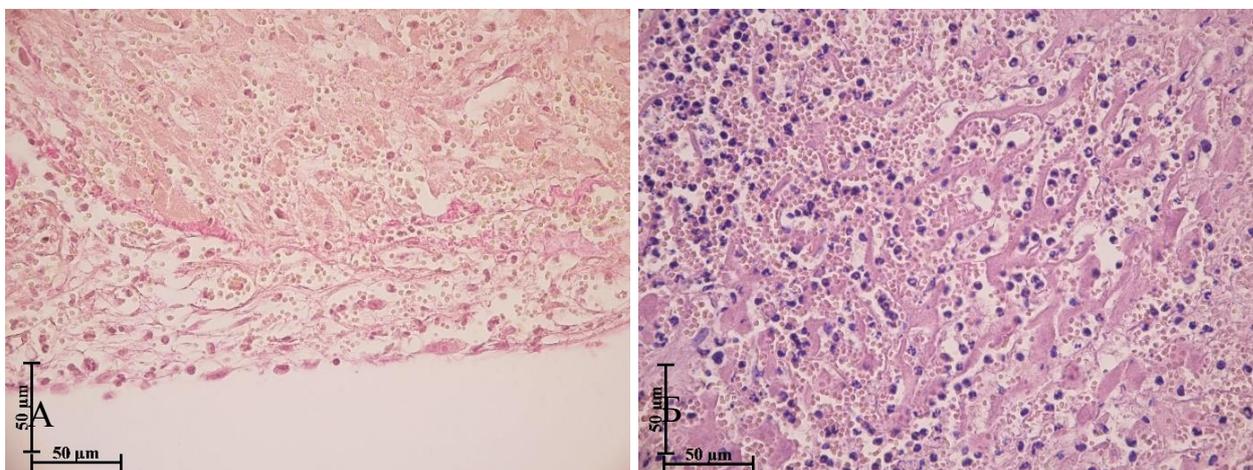


Рисунок 52. Печень крысы на 1-ые сутки после вскрытия абсцесса и воздействия низкими температурами. Полиморфноклеточная инфильтрация, диапедез эритроцитов, интерстициальный отёк. А – пиогенная мембрана. Окраска: на соединительную ткань по Ван-Гизону. Б – зона некроза гепатоцитов. Ув. x400. Окраска: гематоксилин-эозин.

В непосредственном контакте с зоной некроза расположены гепатоциты, уменьшенные в размере, более интенсивного цвета, в которых наблюдается кариопикноз (Рисунок 53 А). Более удаленные от пиогенной мембраны и зоны некроза гепатоциты относительно сохранены (Рисунок 53). В паренхиме печени синусоиды расширены, полнокровны, присутствует незначительная мононуклеарная инфильтрация (Рисунок 53).

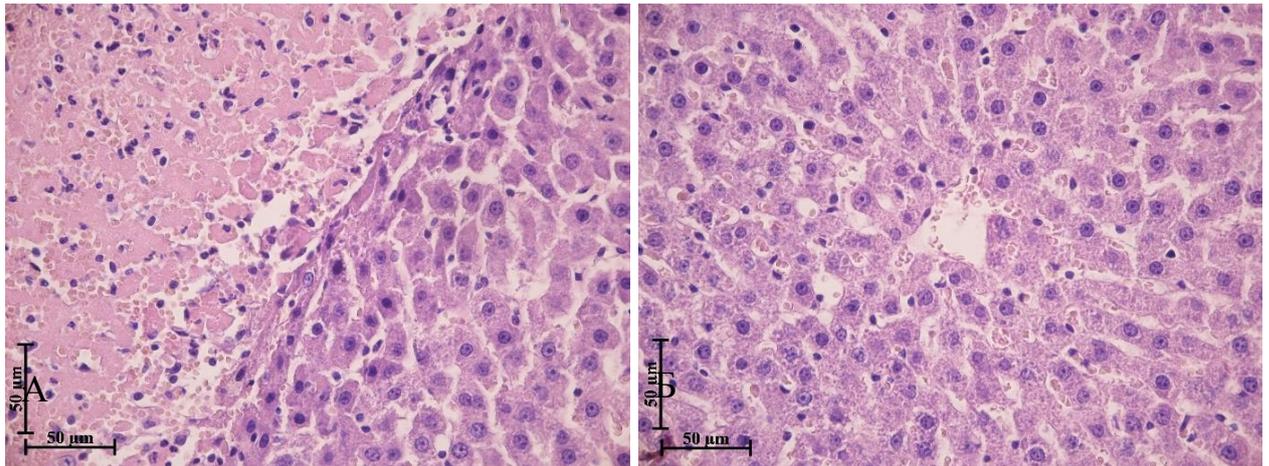


Рисунок 53. Печень крысы на 1-ые сутки после вскрытия абсцесса и воздействия низкими температурами. Мононуклеарная инфильтрация. Синусоиды расширены, полнокровны. А – пограничная зона, гепатоциты с признаками некроза, апоптоза, кариопикноз. Б – междольковая вена, полиморфизм гепатоцитов. Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин.

К 5 суткам происходит замещение некротизированных гепатоцитов на соединительную ткань, также отмечается разрастание соединительной ткани и образование ее «островков» в паренхиме печени в области междольковых прослоек и периваскулярно (Рисунок 54). Соединительная ткань инфильтрирована клетками воспаления, в том числе наблюдается обилие гемосидерофагов (Рисунок 54).

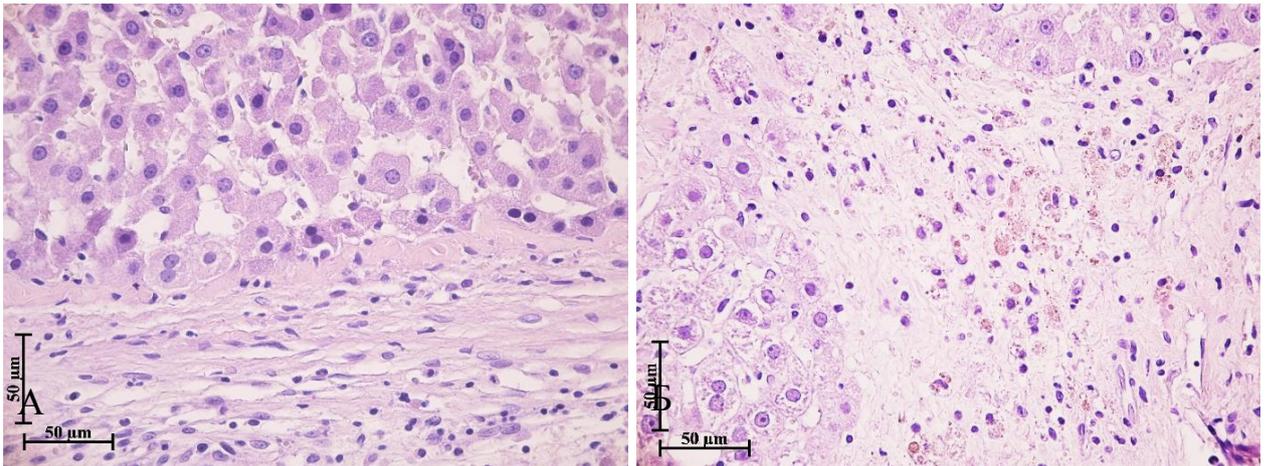


Рисунок 54. Печень крысы на 5-ые сутки после вскрытия абсцесса и воздействия низкими температурами. Полиморфноклеточная инфильтрация. Синусоиды расширены. А – пограничная зона, гепатоциты с признаками некроза, апоптоза, кариопикноз. Б – соединительнотканый «островок» в паренхиме печени. Ув. x400. Окраска: гематоксилин-эозин.

В паренхиме печени наблюдаются запустевание одних сосудов на фоне полнокровия других, явления плазмостаза, интерстициальный отёк, полиморфизм гепатоцитов, двуядерные гепатоциты, дисконплексаия печеночных пластин (Рисунок 55).

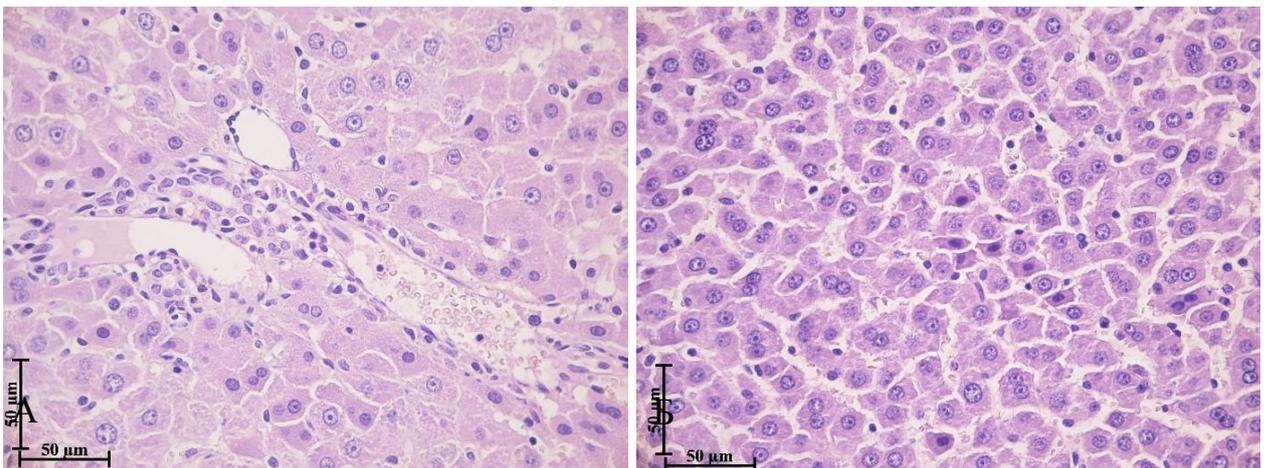


Рисунок 55. Печень крысы на 5-ые сутки после вскрытия абсцесса и воздействия низкими температурами. Полиморфизм гепатоцитов. А – междольковая триада, плазмостаз. Б – паренхима печени, дисконплексаия печеночных пластин, гепатоциты с признаками дистрофии и апоптоза. Ув. x400. Окраска: гематоксилин-эозин.

К 15 суткам происходят разрастание и созревание соединительной ткани, расширение междольковых соединительнотканых прослоек. Пиогенная мембрана отёчна, инфильтрирована клетками воспаления, в том числе моноцитами и макрофагами (Рисунок 56). В паренхиме печени синусоиды расширены, гепатоциты различной формы и размеров (Рисунок 56).

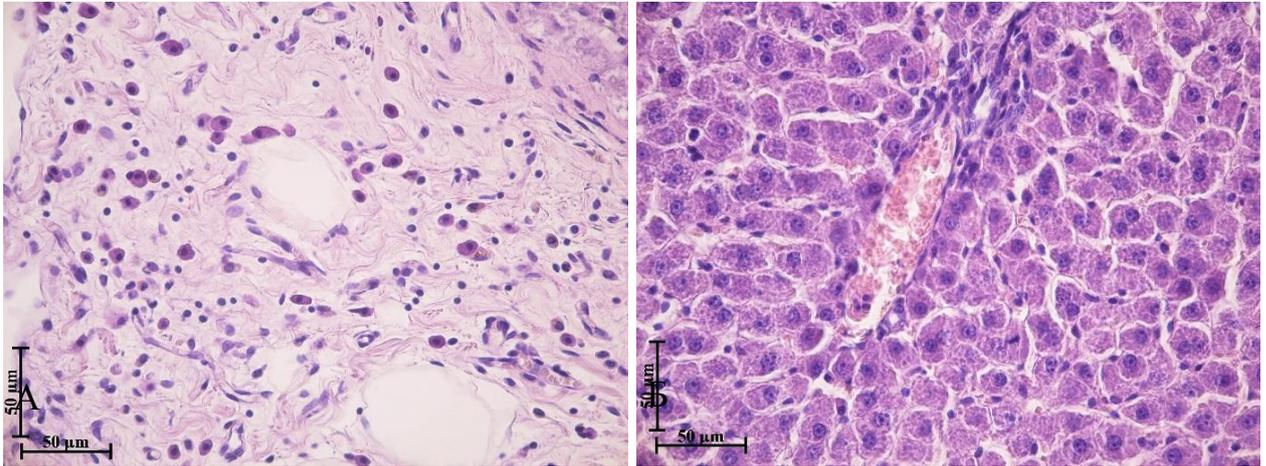


Рисунок 56. Печень крысы на 15-ые сутки после вскрытия абсцесса и воздействия низкими температурами. А – соединительнотканная капсула: обильная воспалительная инфильтрация, в том числе моноцитарно-макрофагальная. Б – паренхима печени: полнокровие сосудов, расширение синусоидов, полиморфизм гепатоцитов. Ув. x400. Окраска: гематоксилин-эозин.

На 30 сутки в печени после промывания полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl и воздействия на его стенку низкими температурами (температура  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) 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 (Рисунок 57).

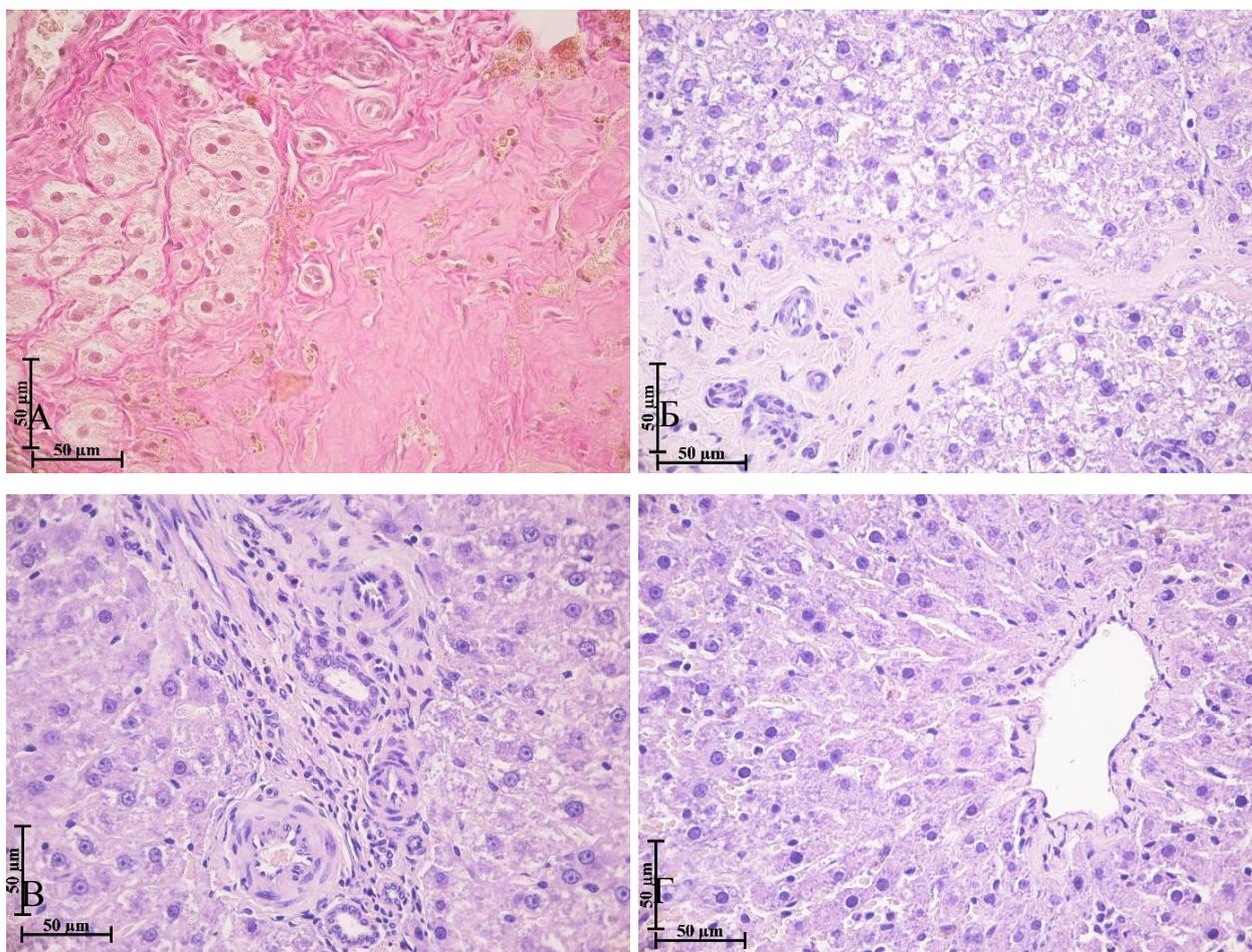


Рисунок 57. Печень крысы на 30-ые сутки после вскрытия абсцесса и воздействия низкими температурами. А – соединительнотканная капсула: коллагеновые волокна, гепатоциты с признаками дистрофии. Окраска: на соединительную ткань по Ван-Гизону. Б – утолщение междольковой соединительнотканной прослойки. В – периваскулярный фиброз. Г – разрастание соединительной ткани вокруг центральной вены, расширение и полнокровие синусоидов. Ув. х400. Окраска: гематоксилин-эозин.

### Резюме

Воздействие на стенку 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.

### 3.3.6. Результаты морфометрии

Таблица 3. 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 <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup> )	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 <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup> )	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 единиц, мкм <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup> )	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 [0,009;0,019]	0,012 [0,006;0,037]	0,0156 [0,00;0,019]	0,012 [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 <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup> )	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 <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup> )	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 <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup> )	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 <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup> )	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 гепатоцитов (Объёмных единиц, мкм <sup>3</sup> /мкм <sup>3</sup> )	Плацебо	0,30 [0,25; 0,375]	0,10 [0,075; 0,287]	0,112 [0,044; 0,116]	0,009 [0,006; 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

При анализе независимых данных (больше двух групп исследования) с использованием критерия Крускала-Уоллиса было выявлено, что показатели УО гепатоцитов с признаками некроза, УО двуядерных гепатоцитов, УО соединительной ткани, УО воспалительной инфильтрации, УО гепатоцитов с признаками апоптоза не имеют статистически значимых различий во всех группах и во все сроки ( $p=0,099$ ,  $p=0,385$ ,  $p=0,825$ ,  $p=0,588$ ,  $p=0,751$ , соответственно). Для остальных показателей проведён попарный анализ групп методом Манна-Уитни.

Группа Контроля (Криодеструкция стенки абсцесса)

- При сравнении группы Контроля на 1-е сутки и Плацебо на 1-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателю УО сосудов ( $p=0,011$ ). В Контрольной группе показатель УО сосудов ниже, чем в группе Плацебо.
- При сравнении группы Контроля на 5-е сутки и Плацебо на 5-е сутки статистически значимых различий не выявлено.
- При сравнении группы Контроля на 15-е сутки и Плацебо на 15-е сутки статистически значимых различий не выявлено.
- При сравнении группы Контроля на 30-е сутки и Плацебо на 30-е сутки статистически значимых различий не выявлено.

Экспериментальная группа (воздействие на стенку абсцесса «неравновесной плазмой»)

- При сравнении Экспериментальной группы на 1-е сутки и Плацебо на 1-е сутки выявлены статистически значимые различия по показателям УО сосудов ( $p=0,006$ ), УО гепатоцитов с признаками дистрофии ( $p=0,01$ ), УО нормальных гепатоцитов ( $p=0,01$ ). В Экспериментальной группе показатель УО гепатоцитов с признаками дистрофии выше, а показатели УО нормальных гепатоцитов и УО сосудов ниже, чем в группе Плацебо;

При сравнении Экспериментальной группы на 1-е сутки и Контроля на 1-е сутки статистически значимых различий не выявлено.

- При сравнении Экспериментальной группы на 5-е сутки и Плацебо на 5-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателю УО гепатоцитов с признаками дистрофии ( $p=0,01$ ). В Экспериментальной группе показатель выше, чем в группе Плацебо.

При сравнении Экспериментальной группы на 5-е сутки и Контроля на 5-е сутки выявлены статистически значимые различия по показателям УО гепатоцитов с признаками дистрофии ( $p=0,03$ ), УО нормальных гепатоцитов ( $p=0,025$ ). В Экспериментальной группе показатель УО гепатоцитов с признаками дистрофии выше, а показатель УО нормальных гепатоцитов ниже, чем в группе Контроля.

- При сравнении Экспериментальной группы на 15-е сутки и Плацебо на 15-е сутки статистически значимых различий не выявлено.

При сравнении Экспериментальной группы на 15-е сутки и Контроля на 15-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателю УО нормальных гепатоцитов ( $p=0,025$ ). В Экспериментальной группе показатель УО нормальных гепатоцитов выше, чем в группе Контроля;

- При сравнении Экспериментальной группы на 30-е сутки и Плацебо на 30-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателю УО нормальных гепатоцитов ( $p=0,037$ ). В Экспериментальной группе показатель УО нормальных гепатоцитов выше, чем в группе Плацебо;

При сравнении Экспериментальной группы на 30-е сутки и Контроля на 30-е сутки статистически значимых различий не выявлено.

### Резюме

Анализ данных морфометрии показал характерную для всех групп тенденцию преобладания повреждения паренхимы печени над её регенерацией в ранние сроки после оперативного вмешательства, а также стихания патологических и доминирования 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.

За помощь в выполнении оперативного вмешательства, уходе за экспериментальными животными и выведении их из эксперимента, а также за выполненные гистологические, морфометрические и бактериологические исследования автор настоящей работы выражает благодарность заведующему Центральной научно-исследовательской лаборатории, профессору кафедры нормальной физиологии, д-ру мед. 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.

## Глава 4

## ОБСУЖДЕНИЕ

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 (Рисунок 58).

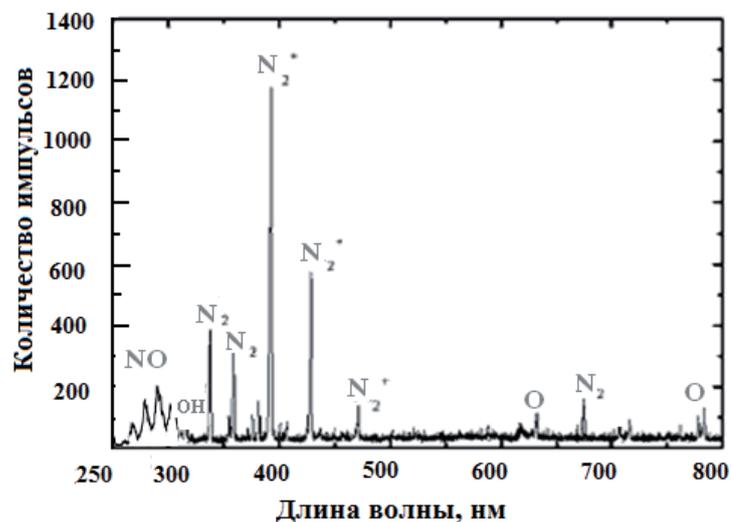


Рисунок 58. Эмиссионный спектр барьерного разряда в воздухе

Они инициируют другие плазмохимические процессы, такие как образование озона ( $O_3$ ), пероксида водорода ( $H_2O_2$ ), 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  $10^9$  мл<sup>-1</sup> 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 [62, 72]. 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, T. Carus и K. Raschebrandt (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 [100]. Также G. Fridman (2006) и S. Kalghatgi (2007) в своих работах рассматривали «неравновесную плазму» в качестве метода коагуляции, который не приводит к развитию ожогов и глубоких повреждений тканей [104, 105].

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 (Рисунок 59-63).

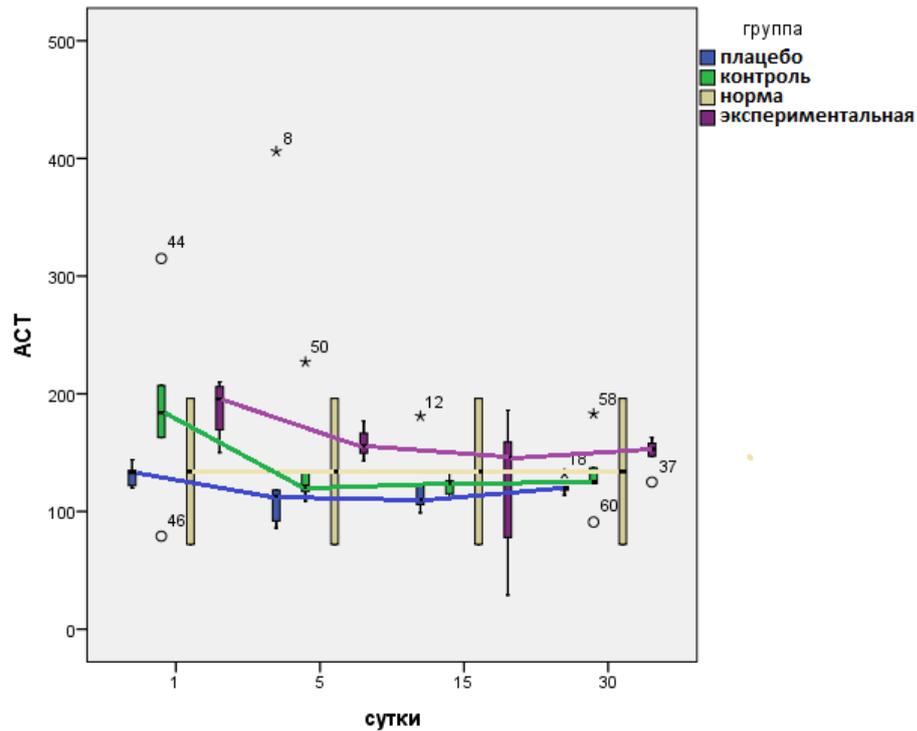


Рисунок 59. Динамика изменений показателя АСТ в исследуемых группах

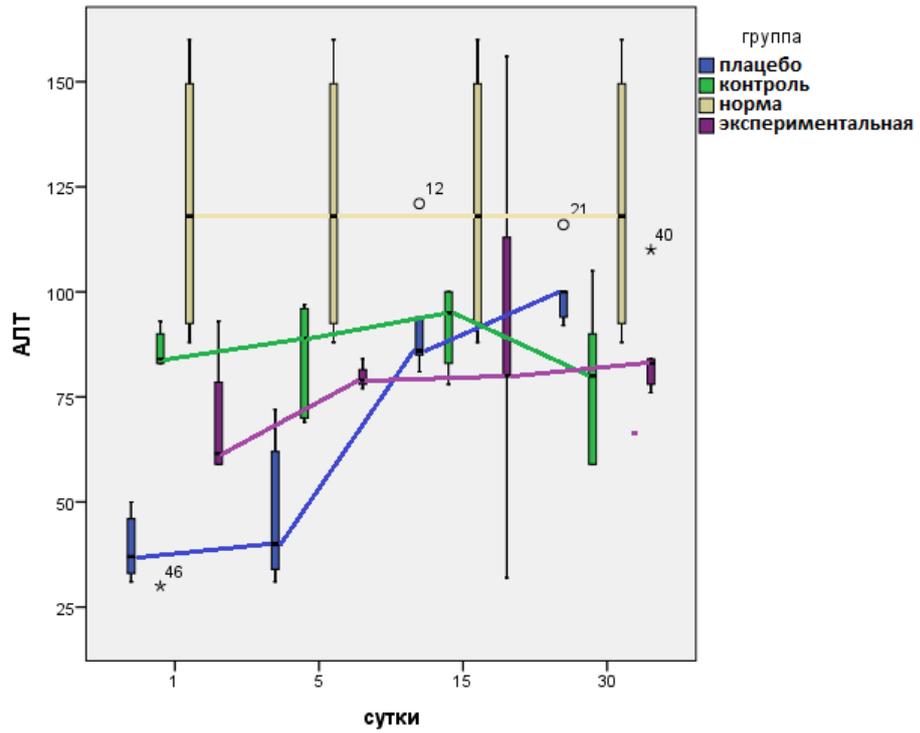


Рисунок 60. Динамика изменений показателя АЛТ в исследуемых группах

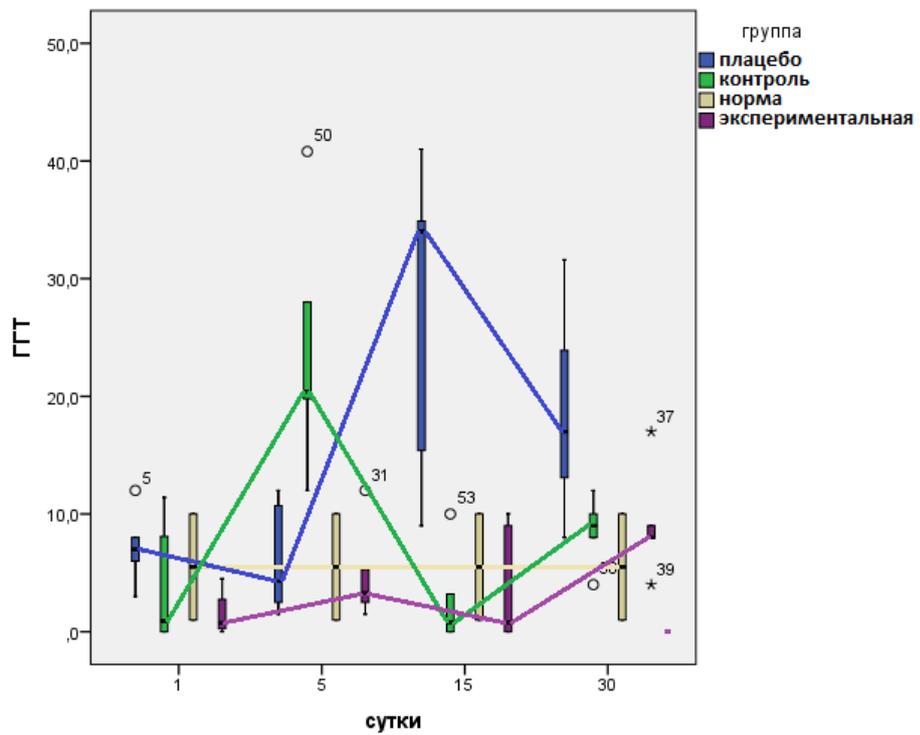


Рисунок 61. Динамика изменений показателя ГГТ в исследуемых группах

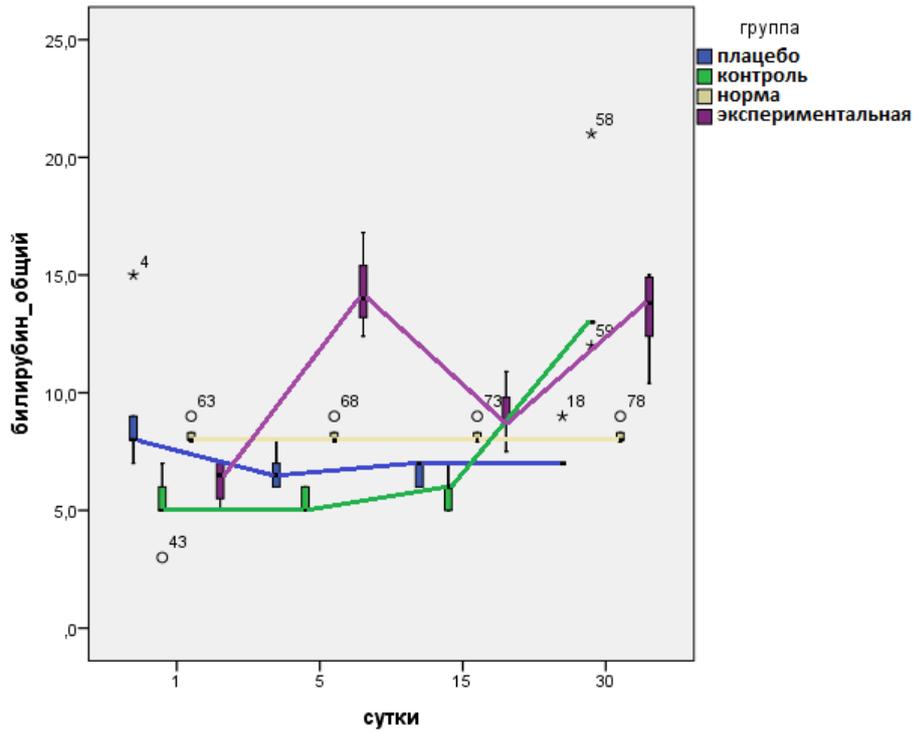


Рисунок 62. Динамика изменений показателя общего билирубина в исследуемых группах

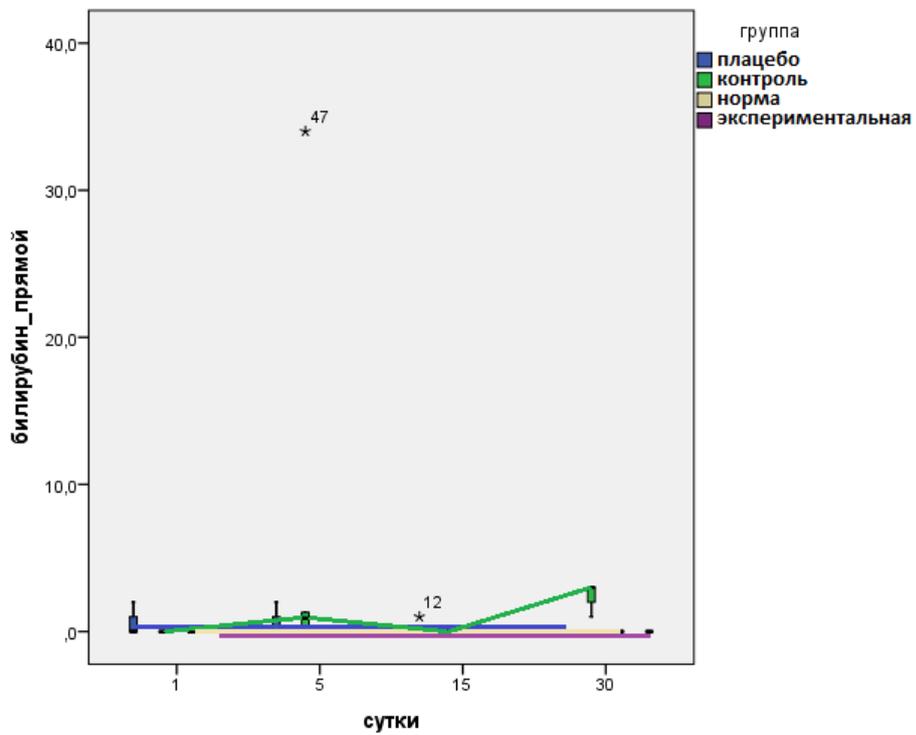


Рисунок 63. Динамика изменений показателя прямого билирубина в исследуемых группах

Аналогичная картина характерна и для шлаков (мочевина, креатинин) (Рисунок 64, 65).

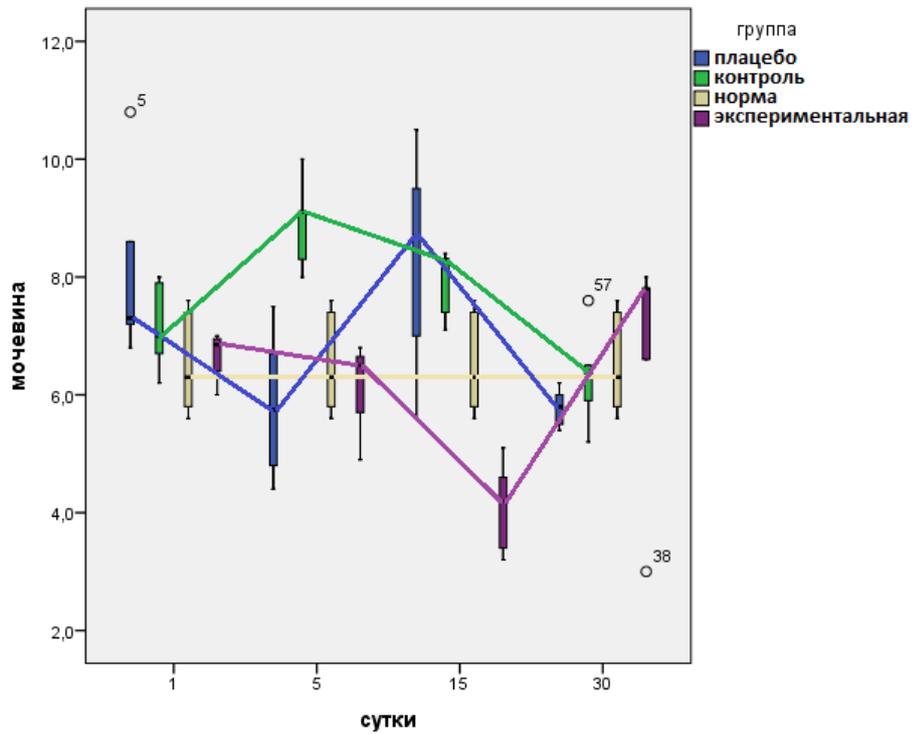


Рисунок 64. Динамика изменений показателя мочевины в исследуемых группах

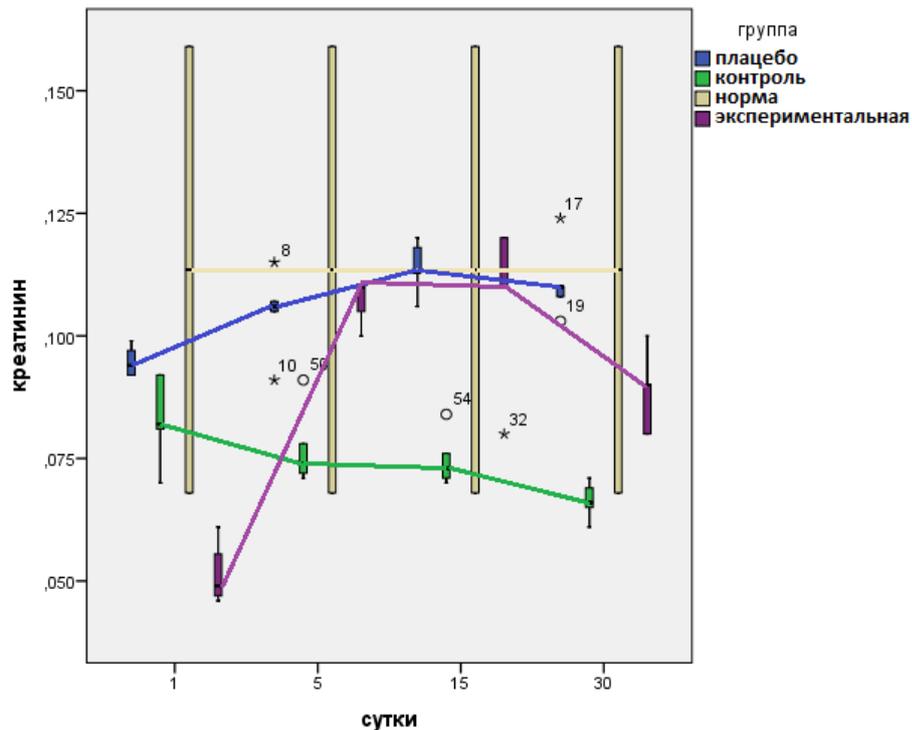


Рисунок 65. Динамика изменений показателя креатинина в исследуемых группах

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 морфологического исследования, ни один из представленных способов оперативного лечения абсцесса печени не обеспечил полной асептики в случае моделирования гнойника согласно приведенной методике. Однако, промывание полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl и воздействие на стенку абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1» способствовали 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» отсутствовал 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.

Анализ данных морфометрии показал одинаковую для всех групп тенденцию: показатели, характеризующие повреждение паренхимы печени (удельный объём гепатоцитов с признаками некроза, удельный объём соединительной ткани, удельный объём воспалительной инфильтрации, удельный объём гепатоцитов с признаками апоптоза), имеют тенденцию к нарастанию с 1-х суток после оперативного вмешательства, достигая максимума к 15-м суткам (Рисунок 66-69).

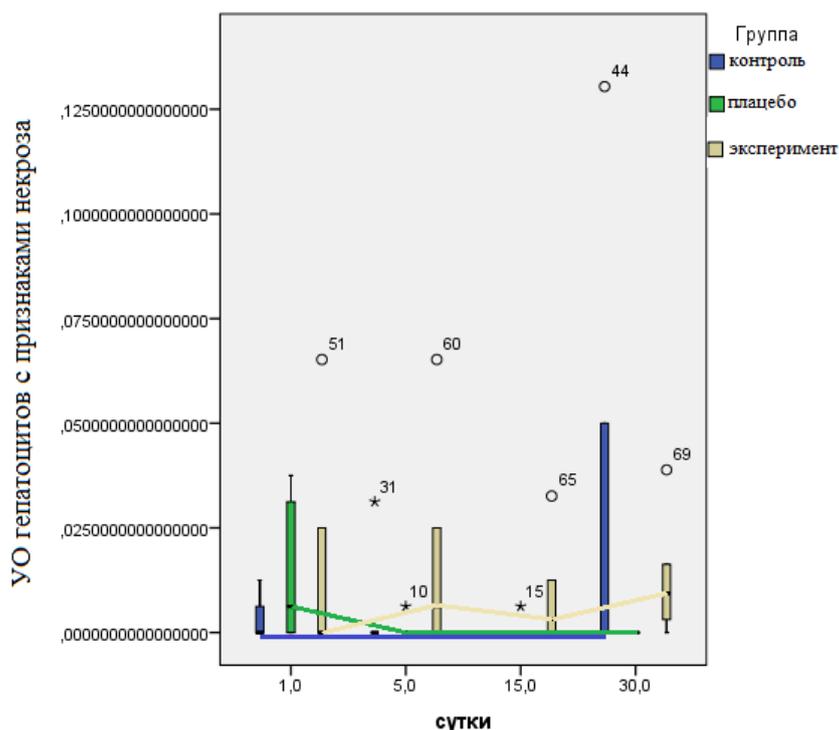


Рисунок 66. Динамика изменений показателя удельного объёма гепатоцитов с признаками некроза в исследуемых группах

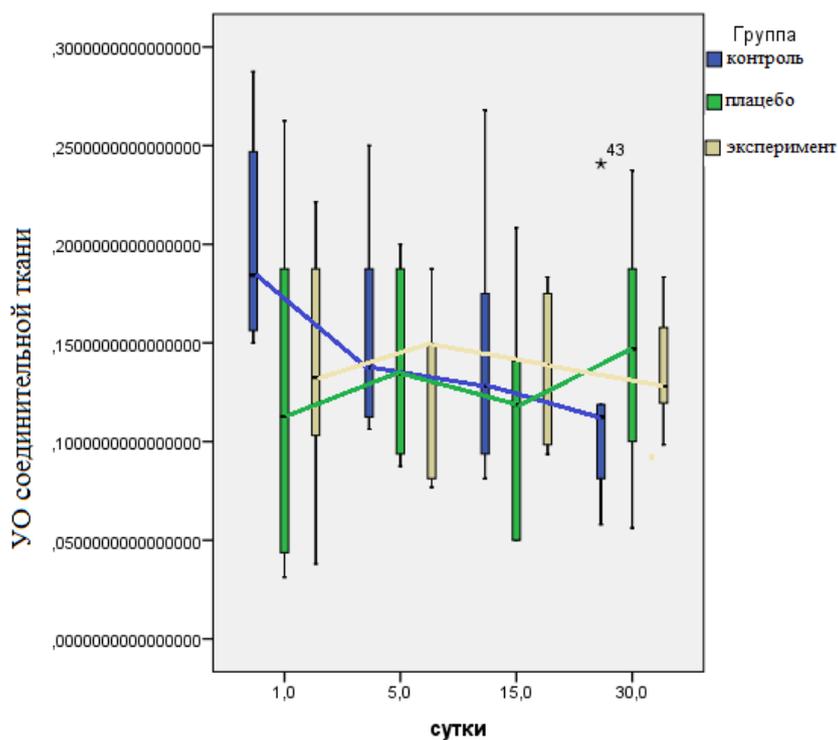


Рисунок 67. Динамика изменений показателя удельного объёма соединительной ткани в исследуемых группах

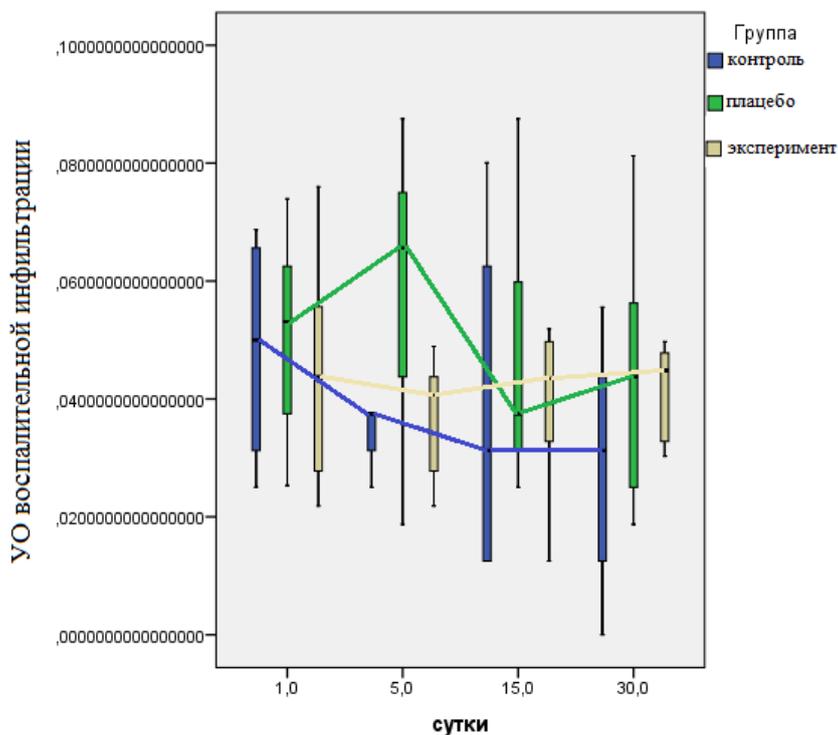


Рисунок 68. Динамика изменений показателя удельного объёма воспалительной инфильтрации в исследуемых группах

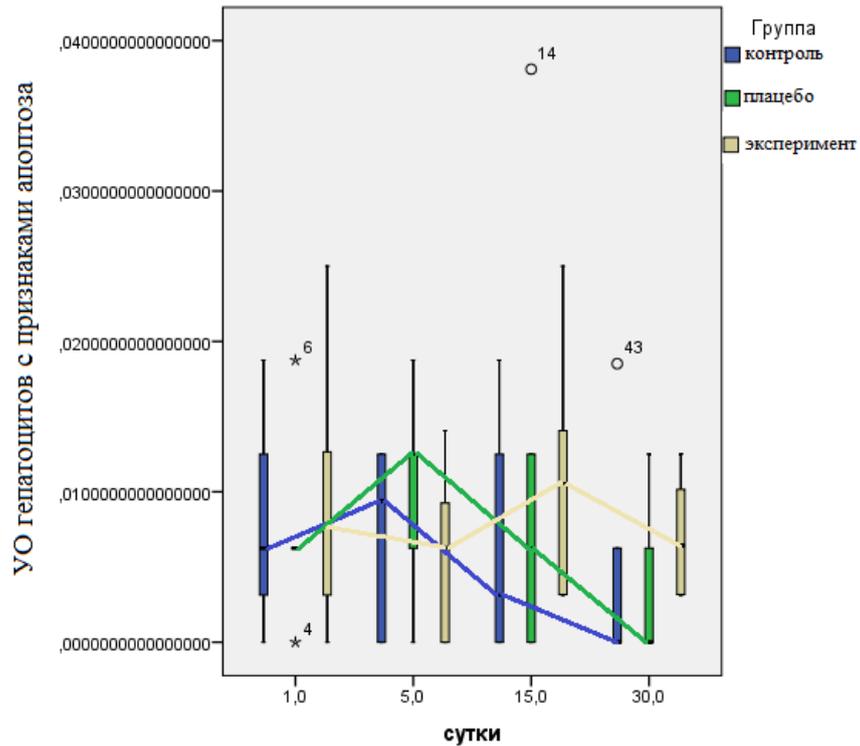


Рисунок 69. Динамика изменений показателя удельного объёма гепатоцитов с признаками апоптоза в исследуемых группах

Далее к 30-м суткам отмечается их снижение. Для одного показателя повреждения печени (УО гепатоцитов с признаками дистрофии) характерно планомерное возрастание значений вплоть до 30-х суток (Рисунок 70).

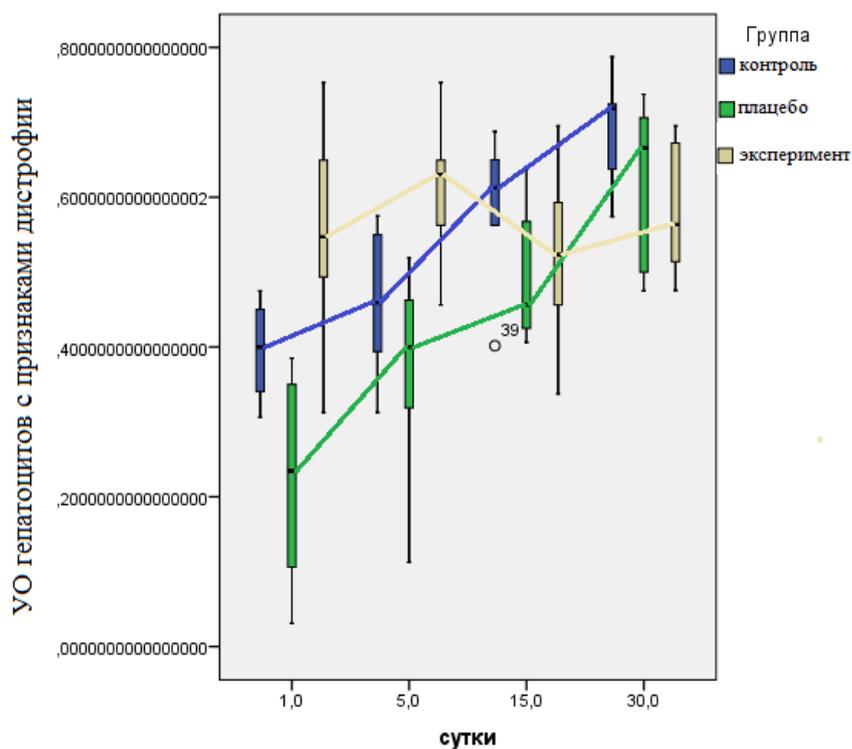


Рисунок 70. Динамика изменений показателя удельного объема гепатоцитов с признаками дистрофии в исследуемых группах

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 (Рисунок 71-73).

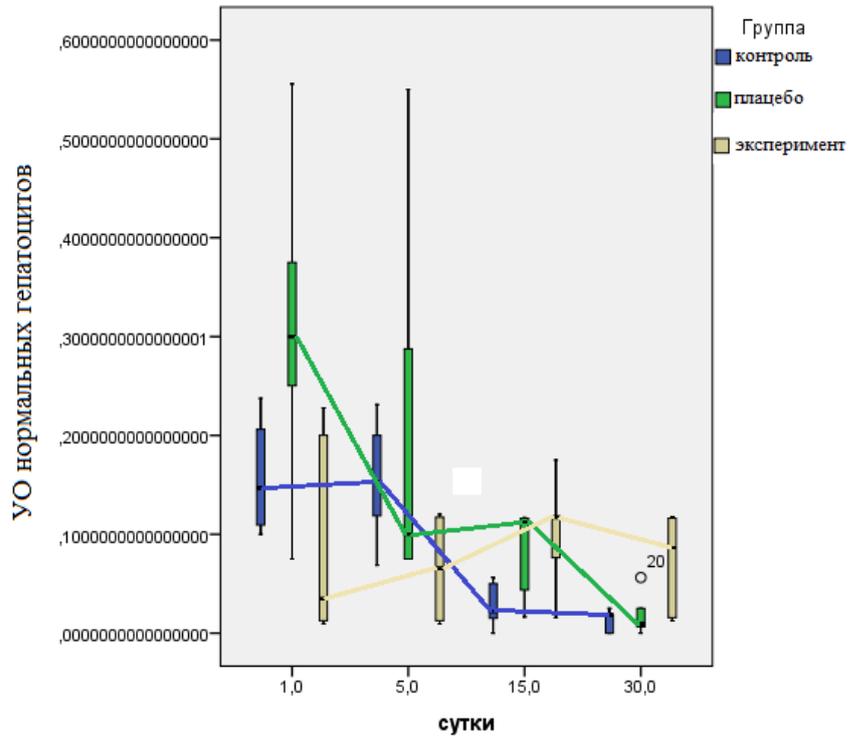


Рисунок 71. Динамика изменений показателя удельного объёма нормальных гепатоцитов в исследуемых группах

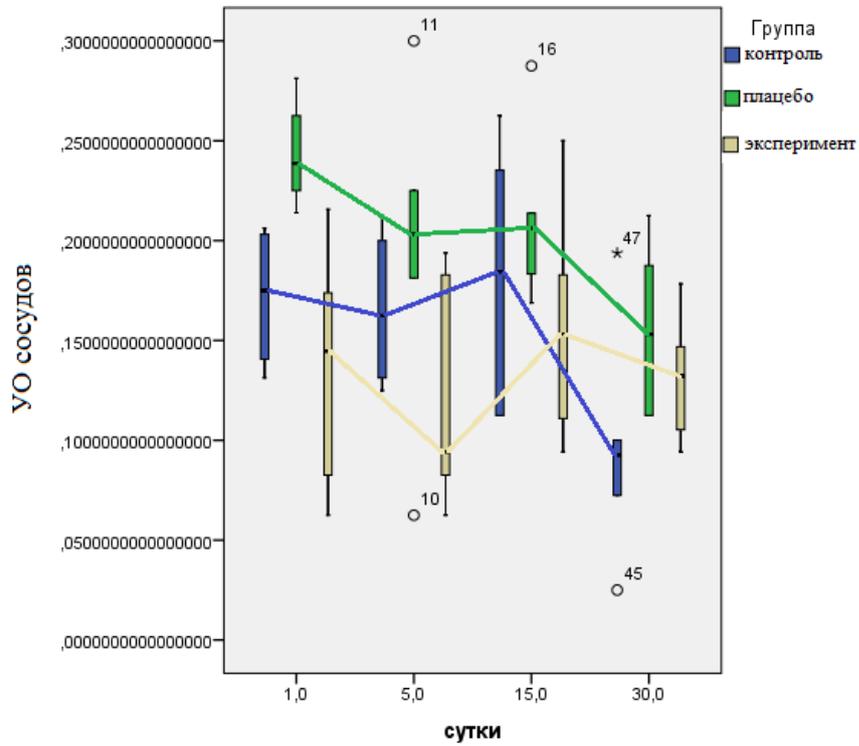


Рисунок 72. Динамика изменений показателя удельного объёма сосудов в исследуемых группах

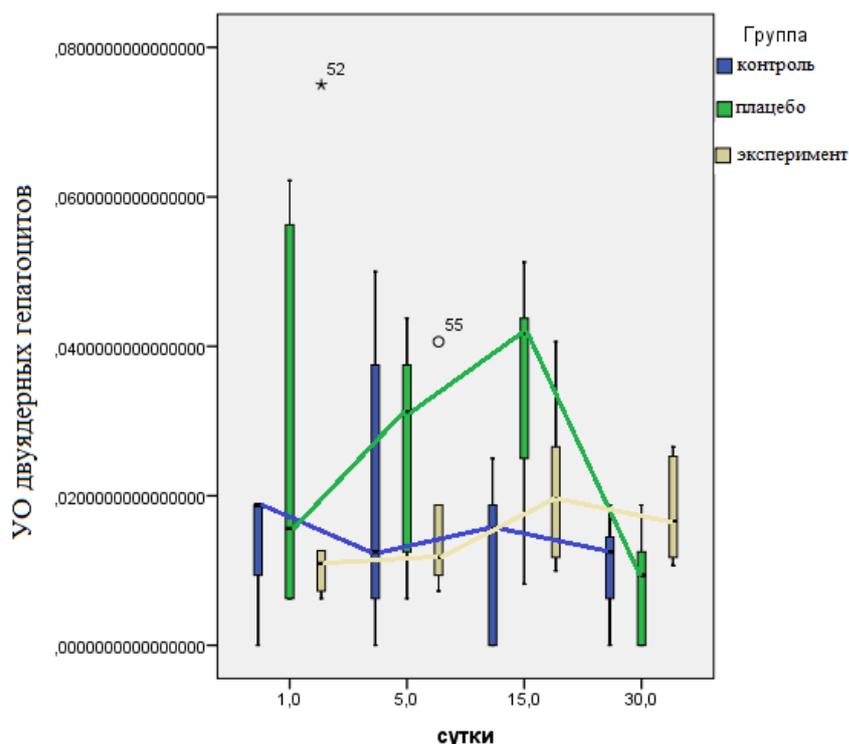


Рисунок 73. Динамика изменений показателя удельного объёма двуядерных гепатоцитов в исследуемых группах

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. При этом следует подчеркнуть, что 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.

Главным преимуществом «неравновесной плазмы» над криодеструкцией жидким азотом при обработке хронических абсцессов печени является 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 здоровая ткань печени страдает меньше при воздействии «неравновесной плазмой», чем при воздействии низкими температурами.

## Глава 5

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Настоящая работа посвящена изучению влияния «неравновесной плазмы» и криодеструкции на ткань печени в условиях развития гнойного воспаления (абсцесса печени).

Эксперименты выполнены на животных – крысах-самцах массой тела 200 – 220 г. В общей сложности прооперировано 85 животных.

На первом этапе изучено влияние «неравновесной плазмы» 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: ингаляционный наркоз аппаратом E-Z Anesthesia (наркозный препарат – Форан), верхнесрединная лапаротомия с последующим выведением доли печени в рану, соответствующая обработка поверхности печени в зависимости от исследуемой 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  $-196^{\circ}\text{C}$ ), 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  $\text{CO}_2$ -асфиксии в специальной камере.

На первом этапе в эксперименте *in vivo* выполнялось гистологическое исследование. Для приготовления гистологических препаратов использовали

ткани из области воздействия тем или иным методом. Обзорную микроскопию осуществляли на микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Для анализа выраженности фиброза использовали окраску пикрофуксином по Ван-Гизону.

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: анестезия (ингаляционный наркоз 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 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: ингаляционный наркоз аппаратом E-Z Anesthesia (наркозный препарат – Форан), верхнесрединная лапаротомия с последующим

выведением доли печени с абсцессом в рану. Далее производили вскрытие гнойника с эвакуацией гнойного содержимого и соответствующую обработку стенки абсцесса в зависимости от исследуемой 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 (Ethicon, Шотландия), затем накладывали асептическую повязку.

В каждой исследуемой группе после вскрытия абсцесса печени и эвакуации гнойного содержимого выполняли соответствующее воздействие на стенку абсцесса:

1. Группа плацебо (n=5). Воздействие на печень не производилось.
2. Контроль (n=5). Воздействие на поверхность печени низкими температурами – с помощью специального зонда из никелида титана выполнялась криодеструкция (температура -196 °С), воздействие осуществлялось в течение 1 мин.
3. Экспериментальная группа (n=5). Воздействие «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 CO<sub>2</sub>-асфиксии в специальной камере.

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

- исследование влияния способа обработки на жизнеспособность бактериальной микрофлоры (посев из полости абсцесса после воздействия на его стенку).
- биохимический анализ плазмы крови на наличие маркёров функционального состояния печени (глюкоза, общий белок, билирубин

общий, билирубин прямой, АСТ, АЛТ, ГГТ,  $\alpha$ -амилаза, мочевины, креатинин, щелочная фосфатаза)

- гистологическое исследование и морфометрия - 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.
- статистический анализ полученных данных. Статистическую обработку проводили при помощи пакета программы SPSS. 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  $p < 0,05$ .

### **Результаты исследования**

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. Глубина проникновения «неравновесной плазмы» при обработке не превышает 2 мм, при том, что промораживание вглубь паренхимы печени при криодеструкции достигает 7 мм и более.

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.

Согласно данным гистологического исследования, промывание полости абсцесса стерильным 0,9% раствором NaCl и воздействие на стенку абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1» способствовали 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» отсутствовал 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. В частности, на 1 сутки на микропрепаратах в группе криодеструкции 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 препаратах печени после обработки стенки абсцесса «неравновесной плазмой» с помощью аппарата «ИХП-1» на 1 сутки, в отличие от других групп, 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). В воспалительной инфильтрации меньшее количество эозинофилов, также в стенке капсулы отсутствуют желчные протоки. К 15 суткам в группе криодеструкции 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. К 15-м суткам в группе обработки «неравновесной плазмой» 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. На 30 сутки во всех группах происходит дальнейшее прорастание соединительной ткани в паренхиму печени, в результате которого в толще капсулы встречаются единичные гепатоциты с признаками дегенерации, окруженные коллагеновыми волокнами.

Отсюда можно предположить, что в случае подбора оптимальных условий работы аппарата «ИХП-1» возможно обеспечить асептические условия без формирования зоны некроза, минимизировать кровопотерю.

Анализ данных морфометрии показал характерную для всех групп тенденцию преобладания повреждения паренхимы печени над её регенерацией в ранние сроки после оперативного вмешательства, а также дальнейшего стихания патологических и доминирования восстановительных процессов в органе в поздние сроки. При этом следует подчеркнуть, что 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.

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 ускорению излечения 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 ускорению излечения 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 СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

АП	–	абсцесс печени
АЛТ	–	аланинаминотрансфераза
АСТ	–	аспартатаминотрансфераза
ГГТ	–	γ-глутамил трансфераза
ГМФ	–	гидролизат мясной ферментативный
ИХП-1	–	источник холодной плазмы-1
КТ	–	компьютерная томография
Ув.	–	увеличение
УЗИ	–	ультразвуковое исследование
УО	–	удельный объём
УФОК	–	ультрафиолетовое облучение крови
ЭРХПГ	–	эндоскопическая ретроградная холангиопанкреатография
ЦНИЛ СибГМУ	–	Центральная научно-исследовательская лаборатория Сибирского государственного медицинского университета
АРС	–	Argon Plasma Coagulation (аргоноплазменная коагуляция)
Me	–	медиана
Q <sub>0,25</sub>	–	25% квартиль
Q <sub>0,75</sub>	–	75% квартиль

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Абсцесс печени вследствие пенетрации инородного тела желудка / Л.Л. Гусев, А.А. Хотинский, К.Д. Далгатов, А.В. Сажин // Эндоскопическая хирургия. – 2017. – Т. 23, № 2. – С.39–42.
2. Абсцесс печени как редкое осложнение мочекаменной болезни / Г.О. Кротов, Е.А. Маховская, С.Б. Ивлев, А.Д. Маховский // Российский электронный журнал лучевой диагностики. – 2017. – Т. 7, № 2. – С. 174–178.
3. Абсцесс печени: возможности инструментальной диагностики / Г.Г. Устинов, М.Ф. Солощенко, Г.М. Инговатова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № S4. – С. 107–108.
4. Абсцессы печени: выбор метода лечения / С.Н. Пащина, Е.М. Благитко, А.А. Беспалов // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2014. – № 4. – С. 41.
5. Альперович, Б.И. Неотложная хирургия живота / Б.И. Альперович, М.М. Соловьёв. – Томск : Курсив, 2002. – 222 с.
6. Альперович, Б.И. Хирургия печени : руководство / Б.И. Альперович // Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – 348 с.
7. Альперович, Б.И. Хирургия печени и желчных путей / Б.И. Альперович. – Томск, 1997. – 605 с.
8. Антисептик анавидин в профилактике и лечении гнойно-септических осложнений при повреждениях печени в эксперименте / Е.Е. Чепурных, С.А. Лепехова, Т.В. Фадеева и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – № 5. – С. 242–245.
9. Арипова, Н.У. Возможности малоинвазивной технологии при лечении абсцессов печени / Н.У. Арипова // Актуальные вопросы гепатобилиарной хирургии: Материалы XXI Международного Конгресса ассоциации гепатобилиарных хирургов стран СНГ. – Пермь, 2014. – С. 78–79.
10. Ахаладзе, Г.Г. Абсцессы печени / Г.Г. Ахаладзе, И.Ю. Церетели // Анналы хирургической гепатологии. – 2006. – Т. 11, № 1. – С. 97–105.

11. Ахаладзе, Г.Г. Ключевые вопросы хирургического лечения абсцессов печени / Г.Г. Ахаладзе // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2012. – Т. 17, № 1. – С. 53–58.
12. Ахаладзе, Г.Г. Хирургическое лечение абсцессов печени / Г.Г. Ахаладзе // *Актуальные вопросы гепатобилиарной хирургии: Материалы XXI Международного Конгресса ассоциации гепатобилиарных хирургов стран СНГ*. – Пермь, 2014. – С. 80.
13. Ахаладзе, Г.Г. Холангиогенные абсцессы печени / Г.Г. Ахаладзе, И.Ю. Церетели // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2006. – Т. 11, № 2. – С. 30–35.
14. Блажитко, Е.М. Абсцессы печени: динамика причин и исходов / Е.М. Блажитко, С.Н. Пасина, А.А. Беспалов // *Актуальные вопросы гепатобилиарной хирургии: Материалы XXI Международного Конгресса ассоциации гепатобилиарных хирургов стран СНГ*. – Пермь, 2014. – С. 83.
15. Васильева, А.А. Ультразвуковая диагностика абсцессов печени и подпеченочного пространства / А.А. Васильева, Н.Б. Емельянова, И.В. Хайдукова // *Вестник Челябинской областной клинической больницы*. – 2017. – № 3 (37). – С. 18–21.
16. Взаимосвязь содержания малонового диальдегида, активности глутатионпероксидазы и полиморфизма гена GPX4 (718С/Т) при хроническом гепатите С / И.А. Булатова, А.П. Щекотова, А.В. Кривцов и др. // *Клиническая лабораторная диагностика*. – 2014. – Т. 59, № 10. – С. 15–18.
17. Влияние активных форм кислорода низкотемпературной газоразрядной плазмы на резистентность мембран клеток / И.П. Иванова, С.В. Трофимова, И.М. Пискарёв и др. // *Вестник Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского*. – 2011. – № 2–2. – С. 190–195.
18. Влияние озонированного физиологического раствора на содержание микроэлементов и показатели перекисного окисления липидов при опухолевом росте / А.В. Алясова, К.Н. Конторщикова, И.Г. Терентьев, С.Н. Цыбусов // *Журнал Медиаль*. – 2013. – № 2. – С. 35–38.

19. Влияние тетрахлорметана на состояние процессов липопероксидации крови и печени крыс / С.Ю. Большухин, С.П. Перетягин, А.К. Мартусевич, А.Г. Соловьева // Биорадикалы и антиоксиданты. – 2014. – Т. 1, № 1. – С. 59–65.
20. Внекишечная инфекция, обусловленная *Blastocystis* spp., у больной с абсцессом печени / Т.В. Продеус, О.П. Зеля, Т.А. Хлебникова, Д.А. Пикуль // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. – 2014. – № 2. – С. 6–10.
21. Внутриволокнистая лазеротерапия в хирургии моделирования полостей / А.И. Урусова, В.В. Алипов, М.С. Лебедев и др. // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2016. – Т. 6, № 12. – С. 1701–1702.
22. Воздействие низкотемпературной аргоновой плазмы слаботочных высоковольтных разрядов на микроорганизмы / А.П. Семенов, Б.Б. Балданов, Ц.В. Ранжуров и др. // Прикладная физика. – 2014. – № 3. – С. 47–50.
23. Возможности магнитно-резонансной томографии в дифференциальной диагностике очаговых образований печени / Е.Л. Белоусова, Г.Г. Кармазановский, В.А. Кубышкин и др. // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2015. – № 7. – С. 78–84.
24. Возможности малоинвазивных методов лечения множественных абсцессов печени / Е.Е. Ачкасов, А.Г. Запольский, С.Ф. Алекперов, А.В. Юрий // Хирургическая практика. – 2011. – № 1. – С. 5–7.
25. Волчегорский, И.А. Динамика состояния системы перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита при аллоксановом диабете у крыс / И.А. Волчегорский, Л.М. Рассохина, И.Ю. Мирошниченко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 1. – С. 31–35.
26. Геворгян, А.Ш. Перекисное окисление липидов в печени и легких животных при эхинококкозе / А.Ш. Геворгян // Российский паразитологический журнал. – 2012. – № 3. – С. 74–79.
27. Гурьянова, В.А. Перекисное окисление липидов при поражении печени ионизирующей радиацией / В.А. Гурьянова, Н.Б. Тарасова // Ученые

записки Казанской Государственной Академии Ветеринарной Медицины им. Н.Э. Баумана. – 2013. – Т. 213. – С. 76–80.

28. Демонстрация пациента «Абсцесс печени как осложнение деструктивного аппендицита» / А.Н. Смирнов, М.А. Голованев, Д.В. Залихин и др. // Российский вестник детской хирургии, анестезиологии и реаниматологии. – 2015. – Т. 5, № 1. – С. 128–129.
29. Дударев, В.А. Диагностика и лечение абсцесса печени у детей / В.А. Дударев, В.О. Складнева // Наука и современность. – 2010. – № 1–2. – С. 202–204.
30. Емельянов, Д.Н. Оценка влияния терапии гипохлоритом натрия на перекисное окисление липидов, антиоксидантную защиту, синдромы цитолиза и холестаза у больных токсическими гепатитами / Д.Н. Емельянов, Р.Г. Мязин // Вестник Алматинского Государственного Института усовершенствования врачей. – 2013. – № 4. – С. 79–81.
31. Ефимов, Д.С. Опыт лечения абсцессов печени в условиях больницы скорой помощи / Д.С. Ефимов // European research. – 2017. – № 1 (24). – С. 93–98.
32. Значение малонового диальдегида и глутатионтрансферазы в оценке поражения печени и мониторинге терапии при хроническом гепатите С / И.А. Булатова, А.П. Щекотова, А.В. Кривцов и др. // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 4–2. – С. 246–251.
33. Зубов, А.Д. Посттравматические абсцессы печени: ультразвуковая диагностика и мини-инвазивное эхоконтролируемое лечение / А.Д. Зубов, Д.И. Вилсон // Травма. – 2014. – Т. 15, № 3. – С. 89–93.
34. Инактивация микроорганизмов в холодной аргоновой плазме атмосферного давления / Б.Б. Балданов, Ц.В. Ранжуров, Ч.Н. Норбоев и др. // Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления. – 2015. – Т. 55, № 4. – С. 56–60.
35. Исследование механизмов биоцидного действия излучения плазмы искрового разряда / И.П. Иванова, С.В. Трофимова, И.М. Пискарев и др. // Современные технологии в медицине. – 2012. – № 3. – С. 12–17.
36. Кадошук, Т.А. Комплексная терапия и хирургическое лечение холангиогенных абсцессов печени / Т.А. Кадошук // Актуальные

вопросы гепатобилиарной хирургии: Материалы XXI Международного Конгресса ассоциации гепатобилиарных хирургов стран СНГ. – Пермь, 2014. – С. 91–92.

37. Казарян, Г.С. Исследование свободнорадикальных процессов и содержание цитокинов при эхинококкозе печени / Г.С. Казарян, Л.М. Овсепян, А.В. Зангинян // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т.2, № 3. – С. 661–664.
38. Кипшидзе, А.А. Биостатистический анализ результатов лечения бактериальных абсцессов печени с использованием малоинвазивных методов и открытых хирургических вмешательств / А.А. Кипшидзе, П.С. Бейнер, Н.В. Бейнер // Медичні перспективи. – 2013. – Т.18, № 4. – С. 74–78.
39. Кипшидзе, А.А. Сравнительный анализ эффективности применения антисептических препаратов при лечении бактериальных абсцессов печени / А.А. Кипшидзе, П.С. Бейнер, Н.В. Бейнер // Молодой ученый. – 2014. – Т. 61, № 2. – С. 343–345.
40. Клиническое наблюдение множественных абсцессов печени, протекавших под маской острого энтероколита / Т.В. Аснер, А.Н. Калягин, А.А. Рожанский, И.А. Пошкайте, Р.В. Казакова, В.В. Свистунов // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2008. – Т. 83, № 8. – С. 90-92.
41. Константинов, Д.Ю. Состояние и роль перекисного окисления липидов у пациентов с хроническим гепатитом С (генотип 1В) до и после проведения противовирусной терапии / Д.Ю. Константинов, А.А. Суздальцев // Казанский медицинский журнал. – 2014. – Т. 95, № 5. – С. 736–739.
42. Косаковская, И.А. Изучение апоптоза после электротермоадгезии мягких тканей в эксперименте / И.А. Косаковская, Д.В. Ватлизов, В.В. Андрияш // Оториноларингология Восточная Европа. – 2015. – № 1 (18). – С. 71–77.
43. Косаковская, И.А. Морфологическое исследование кожи экспериментальных животных после применения электросварочной технологии / И.А. Косаковская, А.Ф. Карась, Г.А. Карась // Оториноларингология Восточная Европа. – 2014. – № 4 (17). – С. 67–76.

44. Косенко, Ю.А. Влияние экстракорпорального ультрафиолетового облучения крови на кислородный баланс у больных с бактериальным абсцессом печени / Ю.А. Косенко // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2012. – Т. 7, № 2. – С. 108–112.
45. Косенко, Ю.А. Изменение показателей перекисного окисления липидов под влиянием ультрафиолетового облучения крови у больных с бактериальным абсцессом печени в послеоперационном периоде / Ю.А. Косенко // Український журнал екстремальної медицини імені Г.О.Можаєва. – 2011. – Т. 12, № 4. – С. 109–113.
46. Костюченко, М.В. Посттравматические абсцессы печени: возможности миниинвазивных методов диагностики и лечения / М.В. Костюченко // Хирургия. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2016. – № 1. – С. 20–23.
47. Ксейко, Д.А. Процессы перекисного окисления липидов и защитная роль антиоксидантной системы в печени и эритроцитах в условиях острой кровопотери / Д.А. Ксейко, Т.П. Генинг. // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 9–2. – С. 304–307.
48. Лечение солитарных абсцессов печени с учетом стадии формирования гнойника / В.В. Бойко, А.М. Тищенко, А.А. Малоштан и др. // Хирургия Украины. – 2013. – № 1 (45). – С. 16–21.
49. Лечение цистобилиарного свища, осложненного абсцессом печени после эхинококкэктомии / Т.В. Хоробрых, Г.Х. Мусаев, А.С. Фатьянова, Г.Г. Томаев // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2011. – № 12. – С. 71–72.
50. Линев, К.А. Диагностика и методы хирургического лечения абсцессов печени / К.А. Линев // Український журнал екстремальної медицини імені Г.О.Можаєва. – 2010. – Т. 11, № 1. – С. 103–106.
51. Линёв, К.А. Сравнение выраженности синдрома эндогенной интоксикации в зависимости от размеров и количества гнойных полостей при абсцессах печени / К.А. Линёв // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т. 5, № 4. – С. 95–97.

52. Линёв, К.А. Сравнительный анализ осложнений после традиционного и малоинвазивного лечения абсцессов печени / К.А. Линёв // Загальна патологія та патологічна фізіологія. – 2010. – Т. 5, № 1. – С. 168–170.
53. Майорова, Е.М. Абсцесс печени (клинический случай) / Е.М. Майорова, Р.Г. Сайфутдинов, А.Л. Хабиева // Дневник казанской медицинской школы. – 2016. – № 1 (11). – С. 32–35.
54. Методы диагностики и лечения абсцессов печени / С.Н. Стяжкина, Л.М. Ганеева, Е.Ю. Морозов, И.Ф. Саяпова // Электронный научный журнал. – 2016. – № 3 (6). – С. 47–49.
55. Миниинвазивное лечение абсцессов печени / М.П. Королев, Ю.А. Спесивцев, Л.Е. Федотов, Р.Г. Аванесян // Вестник Санкт-Петербургского университета. Медицина. – 2012. – № 4. – С. 121–131.
56. Миниинвазивное лечение очаговых образований печени / Р.Р. Гумеров, А.Б. Мальцев, Е.А. Чижова и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 1. – С. 167–168.
57. Миниинвазивные пункционно-дренирующие хирургические вмешательства под ультразвуковым контролем при жидкостных образованиях брюшной полости / Г.И. Охрименко, Н.Г. Головкин, В.А. Грушка, Е.И. Гайдаржи // Патологія. – 2013. – № 2 (28). – С. 8–12.
58. Минимально инвазивные хирургические технологии в лечение холангиогенных абсцессов печени / И.И. Дзидзава, Б.Н. Котив, А.А. Аполлонов и др. // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2017. – № 2. – С. 22–27.
59. Минимально-инвазивное хирургическое лечение множественных абсцессов печени / И.И. Дзидзава, Б.Н. Котив, А.А. Аполлонов и др. // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2017. – Т. 176, № 5. – С. 91–93.
60. Обследование и лечение пациентов с инфицированными полостными образованиями печени / М.А. Нартайлаков, М.Р. Гараев, А.И. Грицаенко, В.Д. Дорофеев // Медицинский вестник Башкортостана. – 2014. – Т. 9, № 6. – С. 96–100.
61. Описторхозные абсцессы печени / В.Ф. Цхай, Н.А. Бражникова, Н.В. Мерзликин и др. // Бюллетень сибирской медицины. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 129–134.

62. Особенности взаимодействия неравновесной плазмы с живыми тканями / А.Н. Алейник, А.Н. Байков, Г.Ц. Дамбаев и др. // Вестник науки Сибири. – 2012. – № 3 (4). – С. 44–48.
63. Особенности окислительного стресса при метаболическом синдроме с жировым поражением печени / И.А. Булатова, А.П. Щекотова, К.Н. Карлышева // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 2. – С. 307.
64. Особенности окислительного стресса при хроническом гепатите С / А.А. Щекотова, П.В. Улитина, И.А. Булатова, О.Ю. Ненашева // Пермский медицинский журнал. – 2014. – Т. 31, № 1. – С. 98–102.
65. Острое отравление этанолом и его комплексное повреждающее действие на функциональные возможности печени / А.В. Машанов, Г.Г. Юшков, В.В. Бенеманский, Т.М. Филиппова // АСТА BIOMEDICA SCIENTIFICA. – 2013. – № 6 (94). – С. 153–157.
66. Патоморфологические особенности резекционного края печени непосредственно после использования аппарата высокочастотной электрохирургической сварки и монополярного электрокоагулятора / В.В. Бойко, Н.А. Ремнева, Н.С. Черняев, Н.Н. Брицкая // Новости хирургии. – 2015. – Т. 23, № 3. – С. 256–261.
67. Пащина, С.Н. Абсцессы печени: выбор метода лечения / С.Н. Пащина, Е.М. Блажитко, А.А. Беспалов // Journal of Siberian Medical Sciences. – 2014. – № 4. – С. 41.
68. Перекисное окисление липидов в ядрах клеток печени мышей в норме и после частичной гепатэктомии / В.А. Трофимов, О.Н. Аксенова, А.А. Дудко и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155, № 4. – С. 427–430.
69. Перекисное окисление липидов при фасциозе крупного рогатого скота / А.В. Зангинян, Л.М. Овсепян, Г.С. Казарян, А.М. Асатрян // Российский паразитологический журнал. – 2012. – № 4. – С. 65–68.
70. Петраков, А.В. Перекисное окисление липидов и активность фосфолипазы А2 в сыворотке крови больных неалкогольной жировой болезнью печени / А.В. Петраков, Т.В. Нилова, Л.А. Звенигородская // Доктор.ру. – 2015. – № 2–2 (103). – С. 26.

71. Применение иммуностропной терапии в лечении пациента с абсцессом печени (клиническое наблюдение) / В.М. Земсков, М.Н. Козлова, Н.С. Шишкина и др. // Русский медицинский журнал. – 2014. – Т. 22, № 31. – С. 2227–2229.
72. Применение неравновесной плазмы в медицине и биологии / О.И. Виноградова, С.Ю. Телицкий, Е.В. Щукина, А.Н. Алейник. – Научная сессия МИФИ-2009: аннотации докладов. – Москва, 2009. – С. 128.
73. Пышкин, С.А. Абсцессы печени / С.А. Пышкин // Актуальные вопросы гепатобилиарной хирургии: Материалы XXI Международного Конгресса ассоциации гепатобилиарных хирургов стран СНГ. – Пермь, 2014. – С. 103.
74. Разваляева, О.В. Ферментодиагностика и перекисное окисление липидов при патологии печени / О.В. Разваляева, И.В. Родионова, В.В. Скворцов // Медицинский алфавит. – 2015. – Т. 2, № 10. – С. 16–17.
75. Разработка бактерицидного оборудования и исследование процессов обеззараживания патогенных микроорганизмов холодной аргоновой плазмой / А.П. Семенов, Б.Б. Балданов, Ц.В. Ранжуров и др. // Сибирский научный медицинский журнал. – 2015. – Т. 36, № 1. – С. 18–22.
76. Руководство по хирургии очаговых паразитарных заболеваний печени / Н.В. Мерзликин, Б.И. Альперович, Н.А. Бражникова и др. – Томск : Печатная мануфактура, 2013. – 468 с.
77. Сипров, А.В. Сравнительная оценка изменения показателей перекисного окисления липидов и системы глутатиона в тканях печени крыс с карциномой Walker-256 при использовании производных пиримидина и 3-гидроксипиридина в сочетании с доксорубицином и паклитакселом / А.В. Сипров, Ю.А. Костина // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2014. – № 3 (31). – С. 30–38.
78. Случай успешного лечения грудного ребенка с абсцессом печени, осложнившимся оментитом / В.Н. Грона, В.К. Литовка, К.В. Латышов, Ж. Тейшейра // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2006. – Т. 7, № 4. – С. 717–718.

79. Слюняева, М.К. Функционально-адаптационные возможности организма больных с эмпиемой плевры и абсцессом печени / М.К. Слюняева // Бюллетень медицинских интернет-конференций. – 2013. – Т. 3, № 2. – С. 284.
80. Современная тактика в лечении бактериальных абсцессов печени / В.А. Овчинников, А.А. Малов, С.В. Акуленко и др. // Медицинский альманах. – 2013. – № 5 (29). – С. 99–102.
81. Современные возможности диагностики и хирургического лечения бактериальных абсцессов печени / В.В. Хацко, А.Д. Шаталов, А.Д. Зубов и др. // Вестник неотложной и восстановительной медицины. – 2013. – Т. 14, № 3. – С. 369–372.
82. Соносемиотика нетипичных форм внутривисцерального абсцедирования / Е.А. Чижова, Е.Э. Тюрюмина, Р.Р. Гумеров и др. // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 4–2. – С. 222–226.
83. Способ лечения абсцессов в эксперименте : пат 2460533 Рос. Федерация : МПК А 61 К 33/34, А 61 К 33/14, А 61 Р 31/02 / В.В. Алипов, М.С. Лебедев, С.Ю. Доронин – № 2011131910/15; заявл. 28.07.2011; опубл. 10.09.2012, Бюл. № 25 – 1 с.
84. Способ моделирования абсцесса печени : пат. 2318248 Рос. Федерация : МПК G 09 В 23/28 / М.А. Нартайлаков, А.Х. Мустафин, Х.Х. Мурзабаев и др. – № 2006142428/14; заявл. 22.11.2006; опубл. 27.02.2008, Бюл. № 6. – 3 с.
85. Сравнительный анализ описторхозных и непаразитарных абсцессов печени / Н.В. Мерзликин, Н.А. Бражникова, В.Ф. Цхай и др. // Анналы хирургической гепатологии. – 2015. – Т. 20, № 1. – С. 66–75.
86. Срубиллин, Д.В. Изменения цитокинового профиля и активности процессов перекисного окисления липидов в крови крыс в механизмах формирования воспалительного ответа при хронической интоксикации дихлорэтаном / Д.В. Срубиллин, Д.А. Еникеев, В.А. Мышкин // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 5. – С. 79.
87. Структура импульсного разряда с переменной частотой повторения / Н.А. Шарапов, А.В. Хинкис, С.И. Гаджихалилова и др. // Вопросы

- анатомии науки и техники. Серия: термоядерный синтез. – 2017. – Т.40, № 2. – С. 61–64.
88. Толстиков, А.П. Выбор метода хирургического лечения больных с бактериальными абсцессами печени / А.П. Толстиков // Казанский медицинский журнал. – 2012. – Т. 93, № 2. – С. 265–269.
89. Федорук, А.М. Абсцессы печени: опыт использования ультразвукового исследования в диагностике и лечении в трансплантологическом центре / А.М. Федорук // Актуальные вопросы гепатобилиарной хирургии: Материалы XXI Международного Конгресса ассоциации гепатобилиарных хирургов стран СНГ. – Пермь, 2014. – С. 106–107.
90. Хирургическая тактика лечения холангиогенного абсцесса печени у больного с аберрантным цистобилиарным протоком (случай из практики) / В.М. Унгуриян, А.В. Святненко, Д.А. Суворов и др. // Medline.ru. – 2014. – Т. 15, № 2. – С. 299–308.
91. Хирургические аспекты осложненного и сопутствующего хронического описторхоза / Б.И. Альперович, Н.А. Бражникова, В.Ф. Цхай и др. – Томск : ТМЛ-Пресс, 2010. – 360 с.
92. Холангиогенные абсцессы печени у больных с послеоперационными рубцовыми стриктурами желчных протоков / З.А. Дундаров, В.М. Майоров, Д.М. Адамович, С.Л. Зыблев // Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии : Материалы XXI Международного Конгресса ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ. – Пермь, 2014. – С. 89–90.
93. Хужахметова, Л.К. Динамика процессов перекисного окисления липидов у крыс при стрессе и после фармакологической коррекции / Л.К. Хужахметова, Л.Г. Сентюрова // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 4. – С.471.
94. Щмаров, Р.А. Резекционная хирургия печени при очаговых образованиях печени / Р.А. Щмаров, Б.А. Авасов, С.А. Айтбаев // Молодой ученый. – 2016. – № 25 (129). – С. 158–161.
95. Электрическая сварка мягких тканей при лапароскопической холецистэктомии / Ю.В. Иванов, Н.П. Истомин, И.А. Белоглядов,

- Н.А. Соловьев // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2009. – Т. 14, № 1. – С. 75–79.
96. Altered antioxidant system stimulates dielectric barrier discharge plasma-induced cell death for solid tumor cell treatment [Electronic resource] / N.K. Kaushik, N. Kaushik, D. Park, E.H. Choi // *PLoS One*. – 2014. – Vol. 9, N 7. – URL : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4113384>.
97. Ayles, H.M. *Hepatic Abscesses and Cysts* / H.M. Ayles, S.L. Bailey // *Handbook of Liver Disease* / L.S. Friedman, P. Martin. – 4-th ed. – Elsevier, 2018. – Chapter 30. – P. 395–412.
98. Bacterial inactivation by high-voltage atmospheric cold plasma: influence of process parameters and effects on cell leakage and DNA / L. Han, S. Patil, K.M. Keener et al. // *J. Appl. Microbiol.* – 2014. – Vol. 116, N 4. – P. 784–794.
99. Bipolar plasma vaporization versus monopolar TUR and “cold-knife” TUI in secondary bladder neck sclerosis – An evidence based, retrospective critical comparison in a single center clinical setting / C. Moldoveanu, B. Geavlete, M. Jecu et al. // *J. Med. Life*. – 2014. – Vol. 7, N 1. – P. 94–99.
100. Carus, T. Collateral tissue damage by several types of coagulation (monopolar, bipolar, cold plasma and ultrasonic) in a minimally invasive, perfused liver model [Electronic resource] / T. Carus, K. Rackebrandt // *ISRN Surg.* – 2011. – Vol. 2011. – URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3200089/>.
101. Christine, M. *The Management of Hepatic Abscess* / M. Christine, M.D. Durand // *Current Surgical Therapy* / eds. J.L. Cameron. – 12-th ed. – Elsevier, 2017. – P. 376–380.
102. Cold atmospheric plasma for selectively ablating metastatic breast cancer cells. [Electronic resource] / M. Wang, B. Holmes, X. Cheng et al. // *PLoS One*. – 2013. – Vol. 8, N 9. – URL : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3770688>.
103. Cold plasma inactivation of chronic wound bacterial / N.M. Nasir, B.K. Lee, S.S. Yap et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2016. – Vol. 605. – P. 76–85.

104. Comparison of direct and indirect effects of non-thermal atmospheric-pressure plasma on bacteria, plasma processes and polymers [Electronic resource] / G. Fridman, A.D. Brooks, M. Balasubramanian, G. Friedman // ResearchGate. – 2007. – URL : [https://www.researchgate.net/publication/227993173\\_Comparison\\_of\\_Direct\\_and\\_Indirect\\_Effects\\_of\\_Non-Thermal\\_Atmospheric-Pressure\\_Plasma\\_on\\_Bacteria](https://www.researchgate.net/publication/227993173_Comparison_of_Direct_and_Indirect_Effects_of_Non-Thermal_Atmospheric-Pressure_Plasma_on_Bacteria).
105. Dielectric barrier discharge plasma in coagulation and sterilization / M. Balasubramanian, A. Sebastian, M. Peddinghaus et al. // Blood (ASH Annual Meeting Abstracts). – 2006. – Vol. 108. – Abstr. 4043.
106. Graves, D.B. Low temperature plasma biomedicine: A tutorial review [Electronic resource] / D.B. Graves // Phys. Plasmas. – 2014. – Vol. 21, N 8. – URL: <http://scitation.aip.org/content/aip/journal/pop/21/8/10.1063/1.4892534>.
107. Hepatic abscess: Diagnosis and management / S. Lardiè-re-Deguelte, E. Ragot, K. Amroun et al. // J. Visc. Surg. – 2015. – Vol. 152, N 4. – P. 231–243.
108. Hoffmann, C. Cold Atmospheric Plasma: methods of production and application in dentistry and oncology [Electronic resource] / C. Hoffmann, C. Berganza, J. Zhang // Med. Gas. Res. – 2013. – Vol. 3, N 1. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4016545>.
109. Kim, A.Y. Bacterial, parasitic, and fungal infections of the liver, including liver abscesses / A.Y. Kim, R.T. Chung // Sleisenger and Fordtran's gastrointestinal and liver disease. – 10-th ed. – Elsevier, 2016. – Chapter 84. – P. 1374–1392.
110. Lamps, L.W. Liver: Non-Neoplastic Diseases / L.W. Lamps // Rosai and Ackerman's Surgical Pathology / eds. J.R. Goldblum. – 11-th ed. – Elsevier, 2017. – Chapter 19. – P. 726–802.
111. Liver Abscess / S.M. Black, S. Prabhakaran, S.M. Vickers // Shackelford's Surgery of the Alimentary Tract / C.J. Yeo. – 7-th ed. – Elsevier, 2013. – Chapter 118. – P. 1464–1478.
112. Liver Abscess: Pyogenic and Amebic Hepatic Abscess / P.S. Wolf, J.O. Park // Netter's Infectious Diseases. – Elsevier, 2012. – Chapter 47. – P. 268–272.

113. Low Temperature Plasma: A Novel Focal Therapy for Localized Prostate Cancer? [Electronic resource] / A.M. Hirst, F.M. Frame, N.J. Maitland, D. O'Connell // *Biomed Res. Int.* – 2014. – Vol. 2014. – URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3971493/>.
114. Mai-Prochnow, A. Atmospheric pressure plasmas: Infection control and bacterial responses / A. Mai-Prochnow, A.B. Murphy, K.M. McLean // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2014. – Vol. 43, N 6. – P. 508–517.
115. Mazza, O.M. Pyogenic liver abscess / O.M. Mazza, M. De Santibañes E. De Santibañes // *Blumgart's Surgery of the Liver, Biliary Tract and Pancreas* / eds. W.R. Jarnagin. – 6-th ed. – Elsevier, 2017. – Chapter 72. – P. 1073–1082.
116. Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma Inhibits Thyroid Papillary Cancer Cell Invasion via Cytoskeletal Modulation, Altered MMP-2/-9/uPA Activity [Electronic resource] / J.W. Chang, S.U. Kang, Y.S. Shin et al. // *PLoS One.* – 2014. – Vol. 9, N 3. – URL : <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0092198>.
117. Non-Thermal Atmospheric-Pressure Plasma Possible Application in Wound Healing / B. Haertel, T. von Woedtke, K.D. Weltmann, U. Lindequist // *Biomol. Ther. (Seoul).* – 2014. – Vol. 22, N 6. – P. 477–490.
118. Nonthermal plasma induces head and neck cancer cell death: the potential involvement of mitogen-activated protein kinase-dependent mitochondrial reactive oxygen species [Electronic resource] / S.U. Kang, J.H. Cho, J.W. Chang et al. // *Cell Death. Dis.* – 2014. – Vol. 5, N 2. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3944250>.
119. Non-thermal plasma—More than five years of clinical experience [Electronic resource] / G. Isbary, J.L. Zimmermann, T. Shimizu et al. // *ResearchGate.* – 2013. – URL : [https://www.researchgate.net/publication/236857077\\_Non-thermal\\_plasma\\_-\\_More\\_than\\_five\\_years\\_of\\_clinical\\_experience](https://www.researchgate.net/publication/236857077_Non-thermal_plasma_-_More_than_five_years_of_clinical_experience).
120. Percutaneous drainage for giant pyogenic liver abscess—is it safe and sufficient? / S. Ahmed, C.L. Chia, S.P. Junnarkar et al. // *Am. J. Surg.* – 2016. – Vol. 211, N 1. – P. 95–101.

121. Pyogenic liver abscess / G.J. Webb, T.P. Chapman, P.J. Cadman et al. // *Frontline Gastroenterol.* – 2014. – Vol. 5, N 1. – P. 60–67.
122. Restoration of sensitivity in chemo-resistant glioma cells by cold atmospheric plasma [Electronic resource] / J. Köritzer, V. Boxhammer, A. Schäfer et al. // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, N 5. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3660344>.
123. Seeger, W. Pneumology – from phthisiology to regenerative medicine / W. Seeger // *Dtsch. Med. Wochenschr.* – 2005. – Vol. 130. – P. 1543–1546.
124. Seeto, R.K. Amebic Liver Abscess: Epidemiology, Clinical Features, and Outcome / R.K. Seeto, D.C. Rockey // *WJM.* – 1999. – Vol. 170, N 2. – P. 95–101.
125. Setsuhara, Y. Low-temperature atmospheric-pressure plasma sources for plasma medicine / Y. Setsuhara // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2016. – Vol. 605. – P. 3–10.
126. Sifri, D.C. Infections of the Liver and Biliary System (Liver Abscess, Cholangitis, Cholecystitis) / D.C. Sifri, C.M. Lawrence // *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases* / eds. J.E. Bennett. – Updated Ed. – Elsevier, 2015. – Chapter 77. – P. 960–968.
127. Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: results of a randomized controlled trial / G. Isbary, J. Heinlin, T. Shimizu et al. // *Br. J. Dermatol.* – 2012. – Vol. 167, N 2. – P. 404–410.
128. Suschek, C.V. The application of cold atmospheric plasma in medicine: The potential role of nitric oxide in plasma-induced effects / C.V. Suschek, C. Opländer // *Clinical Plasma Medicine.* – 2016. – Vol. 4, N 1. – P. 1–8.
129. The application of cold-plasma coagulation on the visceral pleura results in a predictable depth of necrosis without fistula generation / M. Hoffmann, A. Ulrich, E. Schloericke et al. // *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* – 2012. – Vol. 14, N 3. – P. 239–243.
130. The interplay between biological and physical scenarios of bacterial death induced by non-thermal plasma / O. Lunov, V. Zablotskii, O. Churpita et al. // *Biomaterials.* – 2016. – Vol. 82. – P. 71–83.

131. Tissue Tolerable Plasma (TTP) induces apoptosis in pancreatic cancer cells in vitro and in vivo [Electronic resource] / L.I. Partecke, K. Evert, J. Haugk et al. // BMC Cancer. – 2012. – Vol. 12. – URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3598726/>.
132. Tracking the penetration of plasma reactive species in tissue models [Electronic resource] / E.J. Szili, S.H. Hong, J.S. Oh et al. // Trends Biotechnol. – 2017. – URL : [http://www.cell.com/trends/biotechnology/fulltext/S0167-7799\(17\)30192-0](http://www.cell.com/trends/biotechnology/fulltext/S0167-7799(17)30192-0).
133. Unique characteristics of pyogenic liver abscesses of biliary origin / S. Shi, W. Xia, H. Guo et al. // Surgery. – 2016. – Vol. 159, N 5. – P.1316–1324.
134. Von Woedtke, Th. Clinical plasma medicine: state and perspectives of in vivo application of cold atmospheric plasma. / Th. Von Woedtke, H.-R. Metelmann, K.-D. Weltmann // CPP. – Vol. 54, N 2. – P. 104–117.