

## РЕГЕНЕРАТИВНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ТКАНИ ПЕЧЕНИ ПОСЛЕ ОСТАНОВКИ КРОВОТЕЧЕНИЯ НЕРАВНОВЕСНОЙ ПЛАЗМОЙ НА 90-е И 180-е СУТКИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Семичев Е.В.<sup>1</sup>, Байков А.Н.<sup>1</sup>, Дамбаев Г.Ц.<sup>1</sup>, Бушланов П.С.<sup>1</sup>, Алейник А.Н.<sup>2</sup>, Полякова И.П.<sup>1</sup>, Шароглазова Е.О.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Сибирский государственный медицинский университет, г. Томск

<sup>2</sup> Национальный исследовательский Томский политехнический университет, г. Томск

### РЕЗЮМЕ

Частота повреждений печени при тупой травме живота может достигать 17,8% случаев. Послеоперационная летальность при повреждениях печени высока и составляет при колото-резаных ранах 4–10%, закрытой травме – 30,4–35,2%, сочетанной травме – до 39,3%. Для обеспечения хирургического пособия на печени необходим полный гемостаз без повреждения паренхимы органа.

Цель исследования – оценить регенеративные особенности ткани печени после остановки кровотечения неравновесной плазмой в отдаленные сроки.

**Материал и методы.** Эксперимент проводили на 20 лабораторных крысах-самцах, которые были разделены на 3 группы: 10 интактных животных (контроль) и по 5 крыс в группах на 90-е и 180-е сут после оперативного вмешательства. Выполняли атипичную резекцию левой доли печени и коагуляцию холодной плазмой. Проводили биохимический контроль (глюкоза, АЛТ, АСТ, билирубин общий, прямой, ЩФ, общий белок, мочевины,  $\alpha$ -амилаза, СРБ), для исследования печени животных использовали морфологический метод.

**Результаты.** После оперативного вмешательства с применением холодноплазменной коагуляции животные были активны, рано начинали питаться, летальные случаи отсутствовали. При анализе биохимических показателей крови не выявлено статистически значимых отличий от нормы для большинства показателей. На отдаленные сроки отмечалось снижение концентрации глюкозы в сыворотке крови. При гистологическом исследовании на 90-е сут наблюдались увеличение центральных и междольковых вен и умеренные признаки отека. Определялись гепатоциты с выраженными признаками белковой и жировой дистрофии. На 180-е сут гистология железы соответствовала обычному строению и была представлена печеночными дольками, разделенными небольшими прослойками соединительной ткани.

**Заключение.** Холодноплазменная коагуляция при оперативных вмешательствах на печени показала эффективную остановку кровотечения, минимальную травму паренхимы органа, отсутствие системного эффекта и последующую полную регенерацию тканей печени в области обработки.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** холодноплазменная коагуляция, кровотечение печени, гемостаз паренхиматозных кровотечений, атипичная резекция печени, регенерация.

### Введение

Ранения и травмы паренхиматозных органов – одни из наиболее тяжелых видов хирургической патологии как в мирное, так и в военное время. Самым крупным и наиболее травмоопасным паренхиматозным органом человеческого организма является печень.

При ранениях и закрытых травмах живота повреждения печени встречаются в 16–37% случаев (для сравнения: селезенка травмируется в 7–26% случаев). По ходу неотложных вмешательств на этом органе до 85% операционного времени хирурги затрачивают на остановку кровотечения [1–3]. В настоящее время разработано множество манипуляций для остановки кровотечения из печени, однако идеального способа не найдено.

✉ Семичев Евгений Васильевич, e-mail: evsemichev@yandex.ru

При осуществлении гемостаза печени важно учитывать факторы, способствующие длительному кровотоку: плохую сократительную способность паренхимы печени, отсутствие клапанного аппарата в венах органа, неспадающийся просвет сосудов, местные расстройства свертывающей системы крови, обусловленные истечением желчи на раневую поверхность печени, так как желчь сильно тормозит процесс свертывания крови, обладая высокой фибринолитической активностью [4].

Одной из инновационных разработок являются аппараты, способные комплексно воздействовать на паренхиматозные органы с гемостатическим и антимикробным эффектом, приборы, генерирующие плазму. В зависимости от энергетического состояния плазму можно разделить на два вида: равновесную (тепловую) и неравновесную (холодную). В последней ионы и нейтральные частицы имеют очень малую энергию, поэтому температура ее не превышает 45 °С. На кафедре прикладной физики Национального исследовательского Томского политехнического университета был разработан макет источника холодной плазмы для исследования ее взаимодействия с живыми организмами. Здесь плазма формируется с помощью барьерного разряда и содержит большое количество активных составляющих, таких как O<sub>3</sub>, NO, HO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и др. [5]. Данная технология применялась в исследовании при операциях на печени для реализации гемостатического эффекта.

Цель исследования – оценить регенеративные особенности ткани печени после остановки кровотечения неравновесной плазмой в отдаленные сроки.

## Материал и методы

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

Эксперимент выполняли на 20 лабораторных крысах-самцах линии Wistar 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 группу (контрольную) вошли интактные крысы без оперативного вмешательства ( $n = 10$ ), во 2-ю группу – через 90-е сут после оперативного вмешательства ( $n = 5$ ) и в 3-ю группу – на 180-е сут после оперативного вмешательства ( $n = 5$ ). Оперативное вмешательство заключалось в атипичной

резекции левой доли печени. Анестезию выполняли однократным внутримышечным введением раствора Zoletil-100 (Virbac, Франция) из расчета 2 мг на 1 кг массы тела экспериментального животного. Доступ к печени осуществляли верхнесрединной лапаротомией с удалением участка паренхимы левой доли печени размером 1,3 × 0,7 см скальпелем. Гемостаз производили с использованием неравновесной плазмы. Придерживая печень в ране, начинали обработку плазменным коагулятором [6]. Одновременно с началом обработки засекали время на стандартном секундомере. Для полноценной остановки кровотечения время обработки составило 50–55 с. После остановки кровотечения осуществляли контроль гемостаза, погружали печень в брюшную полость, рану послойно зашивали с последующим наложением асептической повязки.

С целью анализа тканевых и клеточных изменений производили забор гистологического материала на 90-е и 180-е сут с фиксацией в жидкости Карнуа, последующей проводкой по спиртам и заливкой в парафин по стандартной методике. Обзорную микроскопию выполняли на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, выраженность фиброза оценивали на препаратах, окрашенных пикрофуксином по Ван Гизону. Биохимический контроль проводили путем исследования крови экспериментальных животных на 90-е и 180-е сут (глюкоза, аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспаратаминотрансфераза (АСТ), билирубин общий и прямой, щелочная фосфатаза, общий белок, тимоловая проба, С-реактивный белок).

Статистический анализ количественных данных выполняли в программе SPSS и Statistica 6.0 for Windows с использованием критерия Краскала–Уоллиса и Манна–Уитни при пороговом уровне значимости  $p < 0,05$ . Документацию материала осуществляли протоколированием, фотографированием макроскопических и микроскопических препаратов.

## Результаты и обсуждение

После оперативного вмешательства с использованием холодноплазменной коагуляции крысы были активны, начинали питаться на следующие сутки после операции, животные не погибали ни в ранние, ни в отдаленные сроки.

При анализе биохимических показателей крови не выявлено статистически значимых различий (при уровне значимости  $p < 0,05$ ) для большинства показателей. Во 2-й и 3-й группах определялось статистически значимое снижение концентрации глюкозы в сыворотке крови ( $p < 0,05$ ). Такие показатели, как пря-

мой билирубин и С-реактивный белок, во всех группах были отрицательными.

Биохимические показатели крови экспериментальных животных в отдаленные сроки после гемостаза неравновесной плазмой при операциях на печени (Me (Q <sub>25</sub> -Q <sub>75</sub> ))			
Показатель	Группа контроля (1-я группа)	Обработка неравновесной плазмой, 90-е сут (2-я группа)	Обработка неравновесной плазмой, 180-е сут (3-я группа)
Глюкоза, ммоль/л	6,1 (5,5-6,2)	4,2 (3,8-4,3)	3,3 (2,9-3,8)
Билирубин общий, мкмоль/л	8,0 (7,90-8,5)	7,0 (7,0-8,8)	7,9 (7,2-3,8)
Билирубин прямой, мкмоль/л	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)
Щелочная фосфатаза, Ед/л	380,0 (303,0-413,0)	270,0 (210,0-360,0)	220,0 (220,0-270,0)
АЛТ, Ед/л	3,60 (3,20-4,00)	3,80 (3,00-4,00)	4,40 (3,80-4,60)
АСТ, Ед/л	3,60 (3,00-4,10)	3,50 (2,60-4,80)	3,10 (3,00-3,10)
Тимолова проба, усл. ед.	1,33 (1,33-1,56)	0,67 (0,44-1,68)	1,11 (0,67-1,68)
Общий белок, г/л	71,0 (69,0-72,0)	76,3 (75,8-85,8)	85,5 (67,0; 90,3)
С-реактивный белок	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)	0,0 (0,0-0,0)

На 90-е сут в группе с остановкой кровотока при помощи неравновесной плазмы в паренхиме печени сохранялись сосудистые изменения, проявляющиеся увеличением центральных и междольковых вен, незначительным расширением синусоидов и умеренными признаками отека. В некоторых участках определялись гепатоциты с выраженными признаками белковой и жировой дистрофии с наличием единичных круглоклеточных инфильтратов (рис. 1).

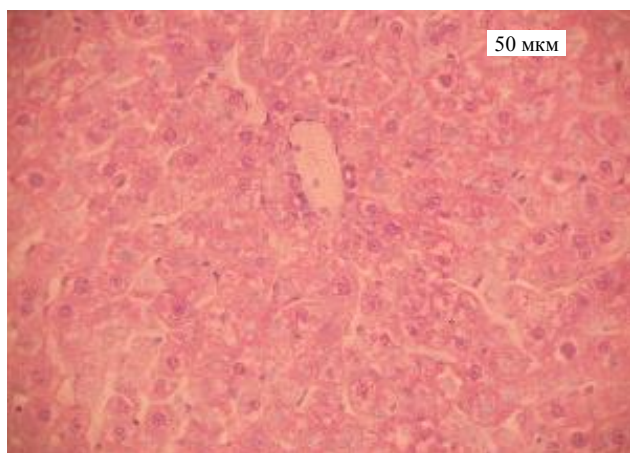


Рис. 1. Печень крысы на 90-е сут эксперимента. Гепатоциты с выраженными признаками белковой и жировой дистрофии. Окраска гематоксилином и эозином

Визуализируется незначительный перибиллиарный и перипортальный фиброз, коллагеновая структура разволокнена, набухшая (рис. 2).

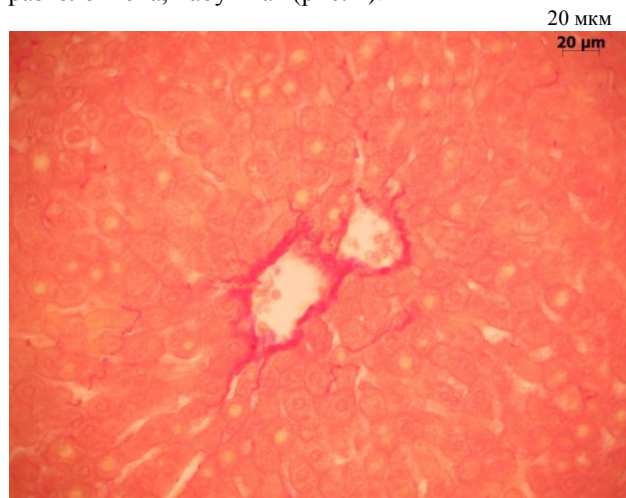


Рис. 2. Печень крысы на 90-е сут эксперимента. Перибиллиарный и перипортальный фиброз. Окраска по Ван Гизону

На 180-е сут в группе животных с остановкой кровотока неравновесной плазмой гистология соответствует обычному строению и представлена печеночными дольками, разделенными небольшими прослойками соединительной ткани (рис. 3).

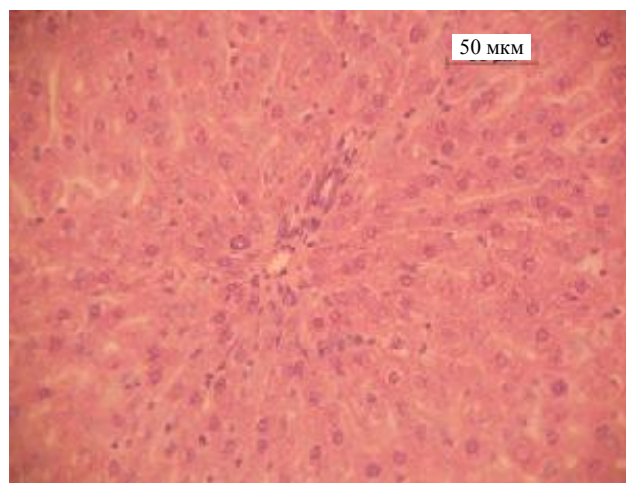


Рис. 3. Печень крысы на 180-е сут эксперимента. Печеночная долька, состоящая из печеночных пластинок (балок), печеночных триад (междольковая артерия, междольковая вена и желчный проток), синусоидных капилляров и центральной вены. Окраска гематоксилином и эозином

Печеночные пластинки представлены двумя слоями гепатоцитов, между которыми находится желчный капилляр. Сами гепатоциты имеют полигональную форму с центрально расположенным ядром и неоднородной

родной окраской цитоплазмы. Структура хроматина в ядре сетчатая, мелкодисперсная. Ядерная мембрана сохранена и имеет четкие контуры. Цитоплазма гепатоцитов однородна, окрашена с мелкой, пылевидной зернистостью.

### Заключение

Использование гемостаза неравновесной плазмой у оперированных на печени крыс на 90-е сут сопровождается патологическими изменениями во всей ткани печени по типу микрососудистого тромбоза и периваскулярного фиброза с восстановлением к 180-м сут морфологии паренхимы печени и нормализацией внутреннего кровотока при сохранности почти всех биохимических показателей крови, за исключением глюкозы.

Биохимический контроль состояния печени после частичной резекции левой доли с гемостазом неравновесной плазмой выявил, что содержание глюкозы в

крови к 180-м сут статистически значимо снижается, что, вероятно, свидетельствует о неполном восстановлении функциональной активности гепатоцитов.

### Литература

1. *Альперович Б.И.* Хирургия печени. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 352 с.
2. *Альперович Б.И., Соловьев М.М.* Неотложная хирургия живота. Томск: Издательский дом «Курсив», 2002. 222 с.
3. *Попов В.А.* Гемостаз и герметизация швов (операции на внутренних органах). М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 320 с.
4. *Савельев В.С., Кириенко А.И.* Клиническая хирургия: национальное руководство: в 3 т. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. Т. II. 401 с.
5. *Алейник А.Н., Денко О.И.* Плазменная медицина: учеб. пособие. Томск: ТПУ, 2011. 17 с.
6. *Бородин О.Ю., Семичев Е.В., Бушланов П.С.* Экспериментальная хирургия паренхиматозных органов (обзор литературы) // Рус. мед. журн. Хирургия. Урология. 2012. № 36. С. 1743–1746.

Поступила в редакцию 01.11.2014 г.

Утверждена к печати 12.11.2014 г.

**Семичев Евгений Васильевич** (✉) – канд. мед. наук, науч. преддокторант кафедры госпитальной хирургии СибГМУ (г. Томск).

**Байков Александр Николаевич** – д-р мед. наук, профессор, зав. Центральной научно-исследовательской лаборатории СибГМУ (г. Томск).

**Дамбаев Георгий Цыренович** – д-р мед. наук, профессор, член-корреспондент РАМН, зав. кафедрой госпитальной хирургии СибГМУ (г. Томск).

**Бушланов Павел Сергеевич** – клинический ординатор кафедры хирургических болезней педиатрического факультета СибГМУ (г. Томск).

**Алейник Александр Никонорович** – канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник кафедры прикладной физики НИ ТПУ (г. Томск).

**Полякова Ирина Петровна** – канд. биол. наук, доцент кафедры нормальной физиологии СибГМУ (г. Томск).

**Шароглазова Евгения Олеговна** – студентка 6-го курса лечебного факультета СибГМУ (г. Томск).

✉ **Семичев Евгений Васильевич**, e-mail: evsemichev@yandex.ru

## REGENERATIVE PECULIARITIES OF LIVER TISSUE AFTER HEMOSTASIS BY NONEQUILIBRIUM PLASMA ON 90<sup>TH</sup> AND 180<sup>TH</sup> DAY (EXPERIMENTAL STUDY)

**Semichев Ye.V.<sup>1</sup>, Baikov A.N.<sup>1</sup>, Dambayev G.Ts.<sup>1</sup>, Bushlanov P.S.<sup>1</sup>, Aleinik A.N.<sup>2</sup>, Polyakova I.P.<sup>1</sup>, Sharoglazova Ye.O.<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation*

<sup>2</sup> *National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation*

ABSTRACT

Liver damages occur to 17.8% of blunt abdominal trauma cases. Postoperative mortality in liver damage is a high. It amounts to 4–10% in case of stab wounds, to 30.4–35.2% in case of closed injury, to 39.3% in case of concomitant injury. Complete hemostasis without damage to organ parenchyma is needed for liver surgical operation.

The aim of research is to evaluate the regenerative characteristics of liver tissue after hemostasis by nonequilibrium plasma in a long-term period.

**Material and methods.** Research was performed on 20 laboratory rats, 3 experimental groups. 10 intact animals and 5 animals in groups on 90th and 180th day. Surgery is resection of liver left lobe and coagulation with cold plasma coagulator. The biochemical control (glucose, ALT, AST, total bilirubin, direct, alkaline phosphatase, total protein, urea,  $\alpha$ -amylase, CRP, fibrinogen, aPTT, PTT, INR), morphological study of rat liver were performed.

**Results.** After surgery with cold plasma hemostasis animals are active, early begin to eat. Fatal cases are not. Analysis of biochemical markers doesn't reveal statistically significant differences from the norm for the majority of indicators. Decrease of glucose concentration in the blood serum is observed in a long-term period. Histological analysis reveals an increase of the central and interlobular veins and moderate signs of edema on the 90th day. Hepatocytes with pronounced signs of protein and fatty degeneration are identified. Liver histology corresponds to the usual structure and is represented by liver lobules, separated by a small layer of connective tissue on the 180th day.

**Conclusion.** Cold plasma coagulation in liver surgery showed effective hemostasis, minimal trauma of organ parenchyma, the lack of systemic effect and the subsequent complete regeneration of liver tissue in the treatment area.

**KEY WORDS:** cold plasma coagulation, liver bleeding, hemostasis of parenchymal bleeding, atypical resection of liver, regeneration.

*Bulletin of Siberian Medicine, 2014, vol. 13, no. 6, pp.*

#### References

1. Al'perovich B.I. *Khirurgiya pecheni* [Liver surgery]. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2010. 352 p.
2. Al'perovich B.I., Solov'ev M.M. *Neotlozhnaya khirurgiya zhivota* [Emergency surgery of the abdomen]. Tomsk, Publishing house "Kursiv" Publ., 2002. 222 p.
3. Popov V.A. *Gemostaz i germetizatsiya shvov (operatsii na vnutrennikh organakh)* [Hemostasis and sealing of sutures (operations on the internal organs)]. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2008. 320 p.
4. Savel'ev V.S., Kirienko A.I. *Klinicheskaya khirurgiya: natsional'noe rukovodstvo: v 3 t.* [Clinical Surgery: National guideline: 3 vol.] Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2009. V. II. 401 p.
5. Aleinik A.N., Deneko O.I. *Plazmennaya meditsina: uchebnoe posobie.* [Plasma medicine: Textbook]. Tomsk, TPU Publ., 2011. 17 p.
6. Borodin O.Yu., Semichev Ye.V., Bushlanov P.S. *Ekspierimental'naya khirurgiya parenkhimatoznykh organov (obzor literatury)* [Experimental surgery of parenchymatous organs (literature review)]. *Russkiy medicinskiy zhurnal. Khirurgiya. Urologiya*, 2012, no. 36, pp. 1743–1746.

**Semichev Yevgeny V.** (✉), Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Baikov Aleksandr N.**, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Dambayev Georgy Ts.**, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Bushlanov Pavel S.**, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Aleinik Aleksandr N.**, National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russian Federation.

**Polyakova Irina P.**, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

**Sharoglazova Yevgeniya O.**, Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation.

✉ **Semichev Yevgeny V.**, e-mail: evsemichev@yandex.ru