

Печень

DOI: 10.16931/1995-5464.2018155-64

Сравнительный анализ применения неравновесной плазмы и криодеструкции при хронических абсцессах печени в эксперименте

Бушланов П.С.^{1*}, Мерзликин Н.В.¹, Семичев Е.В.², Байков А.Н.², Цхай В.Ф.¹,
Иванов В.В.², Каланда Н.С.², Кошечев Е.С.², Миронов Н.Е.¹, Рукавишникова А.А.¹

¹ Кафедра хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии Сибирского государственного медицинского университета Минздрава России, 634050, г. Томск, ул. Московский тракт, д. 2, Российская Федерация

² Центральная научно-исследовательская лаборатория (ЦНИЛ) ФГБУ ВО “Сибирский государственный медицинский университет” Минздрава России, 634050, г. Томск, Московский тракт, д. 2, стр. 18, Российская Федерация

Цель. Сравнительная оценка действия неравновесной низкотемпературной плазмы и криодеструкции на абсцессы печени в эксперименте.

Материал и методы. Экспериментальное исследование выполнено на 60 крысах-самцах, которым моделировали абсцесс печени. В 1-й группе ($n = 20$) в дальнейшем осуществляли промывание полости абсцесса стерильным 0,9%-м раствором NaCl, во 2-й ($n = 20$) выполняли криодеструкцию стенки абсцесса жидким азотом ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$), в 3-й группе ($n = 20$) стенку абсцесса обрабатывали неравновесной низкотемпературной плазмой. Выведение животных из эксперимента осуществляли на 5-е, 15-е и 30-е сутки после вмешательства. Исследовали микробиологический состав содержимого обработанной полости, проводили гистологическое исследование фрагментов стенки абсцесса и окружающей паренхимы печени, изучали биохимические показатели плазмы крови.

Результаты. Посев из полости абсцесса во 2-й и 3-й группах не выявил роста бактериальной флоры. Анализом биохимических показателей крови установлены лишь незначительные отклонения большинства показателей во всех группах. При гистологическом исследовании на 5-е и 15-е сутки воспалительная инфильтрация и отек капсулы абсцесса, а также воспалительная инфильтрация в соединительной ткани паренхимы печени в 3-й группе были менее выражены, чем во 2-й.

Заключение. Криодеструкция и воздействие неравновесной плазмой на внутреннюю стенку хронического абсцесса печени крыс приводит к гибели пиогенных бактерий. Воздействие неравновесной плазмой способствует меньшему повреждению паренхимы печени в зоне воздействия, чем криодеструкция.

Ключевые слова: печень, абсцесс, криодеструкция, неравновесная плазма, плазменный коагулятор, эксперимент.

Ссылка для цитирования: Бушланов П.С., Мерзликин Н.В., Семичев Е.В., Байков А.Н., Цхай В.Ф., Иванов В.В., Каланда Н.С., Кошечев Е.С., Миронов Н.Е., Рукавишникова А.А. Сравнительный анализ применения неравновесной плазмы и криодеструкции при хронических абсцессах печени в эксперименте. *Анналы хирургической гепатологии*. 2018; 23 (1): 55–64. DOI: 10.16931/1995-5464.2018155-64.

Comparative Analysis of “Nonequilibrium Plasma” and Cryodestruction in Surgery of Chronic Liver Abscesses in the Experiment

Bushlanov P.S.^{1*}, Merzlikin N.V.¹, Semichev E.V.², Baykov A.N.², Tskhay V.F.¹,
Ivanov V.V.², Kalanda N.S.², Koshchevets E.S.², Mironov N.E.¹, Rukavishnikova A.A.¹

¹ Department of Surgical Diseases with the Course of Traumatology and Orthopedics of the Siberian State Medical University of the Healthcare Ministry of Russia; 2, Moskovskiy trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

² Central Research Laboratory of the Siberian State Medical University of the Healthcare Ministry of Russia; 2, Moskovskiy trakt, Tomsk, 634050, Russian Federation

Aim. To compare the effects of “nonequilibrium plasma” and cryodestruction on liver abscesses in experiment.

Material and Methods. 60 experimental animals (rats, males) with liver abscess were enrolled. There were 3 groups by 20 animals. Placebo group — abscess cavity lavage with sterile 0.9% NaCl solution, control group — cryodestruction of abscess wall (liquid nitrogen, temperature of $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$), experimental group — abscess wall management with “nonequilibrium plasma”. Animals were eliminated from the experiment in 1, 5, 15 and 30 days after surgery. We examined bacterial inoculation of the abscess cavity after exposure, performed biopsy of abscess wall and surrounding liver parenchyma specimens and biochemical analysis of blood.

Results. Bacterial growth in abscess cavity was absent in control and experimental groups. Biochemical analysis revealed only insignificant fluctuations of the majority of indicators in all groups. There were less significant inflammatory infiltration and edema of the abscess capsule, as well as inflammatory infiltration of liver parenchyma in 5 and 15 days in experimental vs. control group.

Conclusion. Cryodestruction and effect of "nonequilibrium plasma" on the internal wall of rats' liver abscess lead to death of pyogenic bacteria. "Nonequilibrium plasma" is associated with less severe injury of liver parenchyma compared with cryodestruction.

Keywords: liver, abscess, cryodestruction, nonequilibrium plasma, plasma coagulator, experiment.

For citation: Bushlanov P.S., Merzlikin N.V., Semichev E.V., Baykov A.N., Tskhay V.F., Ivanov V.V., Kalanda N.S., Koshchevets E.S., Mironov N.E., Rukavishnikova A.A. Comparative analysis of "nonequilibrium plasma" and cryodestruction in surgery of chronic liver abscesses in the experiment. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of HPB surgery*. 2018; 23 (1): 55–64. (In Russian). DOI: 10.16931/1995-5464.2018155-64.

● Введение

Абсцесс печени (АП) — это ограниченное скопление гноя с очагом литического расплавления ткани в центре на фоне деструкции участка печеночной паренхимы, возникающее в результате проникновения в орган микробной флоры или паразитов [1–3]. Абсцессы печени являются тяжелым полиэтиологическим заболеванием, частота которого в общехирургических стац-

нарах имеет четкую тенденцию к увеличению [4]. Ежегодно среди больных с хирургическими заболеваниями органов гепатопанкреатодуоденальной зоны госпитализируют от 0,5 до 3% пациентов с абсцессами печени. По данным большинства исследователей, летальность при микробных абсцессах высока и составляет 20–30%. При амебных и описторхозных абсцессах комплексное лечение также сопровождается

Сведения об авторах [Authors info]

Бушланов Павел Сергеевич — аспирант кафедры хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии ФГБУ ВО СибГМУ.

Мерзликин Николай Васильевич — доктор мед. наук, профессор, заведующий кафедрой хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии ФГБУ ВО СибГМУ.

Семичев Евгений Васильевич — канд. мед. наук, научный сотрудник ЦНИЛ ФГБУ ВО СибГМУ.

Байков Александр Николаевич — доктор мед. наук, профессор, заведующий ЦНИЛ ФГБУ ВО СибГМУ.

Цхай Валентина Федоровна — доктор мед. наук, профессор кафедры хирургических болезней с курсом травматологии и ортопедии ФГБУ ВО СибГМУ.

Иванов Владимир Владимирович — канд. мед. наук, научный сотрудник ЦНИЛ ФГБУ ВО СибГМУ.

Каланда Наталья Сергеевна — научный сотрудник ЦНИЛ ФГБУ ВО СибГМУ.

Кошечев Екатерина Сергеевна — научный сотрудник ЦНИЛ ФГБУ ВО СибГМУ.

Миронов Никита Евгеньевич — студент 2-го курса педиатрического факультета ФГБУ ВО СибГМУ.

Рукавишников Анастасия Александровна — студентка 6-го курса педиатрического факультета ФГБУ ВО СибГМУ.

Для корреспонденции*: Бушланов Павел Сергеевич — 634029, г. Томск, ул. Белинского, д. 20а, кв. 24, Российская Федерация. Тел.: 8-923-424-25-94. E-mail: pavel.vivian@gmail.ru

Bushlanov Pavel Sergeevich — Postgraduate Student of the Department of Surgical Disease with the Course of Traumatology and Orthopedics, Siberian State Medical University.

Merzlikin Nikolay Vasiliyevich — Doct. of Med. Sci., Professor, Head of the Department of Surgical Diseases with the Course of Traumatology and Orthopedics, Siberian State Medical University.

Semichev Evgeniy Vasiliyevich — Cand. of Med. Sci., Researcher of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University.

Baykov Aleksandr Nikolaevich — Doct. of Med. Sci., Professor, Head of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University.

Tskhay Valentina Fyodorovna — Doct. of Med. Sci., Professor of the Department of Surgical Diseases with the Course of Traumatology and Orthopedics, Siberian State Medical University.

Ivanov Vladimir Vladimirovich — Cand. of Med. Sci., Researcher of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University.

Kalanda Nataliya Sergeevna — Researcher of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University.

Koshchevets Ekaterina Sergeevna — Researcher of the Central Research Laboratory, Siberian State Medical University.

Mironov Nikita Evgeniyevich — 2-year Student of the Pediatric Faculty of Siberian State Medical University.

Rukavishnikova Anastasiya Aleksandrovna — 6-year Student of the Pediatric Faculty of Siberian State Medical University.

For correspondence*: Bushlanov Pavel Sergeevich — 20a–24, Belinsky str., Tomsk, 634029, Russian Federation.

Phone: 8-923-424-25-94. E-mail: pavel.vivian@gmail.ru

26%-й и 15,5%-й летальностью соответственно [5–8]. Летальность при множественных абсцессах печени существенно больше [9] и может достигать 50–80% [5, 6].

В настоящее время в лечении АП применяют консервативные и оперативные методы. Выделяют чрескожные методы и открытые хирургические вмешательства. При распространении патологического процесса на важные анатомические структуры печени (элементы ворот, нижнюю полую вену и т.д.) необходимо выполнить как можно большее удаление патологического очага, а оставшуюся нерезектабельную часть разрушать интраоперационным воздействием. Одним из современных способов разрушительного воздействия на стенку абсцесса является криодеструкция. В Гепатологическом центре ОГАУЗ ГKB №3 г. Томска применяют метод, при котором жидкий азот подводят к стенке абсцесса для последующей криодеструкции с помощью специальных криозондов. При этом глубина “промораживания” тканей зависит от мощности аппаратуры и экспозиции. Это позволяет индивидуально подходить к объему каждого оперативного вмешательства и уменьшить повреждение окружающей печеночной паренхимы [10].

Другим инновационным методом лечения при хронических АП является воздействие неравновесной низкотемпературной плазмой (ННП), в которой ионы и нейтральные частицы имеют очень малую энергию, поэтому температура такой плазмы $<45^{\circ}\text{C}$. Положительный лечебный эффект так называемой холодной плазмы связывают с наличием в ней активных химических реагентов, таких как O_3 , NO , HO , H_2O_2 , атомарного кислорода и др. ННП обладает противоопухолевыми свойствами [11]. Кроме того, активные частицы в составе плазмы обладают выраженным бактерицидным действием за счет активации перекисного окисления липидов [12, 13]. Способность ННП ускорять заживление с помощью активной стерилизации и коагуляции также активно обсуждается рядом авторов [14, 15]. На кафедре прикладной физики Физикотехнического института Томского политехнического университета разработан “Источник холодной плазмы-1” (ИХП-1), который генерирует на конце коагулирующего электрода ННП ($<45^{\circ}\text{C}$). Одним из главных положительных эффектов ННП является отсутствие ожогового струпа после воздействия, повреждения окружающих тканей. Поэтому ННП можно применять при АП для обработки их внутренней стенки во время оперативных вмешательств.

Работа посвящена изучению влияния ННП на ткань печени в условиях гнойного воспаления (абсцесса печени). **Цель исследования:** сравнительная оценка действия ННП и криодеструкции при АП крыс.

● Материал и методы

Проведение исследования одобрено локальным этическим комитетом Сибирского государственного медицинского университета г. Томска (рег. №4317 от 02.11.2015). Эксперименты выполнены на крысах-самцах массой 200–220 г. Всем животным моделировали АП согласно патенту на изобретение №2318248. Исследования проводили под ингаляционным масочным наркозом препаратом “Форан”. Осуществляли верхнесрединную лапаротомию. В паренхиму левой доли печени устанавливали периферический внутривенный катетер 18G, через него вводили 2 мл 70%-го раствора этилового спирта. Лапаротомную рану ушивали, катетер, установленный в паренхиме печени, фиксировали к коже. Через сутки выполняли релапаротомию, в установленный катетер вводили взвесь стафилококков в концентрации $2,0 \times 10^6$ КОЕ в 1,0 мл. Катетер извлекали, лапаротомную рану ушивали наглухо. Некробиотические изменения печени, возникающие после введения спирта, создают благоприятные условия для инфицирования и последующего формирования абсцесса печени на 10-е сутки [16]. Оперативное вмешательство заключалось во вскрытии абсцесса печени с эвакуацией гнойного содержимого и последующей обработке стенки абсцесса стерильным 0,9%-м раствором NaCl (1-я группа, $n = 20$), стерильным 0,9%-м раствором NaCl и криовоздействием (2-я группа, $n = 20$), стерильным 0,9%-м раствором NaCl и ННП (3-я группа, $n = 20$). Криовоздействие осуществляли с помощью специального криозонда. Для этого использовали жидкий азот (-196°C). Обработку ННП осуществляли с помощью аппарата ИХП-1 в течение 1 мин (рис. 1). Выведение животных из эксперимента в каждой группе осуществляли на 5-е, 15-е и 30-е сутки при помощи CO_2 -асфиксии в специализированной камере.

Оценивали летальность среди экспериментальных животных после оперативного вмешательства, жизнеспособность бактериальной микрофлоры (посев из полости абсцесса), выполняли гистологическое исследование фрагмента стенки абсцесса и окружающей паренхимы печени, проводили биохимический анализ плазмы крови (глюкоза, общий белок, билирубин общий, билирубин прямой, мочевины, креатинин, активность АсАТ, АлАТ, γ -ГТП, α -амилазы, щелочной фосфатазы). Микроскопию и морфометрию осуществляли на микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по Ван-Гизону. В биоптатах подсчитывали удельный объем гепатоцитов с признаками дистрофии, апоптоза и некроза ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$), удельный объем двуядерных гепатоцитов ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$), удельный объем соединительной ткани ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$), удельный объем

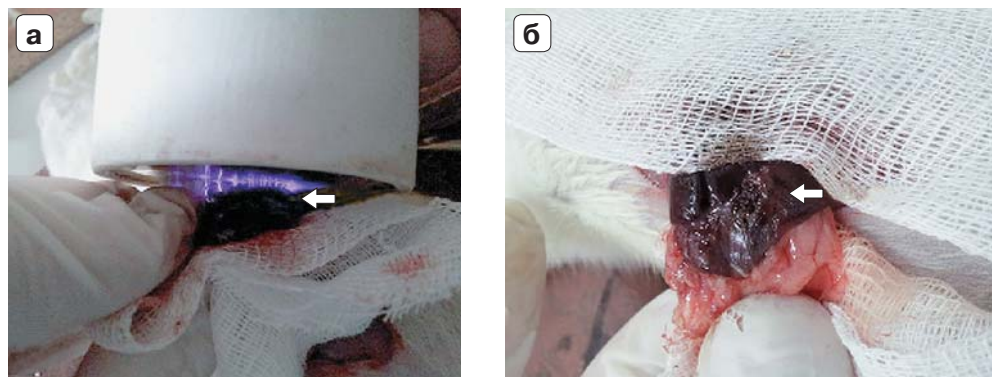


Рис. 1. Обработка печени крысы НПП: а — интраоперационное фото, обработка внутренней поверхности стенки абсцесса печени пучком НПП; б — макрофото, стенка абсцесса после воздействия НПП.

сосудов ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$). Также подсчитывали плотность воспалительного инфильтрата.

Статистическую обработку проводили при помощи программы SPSS. Данные представляли в виде медианы (Me) и интерквартильных разбросов ($Q_{0,25}$ – $Q_{0,75}$). 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

Оценка летальности экспериментальных животных после оперативного вмешательства. При моделировании АП и последующем оперативном вмешательстве в группе 1 отмечена смерть двух животных на 5-е сутки и одного животного на 7-е сутки после вмешательства. На аутопсии во всех наблюдениях выявлен распространенный гнойный перитонит. Причиной смерти, вероятнее всего, послужило развитие инфекционно-токсического шока. Во 2-й и 3-й группах летальных исходов не было.

Исследование влияния способа обработки АП на жизнеспособность бактериальной микрофлоры. В 1-й группе у всех животных высевался *St. aureus*, который использовали для создания АП. Во 2-й и 3-й группах микробиологические исследования не выявили роста микрофлоры.

Результаты биохимического анализа крови. При анализе независимых данных (больше двух групп исследования) с использованием критерия Крускала–Уоллиса установлено (табл. 1), что только активность АсАТ не имела статистически значимых различий во всех группах и во все сроки наблюдения ($p = 0,118$). Для остальных показателей требовалось провести попарный анализ групп методом Манна–Уитни. Установлено незначительное отклонение 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 (активность АлАТ, АсАТ, γ -ГТП, общий и прямой билирубин) во 2-й и 3-й группах были меньше либо соответствовали норме практически во всех наблюдениях.

Результаты гистологического исследования. В 1-й группе после промывания полости абсцесса стерильным 0,9%-м раствором NaCl на 5-е сутки в гистологических препаратах пограничной зоны печени и абсцесса в его просвете наблюдали обильные скопления полиморфных воспалительных клеток. Капсула абсцесса была значительно утолщена, происходила инфильтрация пиогенной мембраны (рис. 2а). К 15-м суткам отмечали 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 (рис. 2б). На 30-е сутки в препаратах печени происходило дальнейшее разрастание соединительной ткани на относительном удалении от границы абсцесса (зоны, не находящиеся в контакте с пиогенной капсулой), нарушение целостности синусоидов и более крупных сосудов печени, что приводило к увеличению количества гемосидерофагов (рис. 2в, 3).

Во 2-й группе в микропрепаратах печени к 5-м суткам происходило замещение некротизированных гепатоцитов на соединительную ткань, разрастание соединительной ткани и образование ее «островков» в паренхиме печени в области междольковых прослоек и периваскулярно. Соединительная ткань инфильтрирована клетками воспаления, в том числе наблюдали обилие гемосидерофагов (рис. 4а). К 15-м суткам отмечали разрастание и созревание соединительной ткани, расширение междольковых соединительнотканых прослоек. Пиогенная

Таблица 1. Биохимические показатели крови экспериментальных животных в различные сроки после вмешательства

Показатель	Норма	Группа	5-е сутки	15-е сутки	30-е сутки
АлАТ, Ед/л	118 [97; 139]	1	40 [34; 62]	86 [85; 94]	100 [94; 100]
		2	89 [70; 96]	95 [83; 100]	80 [59; 90]
		3	79 [78; 81,5]	80 [80; 113]	78 [83; 84]
АсАТ, Ед/л	134 [72; 196]	1	113 [92; 118]	110 [106; 121]	120 [118; 121]
		2	121 [117; 135]	124 [115; 126]	125 [124; 137]
		3	156 [149,5; 166,5]	146 [78; 159]	153 [147; 158]
Билирубин общий, мкмоль/мл	8,5 [7,9; 9,0]	1	6,5 [6,0; 7,0]	7,0 [6,0; 7,0]	7,0 [7,0; 7,0]
		2	5,0 [5,0; 6,0]	6,0 [5,0; 6,0]	13,0 [13,0; 13,0]
		3	14,0 [13,2; 15,4]	8,7 [8,7; 9,8]	13,8 [12,4; 14,9]
Билирубин прямой, мкмоль/мл	0	1	0,0 [0,0; 1,0]	0	0
		2	0,9 [0,3; 1,3]	0	3,0 [2,0; 3,0]
		3	0	0	0
α -амилаза, Ед/л	549 [489; 609]	1	284,5 [256,8; 362]	505 [503; 507]	511,9 [495; 560,2]
		2	505,6 [449,4; 557]	615,6 [600,2; 636,6]	594 [576; 637]
		3	609 [507,8; 688,5]	592 [504; 754]	574 [520; 574]
γ -ГТП, Ед/л	5,5 [1; 10]	1	4,3 [2,5; 10,7]	34 [15,4; 34,9]	17 [13,1; 23,9]
		2	20,4 [19,8; 28]	0,8 [0; 3,2]	9 [8; 10]
		3	2,5 [2; 3,9]	0,8 [0; 9]	8 [8; 9]
Общий белок, г/л	66 [54; 78]	1	70,6 [68,0; 71,5]	73 [71,0; 74,0]	71,9 [71,5; 73,0]
		2	72,0 [70,6; 74,4]	80,1 [77,1; 81,1]	76,0 [76,0; 76,0]
		3	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]	1	5,35 [3,5; 7,2]	11,1 [9,5; 11,3]	10,8 [9,8; 11,4]
		2	10,2 [9,3; 12,7]	9,4 [7,6; 12,6]	13,9 [12,7; 15,9]
		3	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]	1	5,75 [4,8; 6,7]	8,7 [7,0; 9,5]	5,8 [5,5; 6]
		2	9,1 [8,3; 9,1]	8,3 [7,4; 8,3]	6,4 [5,9; 6,5]
		3	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]	1	0,106 [0,105; 0,107]	0,113 [0,113; 0,118]	0,110 [0,108; 0,110]
		2	0,074 [0,072; 0,078]	0,073 [0,071; 0,076]	0,066 [0,065; 0,069]
		3	0,110 [0,105; 0,110]	0,110 [0,110; 0,120]	0,09 [0,08; 0,09]

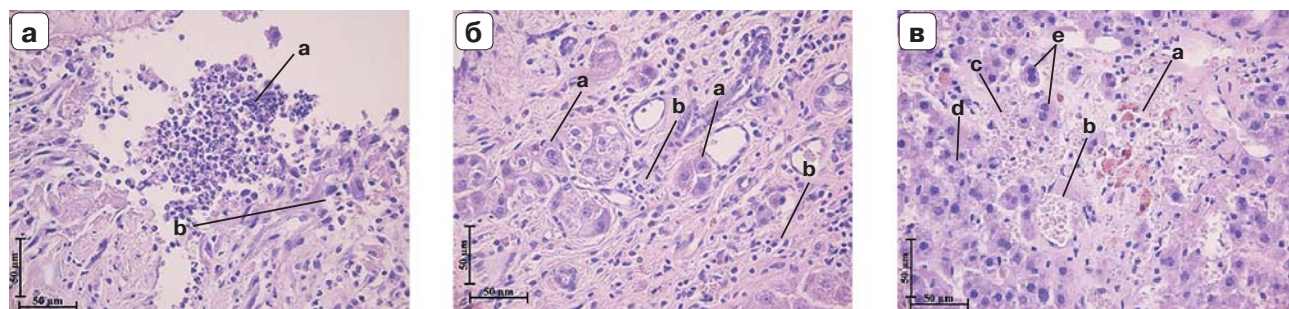


Рис. 2. Микрофото. Печень крысы 1-й группы: а – 5-е сутки, полиморфноклеточная воспалительная инфильтрация в просвете абсцесса (а), инфильтрация пиогенной мембраны (b); б – 15-е сутки, стенка абсцесса, содержащая остаточные группы гепатоцитов с признаками деградации (а), полиморфноклеточная инфильтрация (b); в – 30-е сутки, зона фиброза, содержащая зрелые коллагеновые волокна, инфильтрация (лимфоциты, гемосидерофаги) соединительной ткани (а), полнокровные сосуды (b), диапедез (с), признаки вакуольной дистрофии в пограничных гепатоцитах (d), двоядерные гепатоциты (е), остаточные тельца. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

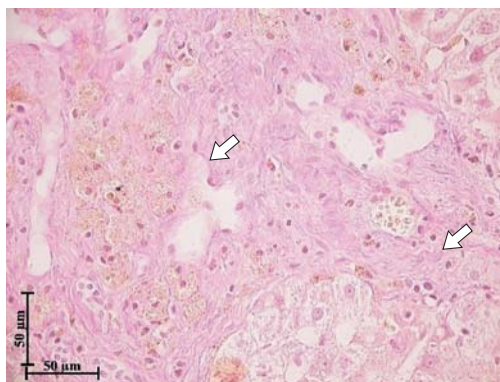


Рис. 3. Микрофото. Печень крысы 1-й группы на 30-е сутки. Зрелые коллагеновые волокна. Окраска по Ван-Гизону. $\times 400$.

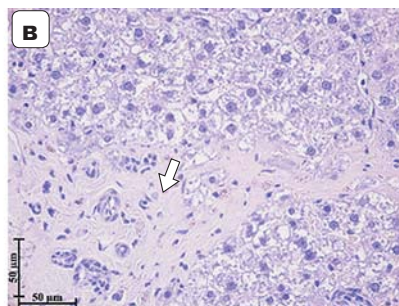
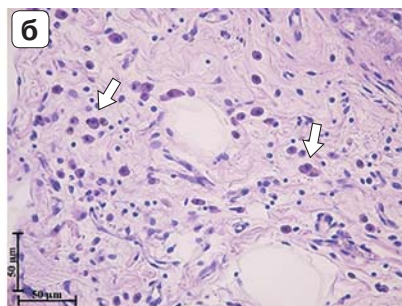
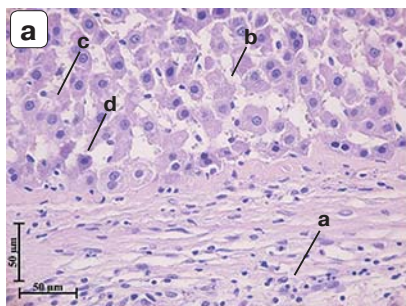


Рис. 4. Микрофото. Печень крысы 2-й группы: а — 5-е сутки, полиморфноклеточная инфильтрация (а), синусоиды расширены (b), пограничная зона, гепатоциты с признаками некроза (с) и апоптоза (d); б — 15-е сутки, соединительнотканная капсула с обильной воспалительной инфильтрацией, в том числе моноцитарно-макрофагальной; в — 30-е сутки, утолщение междольковой соединительнотканной прослойки. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 400$.

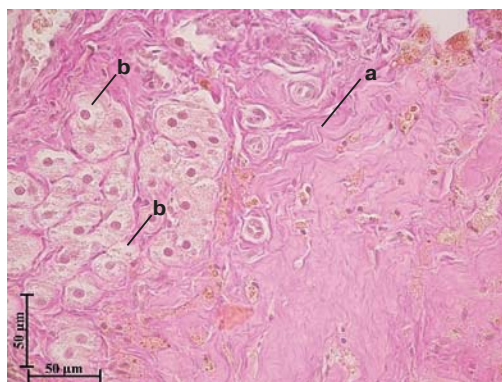


Рис. 5. Микрофото. Печень крысы 2-й группы на 30-е сутки. Соединительнотканная капсула: коллагеновые волокна (а), гепатоциты с признаками дистрофии (b). Окраска по Ван-Гизону. $\times 400$

мембрана отечна, обильно инфильтрирована клетками воспаления, в том числе моноцитами и макрофагами. В паренхиме печени гепатоциты различной формы и размеров (рис. 4б). На 30-е сутки в печени обнаруживали обилие соединительной ткани (капсула, периваскулярный фиброз, утолщение междольковых соединительнотканых прослоек, “островки” соединительной ткани полигональной формы, формирование соединительной ткани вокруг центральных вен долек), в толще которой отмечали остаточные единичные или в виде скоплений гепатоциты с признаками дегенерации, синусоиды местами расширены, полнокровны (рис. 4в, 5).

В 3-й группе в препаратах печени к 5-м суткам происходило увеличение размеров пиогенной капсулы и периваскулярного фиброза, наблюдали созревание коллагеновых волокон. В паренхиме печени обнаруживали гепатоциты с признаками мелко- или крупнозернистой дистрофии, незначительную по сравнению с группой 2 полиморфноклеточную и лимфоцитарную инфильтрацию соединительной ткани (рис. 6а, 7а). К 15-м суткам, по сравнению с группой 1, отсутствовали гепатоциты в толще капсулы, наблюдали отек соединительнотканых “островков”, меньшее число гемосидерофагов. Среди клеток воспалительной инфильтрации обнаруживали

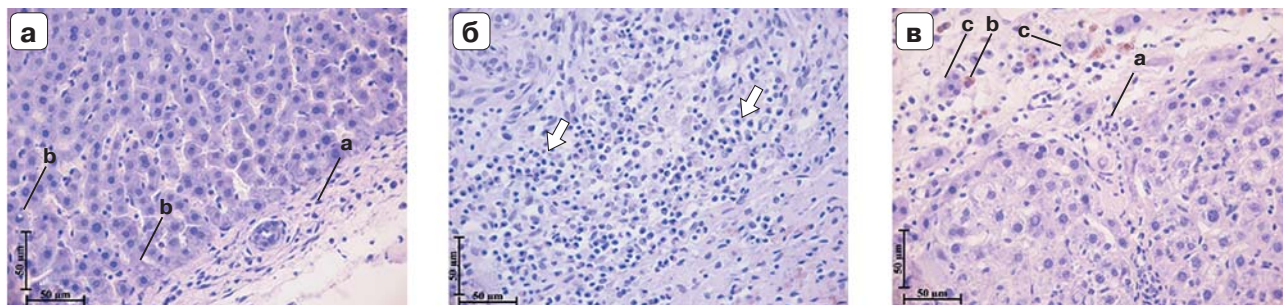


Рис. 6. Микрофото. Печень крысы 3-й группы: а – 5-е сутки, полиморфноклеточная и лимфоцитарная инфильтрация (а), пограничная зона, вакуольная дистрофия гепатоцитов (b); $\times 400$; б – 15-е сутки, полиморфноклеточная инфильтрация. Окраска гематоксилином и эозином; $\times 200$; в – 30-е сутки, пиогенная мембрана, полиморфноклеточная инфильтрация (а), в том числе гемосидерофаги (b), единичные гепатоциты в толще пиогенной мембраны (с); $\times 400$.

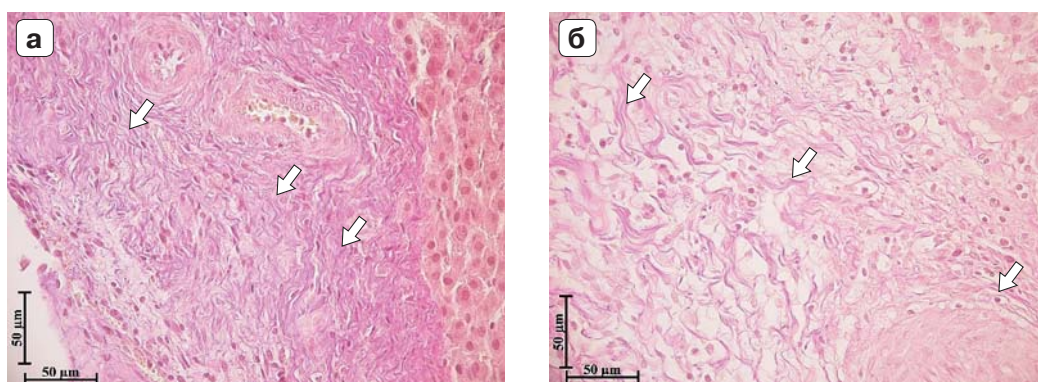


Рис. 7. Микрофото. Печень крысы 3-й группы: а – 5-е сутки, пиогенная капсула, зрелые коллагеновые волокна; б – 15-е сутки, коллагеновые волокна. Окраска по Ван-Гизону. $\times 400$.

лимфоциты, макрофаги, в том числе единичные гемосидерофаги, тучные клетки, сегментоядерные нейтрофилы, единичные эозинофилы и моноциты. При этом воспалительная инфильтрация и отек капсулы абсцесса по сравнению с группой 2 также были меньше (рис. 6б, 7б). На 30-е сутки происходило дальнейшее прорастание соединительной ткани в паренхиму печени, в результате которого в толще капсулы выявляли единичные гепатоциты с признаками дегенерации, окруженные коллагеновыми волокнами и мононуклеарной воспалительной инфильтрацией (рис. 6в).

Результаты морфометрического исследования (табл. 2). При анализе независимых данных (больше двух групп исследования) с использованием критерия Крускала–Уоллиса установлено, что показатели удельного объема (УО) гепатоцитов с признаками некроза, УО двуядерных гепатоцитов, УО соединительной ткани, УО воспалительной инфильтрации, УО гепатоцитов с признаками апоптоза, УО сосудов не имеют статистически значимых различий во всех группах и во все сроки ($p = 0,099$, $p = 0,385$, $p = 0,825$, $p = 0,588$, $p = 0,751$, $p = 0,124$ соответственно). Для остальных показателей требовалось провести попарный анализ групп методом Манна–Уитни. При сравнении группы 2 с группой 1

на 5-е, 15-е и 30-е сутки различий не выявлено. При сравнении групп 3 и 1 на 5-е сутки обнаружено статистически значимое различие по показателю УО гепатоцитов с признаками дистрофии ($p = 0,01$). В 3-й группе показатель был больше, чем в 1-й группе. При сравнении групп 3 и 2 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 группе 3 показатель УО гепатоцитов с признаками дистрофии был выше, а показатель УО нормальных гепатоцитов ниже, чем в группе 2.

В результате сравнения групп 3 и 1 на 15-е сутки статистически значимых различий не выявлено. При сравнении групп 3 и 2 на 15-е сутки отмечено статистически значимое различие по показателю УО нормальных гепатоцитов ($p = 0,025$). В экспериментальной группе показатель УО нормальных гепатоцитов больше, чем в группе контроля. При сравнении групп 3 и 1 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 групп 3 и 2 на 30-е сутки статистически значимых различий не выявлено.

Таблица 2. Показатели морфометрии печени крыс в исследуемых группах в различные сроки

Показатель, об.ед., мкм ³ /мкм ³	Группа	5-е сутки	15-е сутки	30-е сутки
УО гепатоцитов с признаками дистрофии	1	0,40 [0,319; 0,462]	0,456 [0,425; 0,568]	0,666 [0,500; 0,706]
	2	0,459 [0,393; 0,55]	0,612 [0,562; 0,650]	0,718 [0,637; 0,725]
	3	0,63 [0,562; 0,649]	0,523 [0,456; 0,593]	0,563 [0,514; 0,672]
УО гепатоцитов с признаками некроза	1	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,00]
	2	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,00]	0,00 [0,00; 0,05]
	3	0,006 [0,00; 0,025]	0,003 [0,00; 0,012]	0,009 [0,003; 0,016]
УО двуядерных гепатоцитов	1	0,031 [0,012; 0,037]	0,042 [0,025; 0,044]	0,009 [0,00; 0,012]
	2	0,012 [0,006; 0,037]	0,0156 [0,00; 0,019]	0,012 [0,006; 0,014]
	3	0,011 [0,009; 0,019]	0,019 [0,012; 0,026]	0,016 [0,012; 0,025]
УО соединительной ткани	1	0,134 [0,094; 0,187]	0,119 [0,05; 0,141]	0,147 [0,10; 0,187]
	2	0,137 [0,112; 0,187]	0,128 [0,094; 0,175]	0,112 [0,081; 0,119]
	3	0,13 [0,081; 0,149]	0,139 [0,098; 0,175]	0,128 [0,119; 0,158]
УО сосудов	1	0,203 [0,181; 0,225]	0,206 [0,183; 0,214]	0,153 [0,112; 0,187]
	2	0,162 [0,131; 0,20]	0,184 [0,112; 0,235]	0,092 [0,072; 0,10]
	3	0,094 [0,082; 0,183]	0,153 [0,111; 0,183]	0,132 [0,105; 0,147]
УО воспалительной инфильтрации	1	0,066 [0,044; 0,075]	0,037 [0,031; 0,059]	0,044 [0,025; 0,056]
	2	0,037 [0,031; 0,037]	0,031 [0,012; 0,062]	0,031 [0,012; 0,044]
	3	0,041 [0,028; 0,044]	0,043 [0,032; 0,049]	0,045 [0,033; 0,048]
УО гепатоцитов с признаками апоптоза	1	0,012 [0,006; 0,012]	0,006 [0,00; 0,012]	0,00 [0,00; 0,006]
	2	0,009 [0,00; 0,012]	0,003 [0,00; 0,012]	0,00 [0,00; 0,006]
	3	0,006 [0,00; 0,009]	0,01 [0,003; 0,014]	0,006 [0,003; 0,01]
УО нормальных гепатоцитов	1	0,10 [0,075; 0,287]	0,112 [0,044; 0,116]	0,009 [0,006; 0,025]
	2	0,153 [0,118; 0,20]	0,022 [0,015; 0,05]	0,018 [0,00; 0,019]
	3	0,066 [0,012; 0,117]	0,117 [0,076; 0,118]	0,086 [0,016; 0,116]

Примечание. УО — удельный объем.

Обсуждение

Аппарат ИХП-1 способен генерировать ННП в воздухе при атмосферном давлении с помощью барьерного разряда. С помощью эмиссионной спектроскопии выявлено, что основными компонентами плазменного пучка являются атомы N, O и H. Они инициируют другие плазмохимические процессы, такие как образование озона (O₃), пероксида водорода (H₂O₂), оксида азота (NO) и многих других реактивных компонентов. Активные частицы, входящие в состав ННП, обладают выраженным бактерицидным действием за счет развития окислительного стресса. При исследовании влияния плазмы на инактивацию микроорганизмов установлено, что воздействие плазменным пучком на питательную среду, содержащую 10⁹ мл⁻¹ микроорганизмов, в течение 20 с приводит к полной гибели бактерий [17]. В ряде научных исследований показано повреждающее действие плазмы и на здоровые ткани и органы. С помощью холодноплазменной коагуляции можно достичь эффективного гемостаза, при этом отмечено незначительное повреждение окружающих тканей [18]. Также ННП рассмотрена в качестве метода коагуляции, который не приводит к развитию ожогов и глубоких повреждений тканей [14, 15].

Результаты настоящей работы в целом соответствуют изложенной информации. В частно-

сти, посев из полости абсцесса в экспериментальной группе (воздействие на стенку абсцесса ННП) не выявил роста *St. aureus*. Аналогичный результат характерен и для контрольной группы (воздействие жидким азотом). Анализ данных биохимического исследования крови выявил незначительные изменения большинства показателей относительно нормы во всех исследуемых группах. Если какие-либо показатели превышали норму, то лишь на небольшое значение. Картина в целом свидетельствует только о локальных изменениях, возникающих в печени в области оперативного вмешательства и не влияющих на работу органа в целом.

Согласно результатам гистологического исследования обработка стенки абсцесса ННП способствовала раннему образованию и созреванию пиогенной капсулы, разрастанию соединительной ткани по менее агрессивному сценарию в виде меньшей воспалительной инфильтрации в ней, нежели в других группах. При анализе данных морфометрии во всех трех группах отмечена характерная тенденция. Показатели, характеризующие повреждение паренхимы печени (УО гепатоцитов с признаками некроза, УО соединительной ткани, УО воспалительной инфильтрации, УО гепатоцитов с признаками апоптоза), имеют тенденцию к нарастанию, достигая максимума к 15-м суткам. К 30-м суткам отмечается

их уменьшение. Для одного показателя повреждения печени (УО гепатоцитов с признаками дистрофии) характерно постепенное возрастание значений вплоть до 30-х суток. Для морфометрических данных, характеризующих регенеративные процессы печени (УО нормальных гепатоцитов, УО сосудов, УО двуядерных гепатоцитов), также отмечено возрастание вплоть до 15-х суток, а затем постепенное уменьшение к 30-м суткам. Это свидетельствует о преобладании повреждения паренхимы печени над ее регенерацией в ранние сроки после оперативного вмешательства, а также о дальнейшем стихании патологических и доминировании восстановительных процессов в печени в поздние сроки. Следует подчеркнуть, что в 3-й группе средние значения морфометрических показателей, свидетельствующих о регенерации органа, больше, чем в группах 2 и 1, хотя статистический анализ и не выявил различий.

При сравнительном анализе групп 3 и 2 можно увидеть, что к 30-м суткам статистической разницы между группами нет, хотя средние значения, характеризующие регенерацию печени в группе 3, больше. При этом на 15-е сутки УО нормальных гепатоцитов в группе 3 статистически больше, чем в группе 2. При гистологическом исследовании на 5-е и 15-е сутки можно увидеть, что воспалительная инфильтрация и отек капсулы абсцесса, а также воспалительная инфильтрация в соединительной ткани паренхимы печени в группе 3 выражены меньше, чем в группе 2 (см. рис. 4 а, б, 6 а, б). Все это может свидетельствовать о меньшем повреждении ткани печени при обработке ННП внутренней стенки хронического абсцесса печени крыс по сравнению с криодеструкцией.

● Заключение

Криодеструкция и воздействие ННП на внутреннюю стенку хронического абсцесса печени крыс при оперативном вмешательстве приводят к гибели пиогенных бактерий. Результаты биохимических тестов свидетельствуют, что криодеструкция и обработка ННП оказывают только локальное воздействие на ткань печени, в области оперативного вмешательства, и не приводят к нарушению работы органа в целом. Применение ННП при обработке внутренней стенки хронического абсцесса печени крыс приводит к меньшему повреждению паренхимы органа, чем криодеструкция. Об этом свидетельствуют результаты гистологического исследования на 5-е и 15-е сутки после вмешательства.

● Список литературы

1. Зубов А.Д., Вилсон Д.И. Посттравматические абсцессы печени: ультразвуковая диагностика и миниинвазивное эхоконтролируемое лечение. Травма. 2014; 15 (3): 89–93.

2. Durand C.M. The management of hepatic abscess. Current surgical therapy. Twelfth edition. Elsevier, 2017. P. 341–346.
3. Black S.M., Prabhakaran S., Vickers S.M. Liver abscess. Shackelford's surgery of the alimentary tract. Chapter 118. Elsevier, 2013. P. 1464–1478.
4. Косенко Ю.А. Влияние экстракорпорального ультрафиолетового облучения крови на кислородный баланс у больных с бактериальным абсцессом печени. Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2012; 7 (2): 108–112.
5. Mazza Oscar M., Santibañes M., Santibañes E. Pyogenic liver abscess. Blumgart's surgery of the liver, biliary tract and pancreas. Chapter 66. Elsevier, 2017. P. 1006–1015.
6. Lardièrre-Deguelte S., Ragot E., Amroun K., Piardi T., Dokmak S., Bruno O., Appere F., Sibert A., Hoeffel C., Sommacale D., Kianmanesh R. Hepatic abscess: Diagnosis and management. *J. Visceral. Surg.* 2015; 152 (4): 231–243. DOI: 10.1016/j.jvisurg.2015.01.013.
7. Мерзликин Н.В., Альперович Б.И., Бражникова Н.А., Цхай В.Ф., Сотников А.А., Комкова Т.Б., Авдеев С.В., Гюнтер В.Э., Марьина М.Е., Ярошкина Т.Н., Толкаева М.В., Клиновский И.Ю. Руководство по хирургии очаговых паразитарных заболеваний печени. Томск: Печатная мануфактура, 2013. 468 с.
8. Мерзликин Н.В., Бражникова Н.А., Цхай В.Ф., Саипов М.Б., Подгорнов В.Ф., Толкаева М.В., Саенко Д.С. Сравнительный анализ описторхозных и непаразитарных абсцессов печени. Анналы хирургической гепатологии. 2015; 20 (1): 66–75.
9. Ахаладзе Г.Г., Церетели И.Ю. Холангиогенные абсцессы печени. Анналы хирургической гепатологии. 2006; 11 (2): 30–35.
10. Альперович Б.И., Соловьев М.М. Неотложная хирургия живота. Томск: Курсив, 2002. 222 с.
11. Hirs A.M., Frame F.M., Maitland N.J., O'Connell D. Low temperature plasma: A novel focal therapy for localized prostate cancer? *Biomed. Res. Int.* 2014; (2014): 1–15. DOI: 10.1155/2014/878319.
12. Seeger W. Pneumology – from phthisiology to regenerative medicine. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 2005; 130 (25–26): 1543–1546. DOI: 10.1055/s-2005-870860.
13. Hoffmann M., Ulrich A., Schloerick E., Limmer S., Habermann J.K., Wolken H., Bruch H.-P., Kujath P. The application of cold-plasma coagulation on the visceral pleura results in a predictable depth of necrosis without fistula generation. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2012; 14 (3): 239–243. DOI: 10.1093/icvts/ivr109.
14. Fridman G., Brooks A.D., Balasubramanian M., Fridman A., Gutsol A., Vasilets V.N., Ayan H., Friedman G. Comparison of direct and indirect effects of non-thermal atmospheric-pressure plasma on bacteria. *Plasma Processes and Polymers.* 2007; 4 (4): 370–375. DOI: 10.1002/ppap.200600217.
15. Balasubramanian M., Sebastian A., Peddinghaus M., Fridman G., Fridman A., Gutsol A., Friedman G., Ari B. Dielectric barrier discharge plasma in coagulation and sterilization. *Blood.* 2006; 108 (11): 4043. DOI: <https://doi.org/content/108/11/4043>.
16. Нартайлаков М.А., Мустафин А.Х., Мурзабаев Х.Х., Каюмов Ф.А., Кононов В.С., Демкина Л.С., Гвоздик Т.П., Олимов С.С. Способ моделирования абсцесса печени. Патент на изобретение RU 2318248 22.11.2006.
17. Тургунова Н.Д., Денеко О.И., Семичев Е.В., Бушланов П.С. Холодная плазма в биологических приложениях.

Известия высших учебных заведений. Физика. 2013; 56 (4–2): 302–304.

18. 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. *ISRN Surg.* 2011; 2011: 518924. DOI: 10.5402/2011/518924.

References

1. Zubov A.D., Wilson D.I. Posttraumatic liver abscesses: ultrasonic diagnosis and minimally invasive ultrasound-assisted treatment. *Travma.* 2014; 15 (3): 89–93. (In Russian)
2. Durand C.M. The management of hepatic abscess. Current surgical therapy. Twelfth edition. Elsevier, 2017. P. 341–346.
3. Black S.M., Prabhakaran S., Vickers S.M. Liver abscess. Shackelford's surgery of the alimentary tract. Chapter 118. Elsevier, 2013. P. 1464–1478.
4. Kosenko Yu.A. Impact of extracorporeal ultraviolet blood radiation on oxygen status in patients with bacterial liver abscess. *Ukrains'kij zhurnal klinichnoï ta laboratornoï medicini.* 2012; 7 (2): 108–112. (In Russian)
5. Mazza Oscar M., Santibañes M., Santibañes E. Pyogenic liver abscess. Blumgart's surgery of the liver, biliary tract and pancreas. Chapter 66. Elsevier, 2017. P. 1006–1015.
6. Lardièrre-Deguelte S., Ragot E., Amroun K., Piardi T., Dokmak S., Bruno O., Appere F., Sibert A., Hoeffel C., Sommacale D., Kianmanesh R. Hepatic abscess: Diagnosis and management. *J. Visceral. Surg.* 2015; 152 (4): 231–243. DOI: 10.1016/j.jvisc.2015.01.013.
7. Merzlikin N.V., Alperovich B.I., Brazhnikova N.A., Tskhay V.F., Sotnikov A.A., Komkova T.B., Avdeev S.V., Gyunter V.E., Marjina M.E., Yaroshkina T.N., Tolkaeva M.V., Klinovitskiy I.Yu. *Rukovodstvo po khirurgii ochagovykh parazitarnykh zaboolevaniy pecheni* [Handbook for surgery of parasitic focal hepatic lesions]. Tomsk: Pechatnaja manufaktura, 2013. 468 p. (In Russian)
8. Merzlikin N.V., Brazhnikova N.A., Tskhay V.F., Saipov M.B., Podgornov V.F., Tolkaeva M.V., Saenko D.S. Comparative analysis of opisthorchiasis and non-parasitic liver abscesses. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of HPB surgery.* 2015; 20 (1): 66–75. (In Russian)
9. Akhaladze G.G., Tsereteli I.Yu. Cholangiogenic liver abscesses. *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of HPB surgery.* 2006; 11 (2): 30–35. (In Russian)
10. Alperovich B.I., Soloviyov M.M. *Neotlozhnaja khirurgija zhivota* [Emergency abdominal surgery]. Tomsk: Kursiv, 2002. 222 p. (In Russian)
11. Hirs A.M., Frame F.M., Maitland N.J., O'Connell D. Low temperature plasma: A novel focal therapy for localized prostate cancer? *Biomed. Res. Int.* 2014; (2014): 1–15. DOI: 10.1155/2014/878319.
12. Seeger W. Pneumology – from phthiology to regenerative medicine. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 2005; 130 (25–26): 1543–1546. DOI: 10.1055/s-2005-870860.
13. Hoffmann M., Ulrich A., Schloerick E., Limmer S., Habermann J.K., Wolken H., Bruch H.-P., Kujath P. The application of cold-plasma coagulation on the visceral pleura results in a predictable depth of necrosis without fistula generation. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2012; 14 (3): 239–243. DOI: 10.1093/icvts/ivr109.
14. Fridman G., Brooks A.D., Balasubramanian M., Fridman A., Gutsol A., Vasilets V.N., Ayan H., Friedman G. Comparison of direct and indirect effects of non-thermal atmospheric-pressure plasma on bacteria. *Plasma Processes and Polymers.* 2007; 4 (4): 370–375. DOI: 10.1002/ppap.200600217.
15. Balasubramanian M., Sebastian A., Peddinghaus M., Fridman G., Fridman A., Gutsol A., Friedman G., Ari B. Dielectric barrier discharge plasma in coagulation and sterilization. *Blood.* 2006; 108 (11): 4043. DOI: <https://doi.org/content/108/11/4043>.
16. Nartaylakov M.A., Mustafin A.K., Murzabaev Kh.Kh., Kayumov F.A., Kononov V.S., Demkina L.S., Gvozdk T.P., Olimov S.S. *Sposob modelirovaniya abscessa pecheni* [Liver abscess modeling method]. Invention patent RUS 2318248 22.11.2006. (In Russian)
17. Turgunova N.D., Deneko O.I., Semichev E.V., Bushlanov P.S. Cold plasma in biological applications. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenij. Fizika.* 2013; 56 (4–2): 302–304. (In Russian)
18. 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. *ISRN Surg.* 2011; 2011: 518924. DOI: 10.5402/2011/518924.

Статья поступила в редакцию журнала 13.03.2017.

Received 13 March 2017.