

Отдаленные результаты применения «холодноплазменной» коагуляции в сравнении с гемостатическими швами печени

Е.В. СЕМИЧЕВ, А.Н. БАЙКОВ, П.С. БУШЛАНОВ, Е.А. ГЕРЕНГ, Г.Ц. ДАМБАЕВ, Е.С. КОЩЕВЕЦ

Сибирский государственный медицинский университет, Московский тракт, д. 2, Томск, 634050, Российская Федерация

Актуальность Согласно данным статистики, в мирное время ранения печени встречаются с частотой 15-29,9 % случаев, послеоперационная летальность составляет от 4-10% до 39,3%. Быстрая остановка кровотечения из сосудов печени является первоочередной задачей для хирурга при любом виде хирургического вмешательства. Инновационным методом остановки печёночных кровотечений является использование "неравновесной плазмы" (синоним «холодная плазма»).

Цель исследования Сравнить морфофункциональные изменения печени, возникающие в отдаленные периоды после атипичной резекции печени с последующим гемостазом "холодной плазмой" и наложением гемостатических швов.

Материалы и методы Эксперимент выполняли на 25 лабораторных крысах-самцах. Выделено 3 группы исследования: 5 интактных животных (контроль) и по 5 животных в группе после атипичной резекции печени и наложения гемостатических швов, и в группе после атипичной резекции печени и коагуляции холодной плазмой. Взятие материала для исследования производили на 90 и 180-е сутки после оперативного вмешательства. Оперативное вмешательство – резекция левой доли печени, наложение гемостатических швов либо коагуляция холодной плазмой. Выполняли биохимический контроль крови (глюкоза, АЛТ, АСТ, тимоловая проба, билирубин общий и прямой, щелочная фосфатаза, общий белок, мочевины, α -амилаза, С-реактивный белок, фибриноген, АЧТВ, протромбиновое время, МНО), а также оценивали морфологические и морфометрические параметры в биоптатах печени.

Результаты и их обсуждение Анализ биохимических маркеров выявил незначительные колебания общего белка и глюкозы в экспериментальных группах относительно группы контроля. Наиболее значимая тенденция отмечалась в группе с гемостазом печени неравновесной плазмой. При оценке морфометрических показателей в группе с гемостазом «холодной» плазмой на 180-е сут. отмечалось полное восстановление структуры органа, а в группе с наложением гемостатических швов сохранялись деструктивные изменения. Это свидетельствовало о более выраженном патологическом действии гемостатических швов на гепатоциты в сравнении с действием «холодной плазмы».

Выводы Гемостаз неравновесной плазмой приводит к быстрой остановке кровотечения, при этом к 180-м сут. происходит репарация морфологической картины печени и восстановление внутреннего кровотока при сохранности всех биохимических показателей крови. Прощивание паренхимы печени с целью гемостаза приводит к дистрофическим и некротическим изменениям гепатоцитов, а также морфологическим признакам микрососудистого тромбоза и периваскулярного фиброза, сохраняющегося вплоть до 180-х сут.

Ключевые слова Гемостатический шов, неравновесная плазма, печёночное кровотечение, гемостаз

Long-Term Results of Using of "Cold Plasma" Coagulation in Comparison with Suturing of the Liver

E.V. SEMICHEV, A.N. BAIKOV, P.S. BUSHLANOV, E.A. GERENG, G.C. DAMBAYEV, E.S. KOSHHEVEC

Siberian State Medical University, 2 Moskovskii path, Tomsk, 634050, Russian Federation

Relevance According to statistics, liver injuries occur with a frequency of 15-29,9% of the cases in peacetime. Postoperative mortality ranges from 4-10% to 39.3%. Quick hemostasis of hepatic vessels is a primary task for the surgeon in any kind of surgery. Innovative method of stopping the bleeding of liver is the use of "non-equilibrium plasma" (a synonym for "cold plasma").

The purpose of the study To make a comparative analysis of morphofunctional changes of liver in long-term period after atypical resection of liver and hemostasis by suturing and cold plasma.

Materials and methods Research was performed on 25 laboratory rats. There are 3 experimental groups: 5 intact animals (control group) and 5 animals in each group after liver resection and suturing and liver resection and cold plasma coagulation. Material for research was taken on the 90th and 180th day after surgery. Surgery is resection of liver left lobe, suturing or cold plasma coagulation. The biochemical control (glucose, ALT, AST, thymol test, total bilirubin, direct bilirubin, alkaline phosphatase, total protein, urea, α -amylase, CRP, fibrinogen, aPTT, PTT, INR), morphological study of rat liver were performed.

Results and their discussion Analysis of biochemical markers reveals a slight fluctuation of total protein and glucose in experimental groups relatively the control group. The most significant tendency is observed in plasma group. Analysis of morphological markers reveals, that full restoration of the liver structure is observed in plasma group on the 180th day. In suturing group destructive changes remain. This indicates that pathological effects caused by the suturing were considerably higher than

© Е.В. Семичев, А.Н. Байков, П.С. Бушланов, Е.А. Геренг, Г.Ц. Дамбаев, Е.С. Кощевец. Отдаленные результаты применения «холодноплазменной» коагуляции в сравнении с гемостатическими швами печени. Вестник экспериментальной и клинической хирургии, 2015; 8: 2: 195-205. DOI: 10.18499/2070-478X-2015-8-2-195-205

the effects produced by the action of cold plasma.

Conclusion Cold plasma hemostasis leads to fast bleeding control. In this case reparation of morphological picture of the liver and restoration of the internal blood flow occur on 180-th day. Suturing of liver parenchyma leads to dystrophic and necrotic changes of hepatocytes, as well as morphological signs of microvascular thrombosis and perivascular fibrosis that remain up to 180-th day.

Key words Hemostatic suture, non-equilibrium plasma, liver hemorrhage, hemostasis

В настоящее время во всём мире наблюдается тенденция к росту травматизма, обусловленная развитием транспортных средств, механизацией трудовых процессов во всех отраслях производства. По данным ВОЗ, смертность от механических травм занимает третье место среди всех летальных исходов и выходит на первое место у лиц, погибших в возрасте моложе 40 лет, достигая 80% среди подростков и юношей [8].

Согласно данным статистики, даже в мирное время ранения печени встречаются с частотой 15-29,9 % случаев [7]. Печень является самым крупным паренхиматозным органом в организме человека, который легко травмируется как при прямом воздействии ранящими и колотыми предметами, так и вследствие тупых травм живота [15]. По частоте распространенности повреждения печени уступают лишь травмам тонкого и толстого кишечника. При тупой травме живота повреждения печени встречаются в 7,2 – 17,8 % случаев [2, 3]. В тоже время, послеоперационная летальность при повреждениях печени очень высока и составляет при колото-резаных ранах 4-10%, при закрытой травме 30,4-35,2%, при сочетанной травме до 39,3% [7]. Быстрая остановка кровотечения из сосудов печени является первоочередной задачей для хирурга при любом виде хирургического вмешательства, будь то плановая или экстренная помощь. При любой операции необходимо осуществлять полный, быстрый, безопасный, а также с минимальным повреждающим эффектом гемостаз [12].

В настоящее время, существует множество способов остановки кровотечений из печени. Наиболее распространёнными являются: наложение гемостатических швов, резекция повреждённых участков печени, различные виды коагуляции, применение ультразвуковых скальпелей, а также использование клеевых композиций [1-3, 7]. Важно отметить, что остановка кровотечения из печени затруднительна, так как в рану дополнительно истекает желчь, обладающая выраженной фибринолитической активностью [4, 5].

Для остановки печёночных кровотечений мы предлагаем использовать "неравновесную плазму" (синоним «холодная плазма»). В Томском политехническом университете разработан генератор «холодной плазмы» - аппарат "Плазменный коагулятор". Данный прибор генерирует на конце электрода низкотемпературный ($t \leq 45^\circ$) разряд с наличием ультрафиолетовой активности. Плазменный разряд, содержит электроны, различные ионы, нейтральный (незаряженные) атомы и молекулы, свободные радикалы и активные частицы (O_3 , NO, HO, H_2O_2) [11-14]. Обработка низкотемпера-

турным (менее $60\text{ }^\circ\text{C}$) плазменным разрядом раневой поверхности печени приводит к индукции гемостаза и остановки кровотечения.

Цель исследования: сравнить морфофункциональные изменения печени, возникающие в отдаленные периоды после атипичной резекции печени с последующим гемостазом "холодной плазмой" и наложением гемостатических швов.

Материалы и методы

Проведение данного исследования одобрено локальным этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета г.Томска (протокол №2029 от 20 июня 2011г.).

Эксперимент проводили на 25 лабораторных крысах-самцах массой тела 200-220 г, полученных из вивария НИИ фармакологии СО РАМН (г. Томск). 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). В 1-ю (контрольную) группу вошли интактные животные; во 2-ю группу – животные после атипичной резекции печени и наложения гемостатических швов, в 3-ю группу – животные после атипичной резекции печени и коагуляции холодной плазмой. Взятие материала для исследований производили на 90 и 180-е сут. В контрольной группе было 5 животных, в экспериментальных группах по 10 животных – по 5 на каждый срок взятия материала. Анестезию осуществляли однократным внутримышечным введением препарата «Zoletil-100» (производство «Virbac», Франция) в дозе 0,03 мл с последующим однократным внутримышечным введением 0,1 мл препарата XylaVET (производство «Pharmamagist Ltd», Венгрия) [4]. Удаляли шерсть с передней брюшной стенки при помощи специальной машинки для стрижки животных. Доступ к печени осуществляли верхнесрединной лапаротомией с последующим выведением левой доли печени в рану. Далее удаляли участок паренхимы левой доли печени размером 1,3x0,7 см и накладывали гемостатические швы по Оппелю нитью Vicryl 4/0 на атравматической игле (Ethicon, Шотландия), либо производили обработку кровоточащей поверхности пучком неравновесной плазмы до полной коагуляции. После остановки кровотечения осуществляли контроль гемостаза, погружали печень в брюшную полость, рану послойно ушивали нитью Vicryl 5/0 на атравматической игле

(Ethicon, Шотландия), затем накладывали асептическую повязку.

Биохимический контроль выполнен путем исследования крови у экспериментальных животных в контрольные сроки (глюкоза, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), тимоловая проба, билирубин общий и прямой, щелочная фосфатаза, общий белок, мочевины, α -амилаза, С-реактивный белок, фибриноген, АЧТВ, протромбиновое время, МНО). Взятие крови осуществляли по стандартной методике после предварительной CO_2 – асфиксии в специализированной камере и последующей декапитации животного.

С целью анализа тканевых и клеточных изменений производили взятие гистологического материала во всех экспериментальных группах (90 и 180-е сут) из области выполненного гемостаза с последующей

фиксацией в 10% растворе нейтрального формалина, проводкой по спиртам и заливкой в парафин по стандартной методике. Обзорную световую микроскопию производили на срезах окрашенных гематоксилином и эозином, а выраженность фиброза оценивали на препаратах, окрашенных пикрофуксином по Ван-Гизону. Выполняли морфометрическое исследование гистологических препаратов печени с подсчетом удельного объема гепатоцитов с признаками дистрофии (mm^3/mm^3), двуядерных гепатоцитов (mm^3/mm^3), объемной плотности соединительной ткани (mm^3/mm^3). В 1 mm^2 среза определяли общее количество печеночных клеток с некротическими изменениями и общее количество клеток воспалительного инфильтрата.

Результаты анализа представлены в виде медианы и интерквартильных разбросов – Me [Q1-Q3]. Статистическое исследование количественных данных

Таблица 1

Биохимические показатели крови

Показатель	Показатели группы контроля	Показатели в группе со швом печени		Показатели в группе с гемостазом печени неравновесной плазмой	
		90-е сут	180-е сут	90-е сут	180-е сут
Глюкоза (ммоль/л)	9,1 [8,7;9,3]	5,8* [5,10; 5,80]	6,1 [5,50; 10,00]	4,2*^ [3,8;4,3]	3,3* [2,9;3,8]
АЛТ (Ед/л)	139 [97;160]	130 [120;135]	132 [115;140]	130 [120;135]	132 [115;140]
АСТ (Ед/л)	181 [152; 190]	163 [111; 175]	177 [140; 189]	163 [111; 175]	177 [140; 189]
Тимоловая проба, усл. ед.	1,33 [1,33;1,56]	1,33* [1,11; 1,56]	1,11* [0,60; 1,11]	0,67 [0,44;1,68]	1,11 [0,67;1,68]
Бил. общий мкмоль/мл	8,0 [7,90;8,5]	7,90 [7,80; 8,0]	8 [7,90; 8,20]	7 [7,0;8,8]	7,9 [7,2;8,8]
Бил. прямой мкмоль/мл	0	0	0	0	0
α -амилаза (Ед/л)	2645 [2500;2756]	2721 [2621;2895]	2567 [2342;2796]	2721 [2621;2895]	2567 [2342;2796]
ЩФ (Ед/л)	287 [209;302]	360 [330,00; 410,00]	360 [220,00; 385,00]	270,0 [210,0;360,0]	220,0 [220,0;270,0]
Общ белок (г/л)	71,0 [69,0;72,0]	71,8* [66,80; 82,60]	72,2 [57,80; 72,70]	76,3* [75,8;85,8]	85,5* [67,0; 90,3]
Мочевина (ммоль/л)	6,3 [5,8;7,4]	6,5 [6,0;7,2]	6,4 [5,9;7]	6,8 [6;7,4]	6 [5,5;6,5]
Фибриноген (г/л)	2,45 [2,25;2,5]	2,4 [2,25;2,65]	2,3 [2,2;2,5]	2,3 [1,85;2,7]	2 [1,5;2,4]
АЧТВ (сек)	20 [17;20]	18 [17;19]	20 [18;21]	20 [19;21]	21 [18;22]
Протромбиновое время (сек)	10 [8;10]	9 [8;10]	10 [9;10]	10 [9; 11]	10 [10; 11]
МНО	0,9 [0,9;0,9]	0,9 [0,9;1]	0,9 [0,9;1]	0,9 [0,9;1]	0,9 [0,9;0,9]
СРБ (мг/л)	0	0	0	0	0

* Статистическая значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении исследуемых показателей с контролем.

^ Статистическая значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении параметров с группой шва печени на 90-е сут.

• Статистическая значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении параметров с группой шва печени на 180-е сут.

выполняли в программе SPSS с использованием непараметрических критериев Крускала-Уоллиса и Манна-Уитни. Статистически значимыми считались значения $p < 0,05$. Документацию материала осуществляли протоколированием, фотографированием макро- и микроскопических препаратов.

Результаты собственных исследований и их обсуждение: после оперативного вмешательства на печени крысы были активны, начинали питаться на следующие сутки, животные не погибали на протяжении всего эксперимента.

Оценка биохимических показателей крови крыс в различных экспериментальных группах.

При анализе независимых данных (больше двух групп исследования) с использованием критерия Крускала-Уоллиса было выявлено, что такие показатели, как АЛТ ($p=0,99$), АСТ ($p=0,678$), общий билирубин ($p=0,542$), α -амилаза ($p=0,622$), ЩФ ($p=0,195$), моче-

вина ($p=0,75$), фибриноген ($p=0,671$), АЧТВ ($p=0,821$), протромбиновое время ($p=0,347$), МНО ($p=0,723$), не имеют статистически значимых различий во всех группах. Такие показатели, как уровень прямого билирубина и С-реактивного белка, во всех группах были отрицательными. Для остальных показателей требуется провести попарный анализ групп методом Манна-Уитни. Проводится анализ исследуемых групп и группы контроля.

При сравнении группы плазмы на 90-е сутки и группы контроля выявлено статистически значимое различие по показателям общего белка ($p=0,025$), глюкозы ($p=0,025$). Общий белок увеличился относительно группы контроля, глюкоза уменьшилась относительно группы контроля

При сравнении группы шва печени на 90-е сутки и группы контроля выявлено статистически значимое различие по показателям общего белка ($p=0,025$), глю-

Table 1

Biochemical blood test

Indicators	Control group	Suturing group		Plasma group	
		90th day	180th day	90th day	180th day
Glucose, mmol/l	9,1 [8,7;9,3]	5,8* [5,10; 5,80]	6,1 [5,50; 10,00]	4,2*^ [3,8;4,3]	3,3* [2,9;3,8]
ALT, U/l	139 [97;160]	130 [120;135]	132 [115;140]	130 [120;135]	132 [115;140]
AST, U/l	181 [152; 190]	163 [111; 175]	177 [140; 189]	163 [111; 175]	177 [140; 189]
Thymol test, RVU	1,33 [1,33;1,56]	1,33* [1,11; 1,56]	1,11* [0,60; 1,11]	0,67 [0,44;1,68]	1,11 [0,67;1,68]
Total bilirubin, micromol/l	8,0 [7,90;8,5]	7,90 [7,80; 8,0]	8 [7,90; 8,20]	7 [7,0;8,8]	7,9 [7,2;8,8]
Direct bilirubin, micromol/l	0	0	0	0	0
α -amylase, U/l	2645 [2500;2756]	2721 [2621;2895]	2567 [2342;2796]	2721 [2621;2895]	2567 [2342;2796]
Alkaline phosphatase, U/l	287 [209;302]	360 [330,00; 410,00]	360 [220,00; 385,00]	270,0 [210,0;360,0]	220,0 [220,0;270,0]
Total protein, g/l	71,0 [69,0;72,0]	71,8* [66,80; 82,60]	72,2 [57,80; 72,70]	76,3* [75,8;85,8]	85,5* [67,0; 90,3]
Urea, mmol/l	6,3 [5,8;7,4]	6,5 [6,0;7,2]	6,4 [5,9;7]	6,8 [6;7,4]	6 [5,5;6,5]
Fibrinogen, g/l	2,45 [2,25;2,5]	2,4 [2,25;2,65]	2,3 [2,2;2,5]	2,3 [1,85;2,7]	2 [1,5;2,4]
aPTT, sec	20 [17;20]	18 [17;19]	20 [18;21]	20 [19;21]	21 [18;22]
PTT, sec	10 [8;10]	9 [8;10]	10 [9;10]	10 [9; 11]	10 [10; 11]
MHO	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
INR	[0,9;0,9]	[0,9;1]	[0,9;1]	[0,9;1]	[0,9;0,9]
CRP, mg/l	0	0	0	0	0

* Statistical significance of differences ($p < 0,05$) in comparing of the studied parameters with the control.

^ Statistical significance of differences ($p < 0,05$) in comparing of the studied parameters with the suturing group on 90th day.

• Statistical significance of differences ($p < 0,05$) in comparing of the studied parameters with the suturing group on 180th day.

козы ($p=0,024$), тимоловой пробы ($p=0,021$). Общий белок и тимоловая проба увеличились относительно группы контроля, глюкоза уменьшилась относительно группы контроля. При сравнении группы плазмы и шва печени на 90-е сутки выявлено статистически значимое различие по показателю глюкозы ($p=0,046$). Показатель глюкозы ниже в группе плазмы относительно группы шва печени. При сравнении группы плазмы на 180-е сутки и группы контроля выявлено

статистически значимое различие по показателям общего белка ($p=0,025$), глюкозы ($p=0,025$). Общий белок увеличился относительно группы контроля, глюкоза уменьшилась относительно группы контроля. При сравнении группы шва печени на 180-е сутки и группы контроля выявлено статистически значимое различие по показателю тимоловой пробы ($p=0,02$). Тимоловая проба уменьшилась относительно группы контроля. При сравнении группы плазмы и шва печени на 180-е

Таблица 2

Морфометрические показатели паренхимы печени экспериментальных животных после гемостаза неравновесной плазмой и наложения гемостатических швов

Показатели	Удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии (мм ³ /мм ³)	Удельный объем двуядерных гепатоцитов (мм ³ /мм ³)	Число гепатоцитов с некротическими изменениями в 1 мм ²	Плотность инфильтрата в 1 мм ²	Удельный объем соединительной ткани, мм ³ /мм ³
Показатели группы контроля	1,145 [0,28;1,24]	8,3 [7,33;12,55]	1,75 [1,25; 2,28]	13,395 [12,5;23,7]	0 [0;0]
Плазма 90-е сут	27,5* [^] [25; 34,5]	5 [3,5; 9,5]	8* [4; 20]	1297* [^] [1083; 1665,5]	9,5* [8; 13]
Шов печени 90-е сут	63* [52; 74]	8 [5; 9]	11* [7; 14]	2144* [1434; 2643]	12* [8; 16]
Плазма 180-е сут	10* [•] [8; 14]	9,5 [8; 16]	3 [•] [1,5; 4]	1237,5* [1062; 1519]	9,5* [5,5; 13]
Шов печени 180-е сут	72,5* [58; 82]	7,5 [3; 11]	5* [4; 6]	1293,5* [916; 1350]	15* [9; 38]

* Статистическая значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении исследуемых показателей с контролем.

[^] Статистическая значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении параметров с группой шва печени на 90-е сут.

[•] Статистическая значимость различий ($p < 0,05$) при сравнении параметров с группой шва печени на 180-е сут.

Table 2

Morphometric parameters of the liver parenchyma of experimental animals after nonequilibrium plasma hemostasis and suturing

Indicators	Specific volume of hepatocytes with signs of degeneration, mm ³ /mm ³	Specific volume of binucleated hepatocytes, mm ³ /mm ³	the number of cells with necrotic changes in 1 mm ²	infiltrate density in 1 mm ²	the specific volume of the connective tissue, mm ³ /mm ³
Control group	1,145 [0,28;1,24]	8,3 [7,33;12,55]	1,75 [1,25; 2,28]	13,395 [12,5;23,7]	0 [0;0]
Plasma group on 90th day	27,5* [^] [25; 34,5]	5 [3,5; 9,5]	8* [4; 20]	1297* [^] [1083; 1665,5]	9,5* [8; 13]
Suturing group on 90th day	63* [52; 74]	8 [5; 9]	11* [7; 14]	2144* [1434; 2643]	12* [8; 16]
Plasma group on 180th day	10* [•] [8; 14]	9,5 [8; 16]	3 [•] [1,5; 4]	1237,5* [1062; 1519]	9,5* [5,5; 13]
Suturing group on 180th day	72,5* [58; 82]	7,5 [3; 11]	5* [4; 6]	1293,5* [916; 1350]	15* [9; 38]

* Statistical significance of differences ($p < 0,05$) in comparing of the studied parameters with the control.

[^] Statistical significance of differences ($p < 0,05$) in comparing of the studied parameters with the suturing group on 90th day.

[•] Statistical significance of differences ($p < 0,05$) in comparing of the studied parameters with the suturing group on 180th day.

сутки статистически значимых различий не выявлено (общий белок ($p=0,275$), глюкоза ($p=0,05$), тимоловая проба ($p=0,487$)).

Оценка морфологических показателей тканей печени крыс в различных экспериментальных группах.

В контрольной группе при исследовании морфологической структуры печени она имела типичное строение и состояла из печеночных долек, разделенных небольшими прослойками соединительной ткани. Каждая печеночная долька состоит из печеночных пластинок (балок), печеночных триад (междольковая артерия, междольковая вена и желчный проток), синусоидных капилляров и центральной вены. Печеночные пластинки представлены двумя слоями гепатоцитов, между которыми находится желчный капилляр. Кроме гепатоцитов в печеночной долке идентифицировались звездчатые макрофаги (Купферовы клетки печени), а также небольшие скопления Pit-клеток. (Рис. 1).

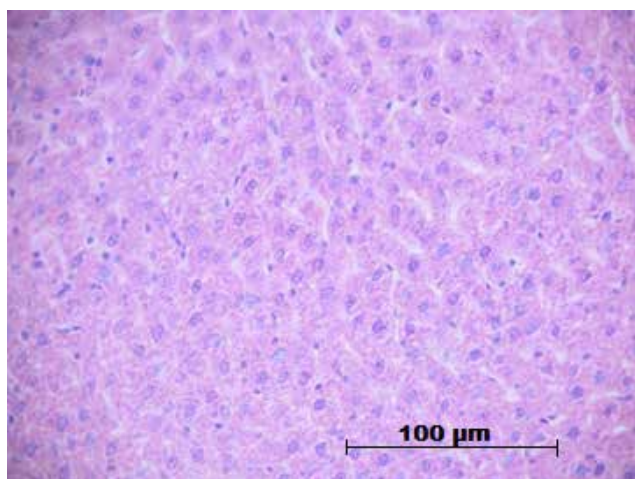


Рис. 1. Печень крысы контрольной группы исследования. Печеночная долька обычного строения. Окр. гематоксилином-эозином. / **Fig. 1.** Rat liver of the control group on 90th day of the study. Hepatic lobule has usual structure. Hematoxylin-eosin staining.

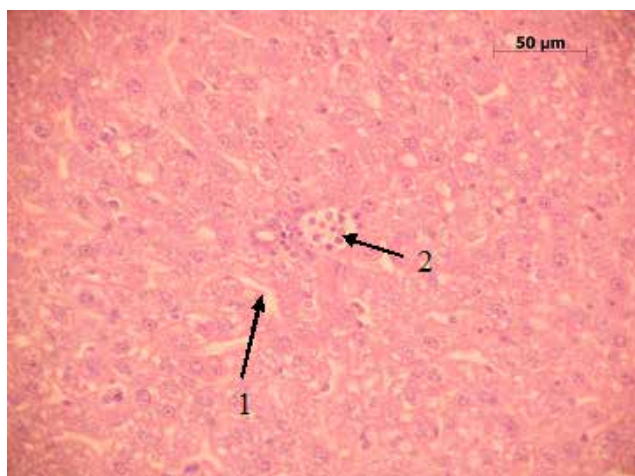


Рис. 3. Печень крысы. 90-е сут после наложения гемостатических швов. Расширение синусоидов (1) и полнокровие междольковых вен (2). Окр. гематоксилином-эозином. / **Fig. 3.** Rat liver of the suturing group on 90th day of the study. Distention of sinusoids (1) and congestion of interlobular veins (2). Hematoxylin-eosin staining.

При сравнении экспериментальной группы после воздействия неравновесной плазмы на 90-е сут и группы контроля выявлены статистически значимые различия по всем морфометрическим показателям, кроме удельного объема двуядерных гепатоцитов ($p=0,268$). Все показатели увеличились по сравнению с группой контроля. Аналогичная динамика выявлена при сравнении морфометрических показателей экспериментальной группы шва печени и группы контроля. При сравнении экспериментальной группы животных после наложения шва печени и воздействия неравновесной плазмы на 90-е сут в последней группе выявлено статистически значимое ($p=0,0001$) снижение общего числа гепатоцитов с признаками дистрофии и плотности воспалительного инфильтрата (табл. 2). При сравнении экспериментальной группы животных при действии «холодной плазмы» на 180-е сут и группы контроля выявлено статистически значимое

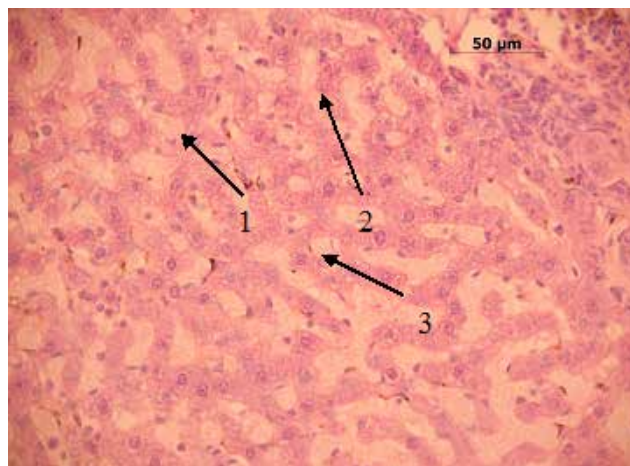


Рис. 2. Печень крысы. 90-е сут после наложения гемостатических швов. Выраженное расширение синусоидных капилляров (1). Гепатоциты с признаками белковой (2) и жировой дистрофий (3). Окр. гематоксилином-эозином. / **Fig. 2.** Rat liver of the suturing group on 90th day of the study. Significant distention of sinusoids (1). Hepatocytes with features of the protein (2), and fatty degeneration (3). Hematoxylin-eosin staining.

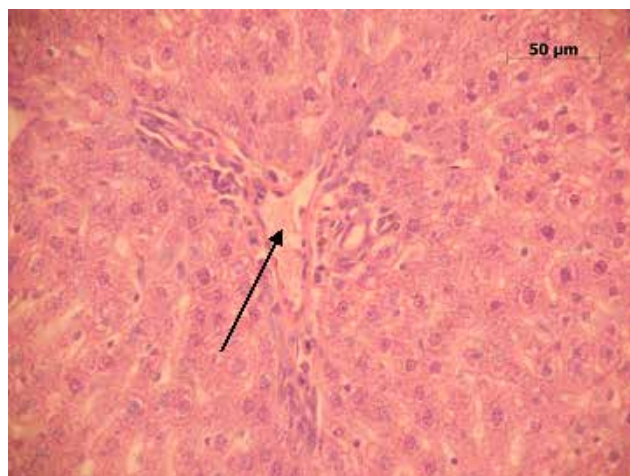


Рис. 4. Печень крысы. 90-е сут после наложения гемостатических швов. Венола с признаками внутрисосудистого свертывания. Окр. гематоксилином-эозином. / **Fig. 4.** Rat liver of the suturing group on 90th day of the study. Venules with signs of intravascular coagulation. Hematoxylin-eosin staining.

($p=0,006$) увеличение общего числа гепатоцитов с признаками дистрофии, плотности клеточного инфильтрата и удельного объема соединительной ткани. При сравнении группы шва печени на 180-е сут и группы контроля выявлено статистически значимое ($p=0,011$) повышение таких показателей как дистрофически и некротически измененные гепатоциты, плотность воспалительного инфильтрата и удельный объем соединительной ткани (табл. 2). При сравнении двух экспериментальных групп на 180-е сут выявлено статистически значимое ($p=0,0001$) снижение удельного объема гепатоцитов с признаками дистрофии и некроза в группе крыс после воздействия неравновесной плазмы по сравнению с группой гемостатического шва печени (табл. 2).

В группе с классическим гемостатическим швом печени на 90е сут при исследовании ткани железы паренхима состоит из печеночных долек, разделенных небольшими прослойками соединительной ткани.

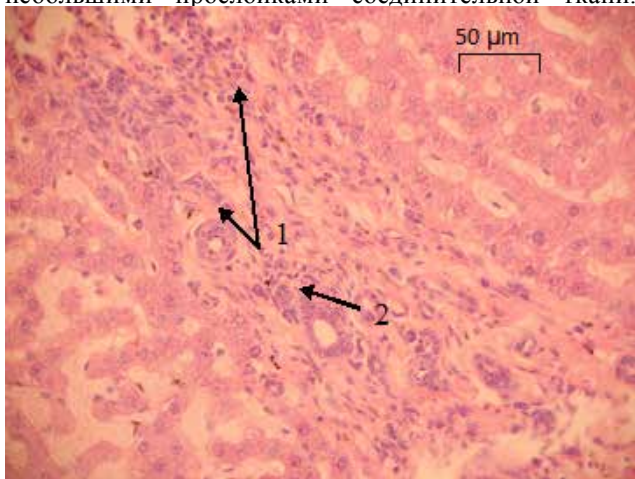


Рис. 5. Печень крысы. 90-е сут после наложения гемостатических швов. Периваскулярные (1) и перибилиарные (2) лимфогистиоцитарные инфильтраты. Окр. гематоксилином-эозином. / **Fig. 5.** Rat liver of the suturing group on 90th day of the study. Perivascular (1) and peribiliary (2) lymphohistiocytic infiltrates. Hematoxylin-eosin staining.

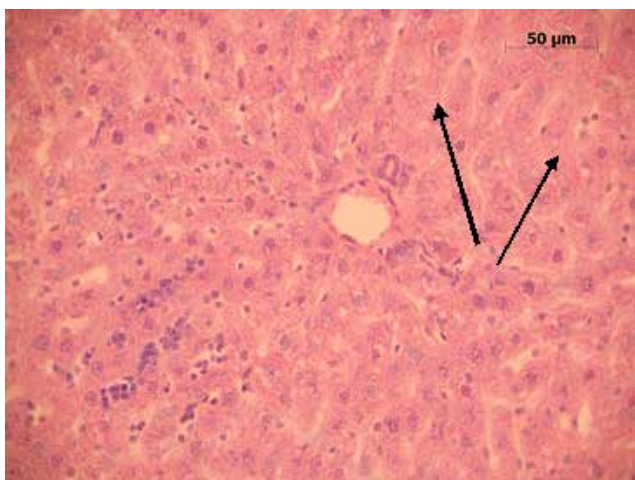


Рис. 7. Печень крысы. 90-е сут после наложения гемостатических швов. Гепатоциты с некротическими изменениями. Окр. гематоксилином-эозином. / **Fig. 7.** Rat liver of the suturing group on 90th day of the study. Hepatocytes with necrotic changes. Hematoxylin-eosin staining.

Среди гепатоцитов определяются двухъядерные клетки. Синусоидные капилляры расширены, с небольшими признаками отека. Среди гепатоцитов нормального строения определялись клетки с признаками белковой дистрофии (крупные базофильные зерна), а также жировой дистрофии (бесцветные вакуоли) (рис. 2).

Во многих препаратах определялись признаки венозного полнокровия – выраженное расширение междольковых вен с признаками краевого стояния лейкоцитов (рис. 3).

В некоторых сосудах микроциркуляторного русла у экспериментальных животных на 90-е сутки после наложения гемостатического шва определялась картина внутрисосудистого свертывания с отложением нитей фибрина и формирования тромбов (рис. 4).

В определенных участках паренхимы печени в исследуемой группе животных определялись единичные периваскулярные и перибилиарные лимфогистиоцитарные инфильтраты (рис. 5).

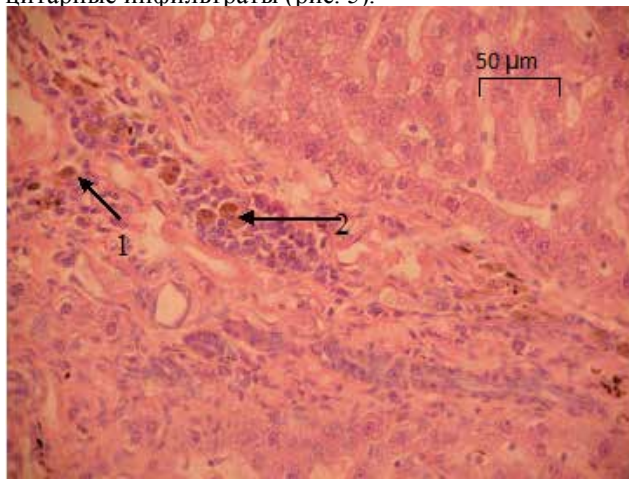


Рис. 6. Печень крысы. 90-е сут после наложения гемостатических швов. Участки кровоизлияний и гемосидерофаги. Окр. гематоксилином-эозином. / **Fig. 6.** Rat liver of the suturing group on 90th day of the study. Locuses of hemorrhage and hemosiderophages. Hematoxylin-eosin staining.



Рис. 8. Печень крысы. 90-е сут после гемостаза неравновесной плазмой. Расширение синусоидных капилляров (1) и междольковых вен (2). Окр. гематоксилином-эозином. / **Fig. 8.** Rat liver of the plasma group on 90th day of the study. Distention of sinusoids (1) and interlobular veins (2). Hematoxylin-eosin staining.

Важно отметить то, что в перипортальной области, а также в соединительной ткани между междольковой венной определялось большое количество гемосидерофагов, что может свидетельствовать о развитии диапедезных или очаговых кровоизлияний с последующим разрушением эритроцитов в макрофагах и превращением последних в гемосидерофаги (рис. 6).

В некоторых участках у экспериментальных групп животных после воздействия швом печени выявлялись очаги некрозов с формированием гепатоцитов с более светлой цитоплазмой и мелким пикнотичным ядром (рис. 7).

В группе с гемостазом неравновесной плазмой при атипичной резекции печени на 90-е сут в тканях железы сохранялись сосудистые нарушения, проявляющиеся в расширении синусоидных капилляров, центральных и междольковых вен, а также дистрофическими изменениями гепатоцитов (рис. 8, 9).

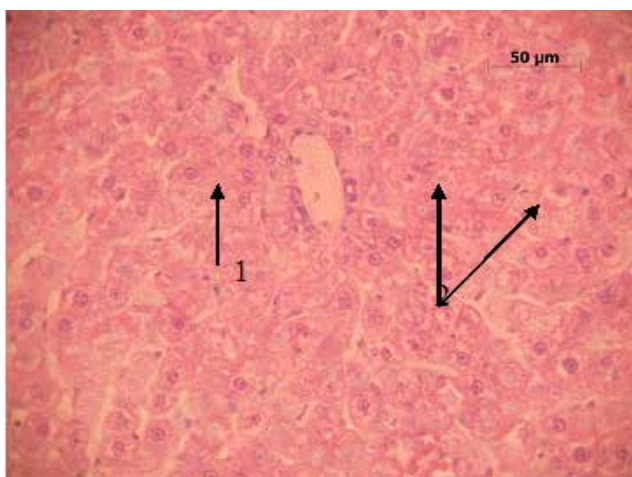


Рис. 9. Печень крысы. 90-е сут после гемостаза неравновесной плазмой. Гепатоциты с признаками белковой (1) и жировой дистрофии (2). Окр. гематоксилином-эозином. / **Fig. 9.** Rat liver of the plasma group on 90th day of the study. Hepatocytes with features of the protein (1), and fatty degeneration (2). Hematoxylin-eosin staining.

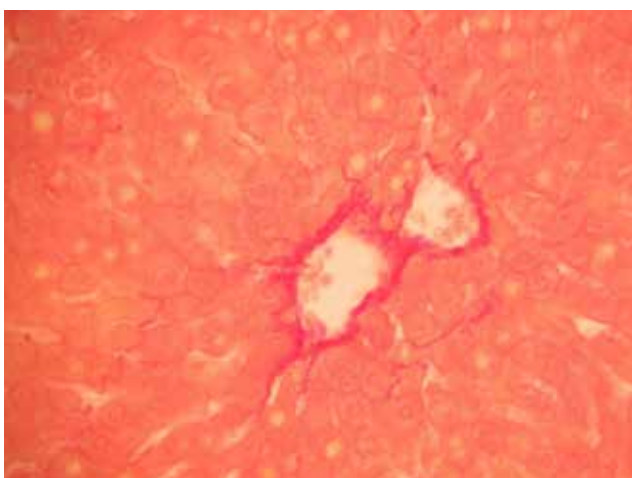


Рис. 11. Печень крысы. 90-е сут после гемостаза неравновесной плазмой. Перибилиарный и перипортальный фиброзы. Окр. пикрофуксином по Ван Гизону. / **Fig. 11.** Rat liver of the plasma group on 90th day of the study. Peribiliary and periportal fibrosis. Picro-fuchsin staining.

В некоторых участках определялись единичные круглоклеточные инфильтраты (рис. 10).

В этой группе животных на 90-е сутки исследования определялся умеренный перибилиарный и перипортальный фиброз, коллагеновые волокна разволокнены, набухшие (рис. 11).

На 180-е сут в группе с наложением гемостатических швов в препарате определялись признаки полнокровия с расширением синусоидных капилляров и центральных вен. В гепатоцитах сохранялись дегенеративные изменения с выраженными признаками белковой дистрофии. Фиброз выражен, преимущественно, периваскулярно (рис. 12).

В гистологических препаратах паренхима железы на 180-е сут после гемостаза «холодной» плазмой состоит из печеночных долек, разделенных небольшими прослойками соединительной ткани. Во многих

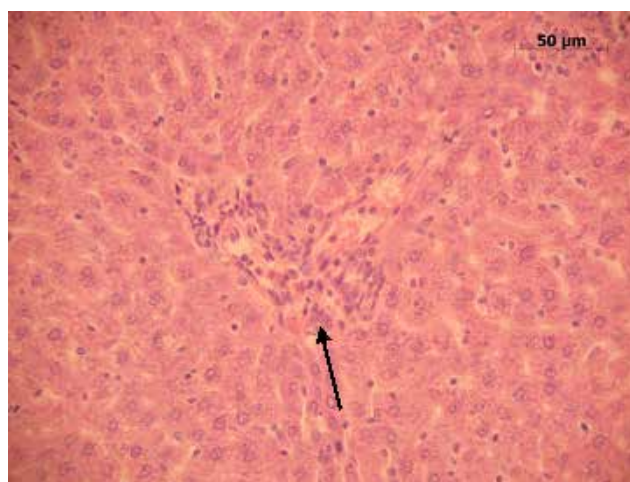


Рис. 10. Печень крысы. 90-е сут после гемостаза неравновесной плазмой. Единичные полиморфноклеточные инфильтраты. Окр. гематоксилином-эозином. / **Fig. 10.** Rat liver of the plasma group on 90th day of the study. Single polymorphocellular infiltrates. Hematoxylin-eosin staining.

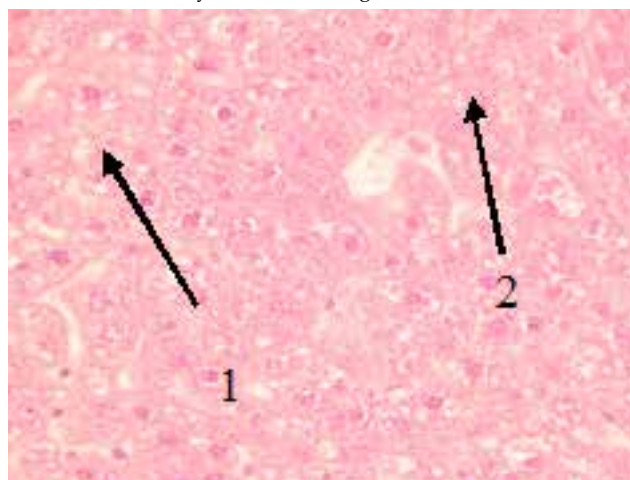


Рис. 12. Печень крысы. 180-е сут после наложения гемостатических швов. Гепатоциты с выраженными дегенеративными изменениями (1) и с признаками белковой дистрофии (2). Окр. гематоксилином и эозином. / **Fig. 12.** Rat liver of the suturing group on 180th day of the study. Hepatocytes with significant degenerative changes (1) and hepatocytes with features of the protein dystrophy (2). Hematoxylin-eosin staining.

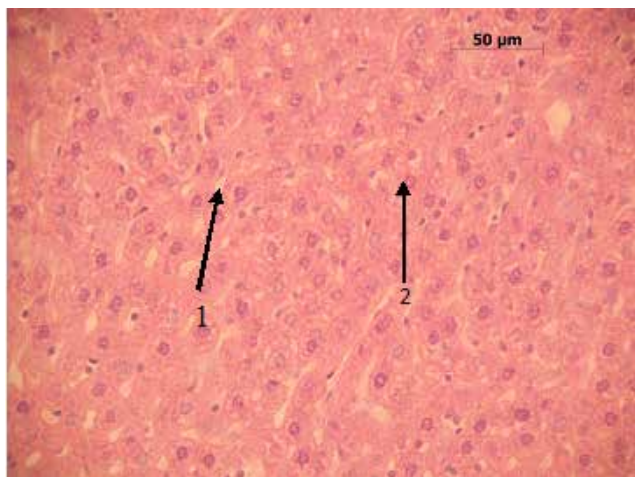


Рис. 13. Печень крысы. 180-е сут после гемостаза неравновесной плазмой. Незначительное расширение синусоидов (1). Гепатоциты обычного строения (2). Окр. пикрофуксином по Ван Гизону. / **Fig. 13.** Rat liver of the plasma group on 180th day of the study. Slight distention of sinusoids (1). Hepatocytes have usual structure (2). Picro-fuchsin staining.

участках этой группы экспериментальных животных печеночная долька сохраняла нормальное строение, большая часть гепатоцитов обычного типа. Однако, сосудистые изменения на уровне синусоидных капилляров сохраняются (рис. 13).

При исследовании биохимических маркеров крови в экспериментальных группах в отдаленный период сохраняются незначительные колебания показателей со склонностью к восстановлению, наиболее значимая тенденция отмечается в группе с гемостазом печени неравновесной плазмой. Статистически достоверные биохимические показатели белка и глюкозы крови несколько снижены, что говорит о сохраняющихся травматических изменениях в структуре железы и развитию соединительной ткани. Оценивая морфометрические показатели в группе с гемостазом «холодной» плазмой отмечается полное восстановление структуры органа. Это говорит о менее выраженном патологическом действии «холодной» плазмы на гепатоциты в сравнении с действием гемостатических швов (Чарышкин А.Л., 2012; Kalghatgil S., 2011; Fridman G., 2006). Неравновесная плазма имеет множество преимуществ в сравнении с другими методами гемостаза, а именно: низкую температуру, что позволяет избежать термиче-

ского поражения органа, развития ожоговых струпов, некрозов и, как следствие, чрезмерного развития рубцовой ткани. Барьерный разряд обладает выраженной ультрафиолетовой активностью, содержит электроны, различные ионы, нейтральные (незаряженные) атомы и молекулы, свободные радикалы и активные частицы (O_3 , NO, HO, H_2O_2), что даёт выраженный гемостатический эффект с минимальным повреждением паренхимы органа (Виноградова О.И. и др. 2009; Дамбаев Г.Ц. и др. 2011; Fridman G. et al 2005, 2006; Kalghatgi U. et al 2007). Дополнительным преимуществом «холодной» плазмы является отсутствие факторов, вызывающих ишемию обрабатываемой поверхности. Напротив, наиболее выраженным отрицательным воздействием обладают гемостатические швы, вызывающие дополнительное повреждение паренхимы железы, развитие механической ишемии непосредственно в зоне наложения швов и в дистальном отделе резецированного органа. Основными звеньями патогенеза развития рубцовых процессов (с возможной деформацией органа) в области резекции печени является гипоксия, вызывающая целый ряд патогенетических изменений, которые в итоге заканчиваются аутолизом дистальной части резецированного органа на ранних сроках. В поздних сроках (90-е и 180-е сут) ткань железы «страдает» от развития соединительной ткани (рубца), а в группе с гемостазом неравновесной плазмой данные явления нивелированы, чем и подтверждается полное восстановление структуры органа.

Выводы

1. В результат гемостаза классическим швом печени к 90-м сут. сохраняются дистрофических и некротических изменений гепатоцитов, а также морфологические признаки микрососудистого тромбоза и периваскулярного фиброза. Эти нарушения сохраняются до 180-х сут.

2. В результат гемостаза неравновесной плазмой к 90-м сут. сохраняются патологические изменения в паренхиме печени, проявляющиеся сосудистым тромбозом и периваскулярным фиброзом с полной репарацией морфологической картины печени и восстановлением внутреннего кровотока при сохранности всех биохимических показателей крови к 180-м сут.

Список литературы

1. Альперович Б.И. Хирургия печени. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010; 352.
2. Альперович Б.И., Соловьев М.М. Неотложная хирургия живота. Томск: Курсив, 2002; 222.
3. Асоян Г.А., Белоусов О.С. Местный гемостаз в хирургической практике. Вестник хирургии им. И.И. Грекова, 1984; 132: 4: 14-19.
4. Бородин О.Ю., Семичев Е.В., Бушланов П.С. Экспериментальная хирургия паренхиматозных органов (обзор

References

1. Al'perovich B.I. *Khirurgiia pecheni* [Liver surgery]. Moscow: GEOTAR-Media, 2010; 352. - (in Russ.).
2. Al'perovich B.I., Solov'ev M.M. *Neotlozhnaia khirurgiia zhivota* [Emergency surgery of the abdomen]. Tomsk: Kursiv, 2002; 222. - (in Russ.).
3. Asoian G.A., Belousov O.S. Local hemostasis in surgical practice. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova*, 1984; 132: 4: 14-19. - (in Russ.).
4. Borodin O.Iu., Semichev E.V., Bushlanov P.S. *Ekspperimental'naiia khirurgiia parenkhimatoznykh organov*

- литературы). Русский медицинский журнал, 2012; 36: 1743-1747.
5. Бородин О.Ю., Семичев Е.В. Анализ контрастирующего эффекта при динамической магнитнорезонансной томографии с Примовистом у крыс, оперированных на печени с применением классического шва. Медицинская визуализация, 2012; 4: 118-125.
 6. Виноградова О.И., Телицкий С.Ю., Щукина Е.В., Алейник А.Н. Применение неравновесной плазмы в медицине и биологии. Научная сессия МИФИ-2009: аннотации докладов. М., 2009; 128.
 7. Попов В.А. Гемостаз и герметизация швов (операции на внутренних органах). М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008; 320.
 8. Хван О.И. Повреждения органов брюшной полости и почек при тупой травме. "ВРАЧ-АСПИРАНТ". Хирургия, 2012.
 9. Чарышкин А.Л., Гафиуллово М.Р., Демин В.П. Оценка результатов ушивания ран печени и селезенки при закрытых травмах органов брюшной полости. Вестник экспериментальной и клинической хирургии, 2012; 5: 3: 593-595.
 10. Ahmed N., Vernick J.J. Management of liver trauma in adults. J. Emerg. Trauma Shock, 2011; 4(1): 114-119.
 11. Alkozai E.M., Lisman T., Porte R.J. Bleeding in liver surgery: prevention and treatment. Clin. Liver Dis., 2009; 13(1): 145-154.
 12. Carus T, Rackebrandt K. Collateral tissue damage by several types of coagulation (monopolar, bipolar, cold plasma and ultrasonic) in a minimally invasive, perfused liver model. International Scholarly Research Network ISRN Surg., 2011; 1.
 13. Fridman G., Peddinghaus M., Ayan H., Fridman A., Balasubramanian M., Gutsol A., Brooks A. Friedman G. Blood Coagulation and Living Tissue Sterilization by Floating-Electrode Dielectric Barrier Discharge in Air. Plasma Chem. Plasma Process., 2006; 26: 425-442.
 14. Fridman G., Peddinghaus M., Fridman A., Balasubramanian M., Gutsol A., Friedman G.. Use of non-thermal atmospheric pressure plasma discharge for coagulation and sterilization of surface wounds. 17th international Symposium on plasma chemistry. Toronto, 2005; 1-2.
 15. Laskulka R., Harm T., Dock W. The problem of the closed abdominal injury in polytrauma patients. Unfallchirurg., 1992; 95: 7: 324-329.
 16. Sameer U. Kalghatgi, Gregory Fridman, Moogega Cooper, Gayathri Nagaraj, Marie Peddinghaus, Manjula Balasubramanian, Victor N. Vasilets, Alexander F. Gutsol, Alexander Fridman, and Gary Friedman. Mechanism of Blood Coagulation by Non-Thermal Atmospheric Pressure Dielectric Barrier Discharge. Plasma Science. 2007. ICOPS 2007. IEEE 34th International Conference. 2007; 674.
 17. Sameer Kalghatgi, Crystal M. Kelly, Ekaterina Cerchar, Behzad Torabi, Oleg Alekseev, Alexander Fridman, Gary Friedman, Jane Azizkhan-Clifford. Effects of Non-Thermal Plasma on Mammalian Cells. PLoS ONE. 2011; 6(1): e16217. DOI: 10.1371/journal.pone.0016270. PMID: 21283714
Поступила 06.03.2015
- (obzor literaturey). *Russkii meditsinskii zhurnal*, 2012; 36: 1743-1747. - (in Russ.).
 5. Borodin O.Iu., Semichev E.V. Evaluation of Contrast Enhanced 4d MRI of the Operated Liver With Gd -EOB-DTPA Using Classic Hepatic Hemostasis by Oppel's Suture, in Rat. *Meditsinskaja vizualizatsiia*, 2012; 4: 118-125. - (in Russ.).
 6. Vinogradova O.I., Telitskii S.Iu., Shchukina E.V., Aleinik A.N. The use of non-equilibrium plasma in medicine and biology. *Nauchnaia sessiia MIFI-2009* [Scientific Session MIFI-2009]. Moscow, 2009; 128. - (in Russ.).
 7. Popov V.A. *Gemostaz i germetizatsiia shvov (operatsii na vnutrennikh organakh)* [Hemostasis and sealing of sutures (operations on the internal organs)]. Moscow: GEOTAR-Media, 2008; 320. - (in Russ.).
 8. Khvan O.I. Damage to abdominal organs and kidneys in blunt trauma. "VRACH-ASPIRANT". *Khirurgiia*, 2012. - (in Russ.).
 9. Charyshkin A.L., Gafulllov M.R., Demin V.P. Estimation of results sewing wounds of parenchymatous bodies at traumas of bodies of an abdominal cavity. *Vestnik eksperimental'noi i klinicheskoi khirurgii*, 2012; 5: 3: 593-595. - (in Russ.).
 10. Ahmed N., Vernick J.J. Management of liver trauma in adults. J. Emerg. Trauma Shock, 2011; 4(1): 114-119.
 11. Alkozai E.M., Lisman T., Porte R.J. Bleeding in liver surgery: prevention and treatment. *Clin. Liver Dis.*, 2009; 13(1): 145-154.
 12. Carus T, Rackebrandt K. Collateral tissue damage by several types of coagulation (monopolar, bipolar, cold plasma and ultrasonic) in a minimally invasive, perfused liver model. *International Scholarly Research Network ISRN Surg.*, 2011; 1.
 13. Fridman G., Peddinghaus M., Ayan H., Fridman A., Balasubramanian M., Gutsol A., Brooks A. Friedman G. Blood Coagulation and Living Tissue Sterilization by Floating-Electrode Dielectric Barrier Discharge in Air. *Plasma Chem. Plasma Process.*, 2006; 26: 425-442.
 14. Fridman G., Peddinghaus M., Fridman A., Balasubramanian M., Gutsol A., Friedman G.. Use of non-thermal atmospheric pressure plasma discharge for coagulation and sterilization of surface wounds. *17th international Symposium on plasma chemistry*. Toronto, 2005; 1-2.
 15. Laskulka R., Harm T., Dock W. The problem of the closed abdominal injury in polytrauma patients. *Unfallchirurg.*, 1992; 95: 7: 324-329.
 16. Sameer U. Kalghatgi, Gregory Fridman, Moogega Cooper, Gayathri Nagaraj, Marie Peddinghaus, Manjula Balasubramanian, Victor N. Vasilets, Alexander F. Gutsol, Alexander Fridman, and Gary Friedman. Mechanism of Blood Coagulation by Non-Thermal Atmospheric Pressure Dielectric Barrier Discharge. *Plasma Science*. 2007. ICOPS 2007. *IEEE 34th International Conference*. 2007; 674.
 17. Sameer Kalghatgi, Crystal M. Kelly, Ekaterina Cerchar, Behzad Torabi, Oleg Alekseev, Alexander Fridman, Gary Friedman, Jane Azizkhan-Clifford. Effects of Non-Thermal Plasma on Mammalian Cells. *PLoS ONE*, 2011; 6(1): e16217. DOI: 10.1371/journal.pone.0016270. PMID: 21283714
Recieved 06.03.2015

Информация об авторах

1. Семичев Е.В. – к.м.н., научный сотрудник Центральной научно-исследовательской лаборатории, докторант кафедры госпитальной хирургии ГБОУ ВПО СибГМУ. E-mail: EVSemichev@yandex.ru;
2. Байков А.Н. – д.м.н., проф., зав. Центральной научно-исследовательской лаборатории ГБОУ ВПО СибГМУ;
3. Бушланов П.С. – клинический ординатор кафедры хирургических болезней педиатрического факультета ГБОУ ВПО СибГМУ;
4. Геренг Е.А. – старший научный сотрудник ЦНИЛ, д.м.н., доц. кафедры морфологии и общей патологии ГБОУ ВПО СибГМУ;
5. Дамбаев Г.Ц. – д.м.н., проф., член-корреспондент РАМН, зав. кафедрой госпитальной хирургии ГБОУ ВПО СибГМУ;
6. Кошечев Е.С. – к.б.н., врач-лаборант Госпитальных клиник им. А.Г. Савиных ГБОУ ВПО СибГМУ.

Information about the Authors

1. Semichev E. – Ph.D., Staff of Central Scientific Research Laboratory of State Budget Educational Institution Higher Vocational Education Siberian State Medical University, Doctoral Candidate of Chair of Hospital Surgery of the same University. E-mail: EVSemichev@yandex.ru;
2. Baikov A. - MD, Prof., Head of Central Scientific Research Laboratory of State Budget Educational Institution Higher Vocational Education Siberian State Medical University;
3. Bushlanov P. – Clinical Ordinator of Chair of Surgical Diseases, Faculty of Pediatrics of State Budget Educational Institution Higher Vocational Education Siberian State Medical University;
4. Gereng E. – senior research assistant, Ph.D., Assistant Prof. of Chair of the morphology and general pathology of State Budget Educational Institution Higher Vocational Education Siberian State Medical University;
5. Dambayev G. - MD, Prof., Corresponding Member of RAMS, Head of Chair of Hospital Surgery of State Budget Educational Institution Higher Vocational Education Siberian State Medical University;
6. Koshhevec E. – Ph.D., doctor-laboratory assistant of Hospital clinics behalf of the A.G Savinykh of State Budget Educational Institution Higher Vocational Education Siberian State Medical University.