

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1447

Е.В. Семичев¹, А.Н. Байков¹, Н.М. Шевцова¹, П.С. Бушланов¹, Е.А. Геренг¹, А.Н. Алейник²

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Российская Федерация

Морфофункциональные изменения селезенки после гемостаза неравновесной плазмой

Повреждения селезенки сопровождаются обильным кровотечением с высоким процентом летальных исходов. В настоящее время продолжается поиск и разработка методов коагуляции селезеночных кровотечений. Инновационным методом является коагуляция неравновесной плазмой. **Цель исследования:** изучить влияние неравновесной плазмы на морфофункциональное состояние селезенки.

Методы: проведено нерандомизированное исследование по типу случай-контроль. Исследование выполнено на 45 кроликах-самцах массой 3000–3200 г. В 1-ю группу (контрольную; n = 5) вошли интактные животные без оперативного вмешательства; во 2-ю (экспериментальную, n = 40) — после атипичной резекции селезенки и коагуляции неравновесной плазмой. В заданные точки (60 мин, 3, 5, 7, 14, 30, 90, 180-е сут) после оперативного вмешательства оценивали объем кровопотери, клинический анализ крови, гистологические показатели, данные спленограммы. **Результаты.** Объем кровопотери при коагуляции селезенки неравновесной плазмой составил 16,6 [15,98;17,22] мл. В клиническом анализе крови на ранних сроках в экспериментальной группе обнаружено увеличение содержания нейтрофилов до 38 [24; 39] (группа контроля 17 [13;18], p = 0,009) и моноцитов до 15 [14;18] (группа контроля 8 [6;11]; p = 0,036), которое нормализовалось к 30-м сут. При гистологическом исследовании в ранние сроки после коагуляции отмечались лейкоцитарная инфильтрация, отек, стаз и расширение сосудов микроциркуляторного русла. В поздние сроки структура органа нормализовалась. Анализ спленограмм показал значимое (p = 0,023) снижение относительного числа малых лимфоцитов (на 28%) в экспериментальной группе по сравнению с контролем (23,3 [17,9; 26,7] против 30,8 [29,25; 34,3], соответственно). **Заключение:** гемостаз селезенки в эксперименте наступает после обработки плазменным потоком кровоточащей поверхности в течение 1,5–2 мин. После коагуляции отмечается минимальное повреждение паренхимы селезенки, проявляющееся реакцией активации. В отдаленные сроки паренхима селезенки регенерирует с образованием соединительнотканного рубца; функция органа не страдает.

Ключевые слова: гемостаз паренхиматозных органов, неравновесная плазма, повреждения селезенки, морфофункциональные изменения.

(Для цитирования: Семичев Е.В., Байков А.Н., Шевцова Н.М., Бушланов П.С., Геренг Е.А., Алейник А.Н. Морфофункциональные изменения селезенки после гемостаза неравновесной плазмой. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (5): 592–598. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1447)

592

Обоснование

Повреждение селезенки при открытых травмах живота встречается в 7%, при закрытых — в 26% случаев [1]. При повреждении селезенки происходит обильное крово-

течение, которое нередко приводит к летальному исходу. Одним из методов спасения жизни пациента в подобных ситуациях является спленэктомия, которую выполняют при открытых травмах живота в 27%, при закрытых — в 56,7% случаев [2–4].

E.V. Semichev¹, A.N. Baikov¹, N.M. Shevtsova¹, P.S. Bushlanov¹, E.A. Gereng¹, A. N. Aleinik²

¹Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

²National research Tomsk polytechnical university, Tomsk, Russian Federation

Morphofunctional Changes of Spleen After Hemostasis by Nonequilibrium Plasma

Background: Heavy bleeding is developed in case of spleen injury. It often leads to death. At present the search and development of new methods for hemostasis of spleen bleeding continues. An innovative method is coagulation of nonequilibrium plasma. **Objective:** Our aim was to study the effect of nonequilibrium plasma on the morphofunctional state of the spleen. **Methods:** The non-randomized study by type of «case-control» was conducted. The experiment was carried out on 45 male rabbits weighing 3000–3200 g. 1st group (control; n = 5) — intact animals without surgery; 2nd group (experimental, n = 40) — animals after atypical resection of the spleen and hemostasis by nonequilibrium plasma. The volume of blood loss, FBC, histological data, splenogram analysis data were assessed at defined periods (60 min, 3rd, 5th, 7th, 14th, 30th, 90th, 180th days) after surgery. They were compared with data of the control group. **Results:** The volume of blood loss during the resection of the spleen with hemostasis by nonequilibrium plasma was 16.6 [15.98;17.22] ml. Increase of neutrophil to 38 [24; 39] (control group 17 [13, 18], p = 0.009), monocytes to 15 [14, 18] (control group 8 [6, 11], p = 0.036) is revealed in the FBC in the early period after hemostasis with nonequilibrium plasma. It is reduced to the norm on 30 day. Histological examination revealed leukocyte infiltration, edema, microvascular stasis, dilatation of vessels in the early period. At long-term period structure of the organ is normalized. Splenogram analysis revealed a statistically significant (p = 0.023) decrease in the relative number of small lymphocytes by 28% in animals after hemostasis with nonequilibrium plasma as compared to control (23.3 [17.9; 26.7] versus 30.8 [29.25; 34.3] respectively). **Conclusion:** treatment of bleeding surface by plasma flow for 1.5–2 min is required order to achieve effective hemostasis during surgery of spleen injuries in the experiment. After coagulation there is minimal damage of the spleen parenchyma, which manifests itself as activation reaction. At long-term period parenchyma of the spleen completely regenerates with the formation of cicatricial tissue that does not affect the functioning of organ.

Key words: haemostasis of parenchymal organs, nonequilibrium plasma, spleen trauma, morphofunctional changes.

(For citation: Semichev E.V., Baikov A.N., Shevtsova N.M., Bushlanov P.S., Gereng E.A., Aleinik A.N. Morphofunctional Changes of Spleen After Hemostasis by Nonequilibrium Plasma. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (5): 592–598. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1447)

Безопасный и эффективный гемостаз — залог успешного хирургического вмешательства и благоприятного послеоперационного периода. Остановка кровотечения может быть достигнута за счет швов, специальных зажимов (клипс), клеевых аппликаций, применения гемостатических препаратов, термической или электрокоагуляции [5–7]. В настоящее время в хирургии отдают предпочтение электрокоагуляции [8, 9], однако она может привести к термическим ожогам и некрозам, а также к формированию рубца, спаечного процесса, нарушающего функции органа.

Одним из современных методов гемостаза является разрабатываемая и внедряемая в клиническую практику технология, основанная на применении неравновесной, или холодной плазмы, температура которой колеблется от 45 до 60°C. В физике термин «плазма» относится к четвертому состоянию вещества, которое представляет собой смесь из электронов, ионов и нейтральных частиц. В настоящее время в медицине неравновесная плазма применяется для остановки кровотечений, лечения различных гнойных заболеваний (т.к. обладает выраженным бактерицидным действием). Ряд авторов исследует плазму на предмет стимуляции регенерации, а также противоопухолевого эффекта.

Для остановки паренхиматозных кровотечений нашим научным коллективом предложен аппарат «Источник холодной плазмы-1», разработанный на кафедре ПФ ФТФ ТПУ (Томск), который генерирует «низкотемпературную» плазму (45°C, амплитуда импульсов 15 кВ, частота следования 5 кГц) из атмосферного воздуха под действием барьерного разряда. Установлено, что плазма, полученная таким способом, содержит большое количество активных составляющих, таких как OH, NO, N₂⁺, атомарный кислород и др. Данные составляющие обеспечивают бактерицидный эффект неравновесной плазмы, а также позволяют коагулировать кровоточащую поверхность без образования ожогового струпа и повреждения окружающих тканей, что уменьшает число послеоперационных осложнений и не нарушает процессы регенерации тканей [10].

Целью исследования было изучить влияние неравновесной плазмы на систему гемостаза и морфофункциональное состояние селезенки на экспериментальной модели у кроликов.

Методы

Дизайн исследования

Проведено нерандомизированное исследование по типу случай-контроль.

Критерии соответствия

Под наблюдением находились половозрелые здоровые кролики-самцы массой 3000–3200 г.

Критерии исключения из исследования

Гибель животного до наступления контрольной точки.

Условия проведения

Исследование выполнено на базе ЦНИЛ СибГМУ (Томск). Животные находились в стационарных условиях вивария на специализированном брикетном вскармливании с добавлением овощей, зерновых, сена и молочной продукции. Производили дозированное освещение (12:12, свет с 08:00 ч). Кроликов содержали по одному

в клетке. Ежедневно у всех животных оценивали общее состояние и течение послеоперационного периода. Все данные заносили в дневник.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось на протяжении 6,5 мес с учетом двухнедельного карантина. Срок проведения исследования обусловлен точками взятия биопсии, последний срок взятия — 180-е сут. До начала эксперимента животные выдерживали двухнедельный карантин в условиях вивария с учетом требований к их содержанию. После оперативного вмешательства в контрольные точки животных выводили из эксперимента, производили взятие биологического материала.

Описание медицинского вмешательства

За 1 сут до оперативного вмешательства животных переставали кормить, за 6 ч — поить. В экспериментальной группе оперативное вмешательство заключалось в атипичной резекции селезенки с гемостазом неравновесной плазмой. Анестезию у кроликов осуществляли однократным внутривенным введением раствора Zoletil-100 (Virbac, Франция) из расчета 0,05 мл на 1 кг массы тела животного в сочетании с препаратом Xylavet (Венгрия) из расчета 0,15 мл на 1 кг массы тела животного.

Доступ к селезенке осуществляли верхнесрединной лапаротомией с последующим выведением селезенки и поперечным удалением 1/3 органа [11]. Гемостаз производили при помощи аппарата «Источник холодной плазмы-1» (45°C, амплитуда импульсов 15 кВ, частота следования 5 кГц). После остановки кровотечения осуществляли контроль гемостаза, погружали селезенку в брюшную полость, рану послойно зашивали атравматической иглой (Ethicon, Шотландия) с нитью Vicryl 4/0, затем накладывали асептическую повязку. Длительность операции составляла 45–60 мин. Перевязку и осмотр проводили ежедневно. Окончательно повязку снимали на 4-е сут после операции. Раны заживали первичным натяжением. Летальные исходы среди экспериментальных животных отсутствовали.

Исходы исследования

Основной исход исследования — восстановление морфофункциональных показателей селезенки: нормализация показателей клинического анализа крови (отсутствие симптомов постспленэктомического синдрома), восстановление гистологической картины селезенки.

Дополнительные исходы исследования:

- время достижения эффективного гемостаза селезенки после обработки плазменным потоком кровоточащей поверхности;
- объем кровопотери в ходе оперативного вмешательства с гемостазом неравновесной плазмой.

Методы регистрации исходов

После выполнения оперативных вмешательств определяли объем кровопотери стандартным гравиметрическим методом. Объем кровопотери определяли делением массы крови на ее плотность. Плотность крови грызунов составляет 1,051. Погрешность метода, по данным литературы, составляет 10–12% [12].

Выведение животных из эксперимента осуществляли в определенные контрольные точки при помощи CO₂-асфиксии в специализированной камере.

В контрольные точки у экспериментальных групп животных брали венозную кровь для выполнения клинического анализа крови (ОАК) и кусочки ткани селезенки

для проведения гистологического и цитологического исследования.

Кусочки ткани селезенки проводили по спиртам и заливали в парафин по стандартной методике. Из гистологических препаратов получали срезы толщиной 5–7 мкм при помощи ротационного микротомы Ассу-CutSRM 200 (Sakuga, Япония). Обзорную микроскопию и морфометрию осуществляли на микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Для оценки выраженности фиброза использовали окраску пикрофуксином по Ван-Гизону.

Полученные препараты селезенки изучали с использованием бинокулярного светового микроскопа Carl Zeiss Axioskop 40 FL (Германия). При обзорной световой микроскопии оценивали воспалительные, дисрегенераторные (пролиферацию, гиперплазию), а также фиброзные процессы.

С помощью цифровой фотокамеры Canon Power Shot A 630 (Canon Inc., Japan) производили съемку гистологических препаратов (7–10 случайных полей зрения для каждого среза). Цифровые фотографии подвергали морфометрическому исследованию с использованием компьютерной программы ImageJ 1.43 (режим доступа: <http://www.rsbl.info.nih.gov/ij/>) с оценкой удельных объемов (VO) ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$) красной и белой пульпы, сосудов и соединительной ткани. При помощи плагина Cell программы ImageJ на 1 мм^2 в ткани исследуемых органов подсчитывали плотность клеточного инфильтрата.

Кусочки ткани селезенки использовали для приготовления мазков-отпечатков с последующей микроскопией. Отпечатки селезенки выполняли по стандартной методике с окраской азури-II и эозином по Нохту–Максимову.

Этическая экспертиза

Проведение данного исследования одобрено Этическим комитетом СибГМУ (протокол № 2029 от 20.06.2011 г.).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки составил 45 животных. Число животных на каждой контрольной точке (5) соответствует минимальному числу для статистически достоверного анализа.

Методы статистического анализа данных

Анализ количественных данных исследуемых групп выполняли с использованием статистического пакета STATISTICA v. 6.0 (StatSoft Inc., США) при помощи критерия Крускала–Уоллиса (при сравнении более двух контрольных точек) и непараметрического критерия Манна–Уитни (при сравнении двух контрольных точек) для оценки значимости различий при пороговом уровне значимости $p = 0,05$. Поскольку большая часть данных не подчиняется нормальному закону распределения (согласно критерию Шапиро–Уилка, $p < 0,001$), то они представлены в виде медианы и квартилей (процентилей), Me [Q1; Q3].

Результаты

Объект исследования

Эксперимент проведен на 45 кроликах-самцах массой 3000–3200 г (средняя масса 3100 [3050; 3170]). Животные были разделены на 2 группы. В 1-ю группу (контрольную; $n = 5$) вошли интактные животные без оперативного вмешательства; во 2-ю группу (экспериментальную, $n = 40$, по 5 животных на каждую контрольную

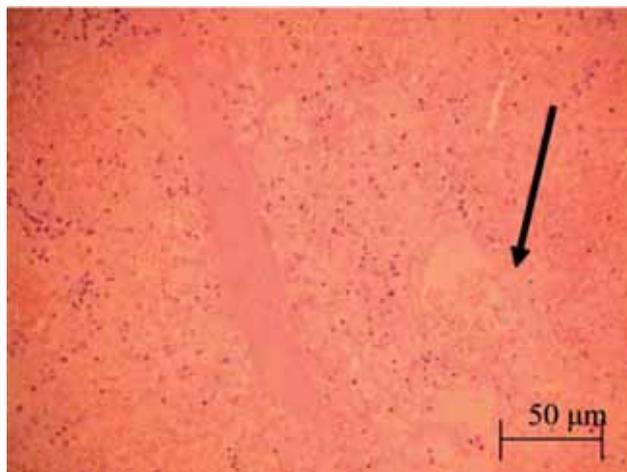


Рис. 1. Селезенка кролика на 3-и сут после гемостаза неравновесной плазмой. Нарушение структурной архитектоники паренхимы селезенки. Скопление отечной жидкости в красной пульпе селезенки.

Примечание. Стрелкой указаны расширенные сосуды со сладж-комплексами. Окраска гематоксилином-эозином.

ную точку) — животные после атипичной резекции селезенки и гемостаза неравновесной плазмой. Контрольные точки после оперативного вмешательства — 60 мин, 3, 5, 7, 14, 30, 90, 180-е сут.

Основные результаты исследования

Всем животным из экспериментальной группы выполняли ОАК до 30-х сут исследования, т.к. к этому периоду времени показатели нормализовались. В ходе эксперимента отмечалось значимое повышение относительного числа сегментоядерных нейтрофилов до 38 [24; 39] (группа контроля 17 [13; 18], $p = 0,009$) и моноцитов до 15 [14; 18] (группа контроля 8 [6; 11], $p = 0,036$). В остальные сроки значимых изменений исследованных показателей не установлено.

В гистологической картине на 3-и сут отмечали выраженные явления отека, разволокнение коллагеновых волокон, очаговый полиморфно-клеточный инфильтрат. Реологические изменения проявлялись в виде сладжа и стаза сосудов микроциркуляторного русла (рис. 1).

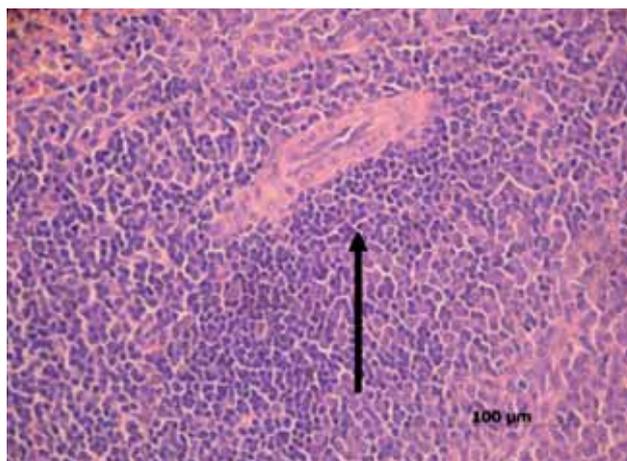


Рис. 2. Селезенка кролика на 5-е сут после гемостаза неравновесной плазмой. Расширение просвета, набухание эндотелиальных клеток и укрупнение ядер гладких миоцитов в центральной вене селезенки (указано стрелкой).

Примечание. Окраска гематоксилином-эозином.

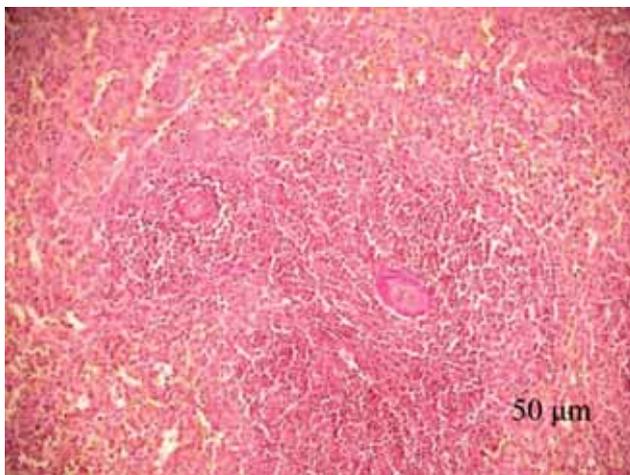


Рис. 3. Селезенка кролика на 14-е сут после гемостаза неравновесной плазмой. Разрастание соединительной ткани в белой пульпе селезенки с преимущественной локализацией вокруг центральной вены с полным стенозом ее просвета.

Примечание. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону.

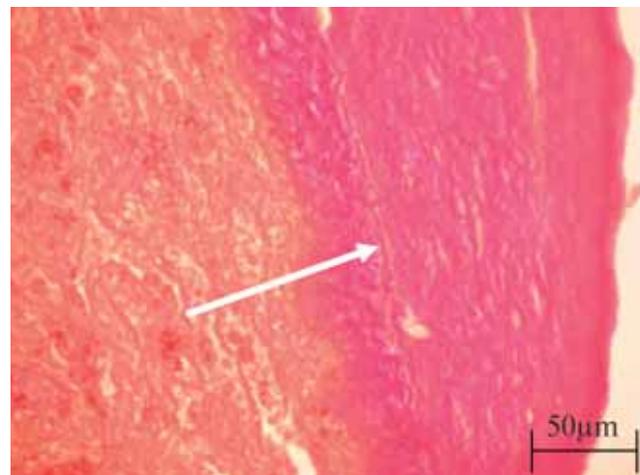


Рис. 4. Селезенка кролика на 90-е сут после гемостаза неравновесной плазмой. Утолщение капсулы селезенки за счет выраженного фиброза.

Примечание. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону.

К 5-м и 7-м сут зарегистрировано изменение структуры красной и белой пульпы за счет выраженного отека. В белой пульпе — отечная жидкость вокруг лимфатических фолликулов. В некоторых участках органа — выраженное расширение центральной вены с признаками набухания эндотелиоцитов и гипертрофией гладкомышечных клеток в ней (рис. 2). На 7-е сут отчетливо определялось утолщение капсулы селезенки за счет отека и разволокнения коллагеновых волокон.

На 14-е и 30-е сут сосудистые изменения были выражены слабо, при этом касались преимущественно синусоидных капилляров. В белой пульпе между фолликулами определялось небольшое количество отечной жидкости. Вокруг центральной артерии селезенки располагались небольшие пучки коллагеновых волокон (рис. 3). В красной пульпе синусоидные капилляры расширены, между ними — небольшие пучки коллагеновых волокон, единичные скопления сегментоядерных нейтрофилов.

К 90-м сут наблюдали полное разрушение красной и белой пульпы, границы между этими двумя гистологи-

ческими структурами отсутствовали. В белой пульпе невозможно идентифицировать фолликулы, а лимфоциты и плазматические клетки были расположены диффузно. Выявленные признаки фиброза (рис. 4).

На 180-е сут определялась селезенка обычного строения. В ней можно было выделить красную и белую пульпу. Соединительнотканная капсула имела типичное строение.

При анализе независимых данных (больше двух групп исследования) с использованием критерия Крускала–Уолиса установили, что все морфометрические показатели имеют значимые различия во всех группах ($p < 0,001$). При оценке данных экспериментальной группы и группы контроля на 3-и сут выявлено значимое различие по всем показателям. Показатели удельного объема (УО) белой ($p < 0,001$) и красной пульпы ($p = 0,003$) уменьшились на 46,9 и 12,5%, а УО сосудов, напротив, увеличился в 3 раза по сравнению с данными контрольных животных (табл. 1).

На 5-е и 7-е сут после операции отмечено значимое ($p < 0,001$) увеличение УО соединительной ткани — до 9,42 [7,79; 18,0], УО белой пульпы, на 5-е сут значимо ниже

Таблица 1. Тканевые показатели патологических процессов ткани селезенки после гемостаза неравновесной плазмой

Сроки	Показатель	УО белой пульпы, мм ³ /мм ³	УО красной пульпы, мм ³ /мм ³	УО соединительной ткани, мм ³ /мм ³	УО сосудов, мм ³ /мм ³
Контроль		64,1 [60,7; 73,5]	73,35 [68,7; 83,3]	0,0 [0,0; 0,0]	4,32 [3,28; 5,26]
3-и сут		34,11 [31,48; 41,4]; $p < 0,001$	46,74 [44,14; 54,04]; $p = 0,003$	3,27 [2,51; 9,34]; $p < 0,001$	12,25 [9,26; 14,48]; $p < 0,001$
5-е сут		41,095 [38,22; 44,34]; $p < 0,001$	34,12 [29,69; 44,65]; $p = 0,001$	9,42 [7,79; 18,0]; $p < 0,001$	9,81 [8,26; 11,58]; $p = 0,002$
7-е сут		60,33 [56,75; 65,83]; $p = 0,326$	15,88 [12,24; 19,14]; $p < 0,001$	16,065 [13,16; 18,25]; $p < 0,001$	9,49 [7,13; 12,14]; $p = 0,002$
14-е сут		43,23 [40,12; 46,42]; $p = 0,001$	19,41 [18,22; 24,23]; $p < 0,001$	17,39 [11,97; 20,95]; $p < 0,001$	18,26 [12,26; 20,83]; $p < 0,001$
30-е сут		20,94 [15,64; 28,32]; $p < 0,001$	16,94 [12,11; 21,46]; $p < 0,001$	52,42 [48,44; 57,83]; $p < 0,001$	5,16 [3,96; 5,95]; $p = 0,650$
90-е сут		30,83 [21,35; 38,45]; $p < 0,001$	24,45 [23,62; 35,12]; $p < 0,001$	36,14 [33,12; 43,14]; $p < 0,001$	3,7 [3,12; 5,95]; $p = 0,326$
180-е сут		50,96 [47,24; 56,57]; $p = 0,005$	22,95 [20,5; 26,5]; $p < 0,001$	22,9 [19,26; 28,1]; $p < 0,001$	4,17 [3,16; 5,13]; $p = 0,364$

Примечание. УО — удельный объем. Представлено значение p при сравнении экспериментальной группы в различные сроки с контролем.

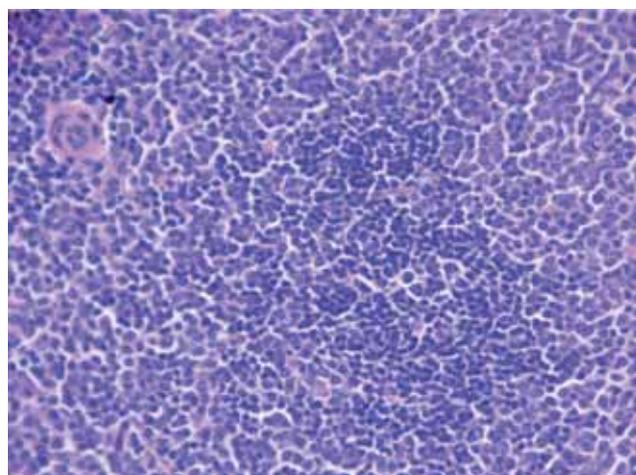


Рис. 5. Селезенка кролика на 180-е сут после гемостаза неравновесной плазмой. Белая пульпа селезенки типичного строения.

Примечание. Окраска гематоксилином-эозином.

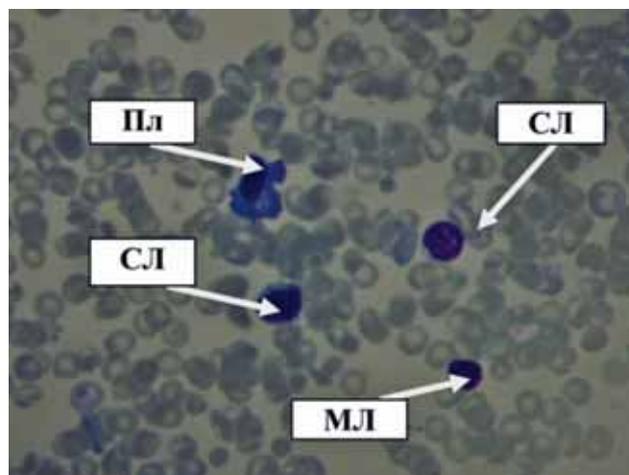


Рис. 6. Отпечаток селезенки кролика на 1-й мин после гемостаза неравновесной плазмой.

Примечание. Стрелкой указаны: Пл — плазматическая клетка, СЛ — средний лимфоцит, МЛ — малый лимфоцит. Ув. 1000. Окраска по Нохту–Максимуму.

596

значений контроля ($p < 0,001$), к 7-м сут восстанавливался до контрольных величин. Показатель УО красной пульпы продолжал снижаться ($p = 0,002$) и составлял 34,12 [29,69; 44,65], показатель УО сосудов незначительно снижался по сравнению с предыдущим сроком, но превышал контрольные значения (см. табл. 1).

На 14-е и 30-е сут показатель УО красной и белой пульпы значимо ($p < 0,001$) снижался до 19,41 [18,22; 24,23] по сравнению с предыдущими сроками и контрольной группой. В то же время на данных сроках исследования показатель УО сосудов и соединительной ткани увеличивался и достигал своего максимального значения — 18,26 [12,26; 20,83] для сосудов ($p < 0,001$) и 52,42 [48,44; 57,83] для соединительной ткани (см. табл. 1).

К 90-м сут среди показателей УО красной и белой пульпы зафиксирована тенденция к восстановлению ($p < 0,001$), однако в последний контрольный срок, на 180-е сут, они оставались значимо ($p < 0,001$) ниже контрольных и составляли 22,95 [20,5; 26,5] и 50,96 [47,24; 56,57], соответственно (рис. 5). Показатель УО

соединительной ткани имел схожую динамику, и к 180-м сут ($p < 0,001$) снижался в сравнении с предыдущими сроками, однако оставался выше показателей контроля (см. табл. 1).

Анализ спленограмм (табл. 2) показал значимое ($p = 0,023$) снижение лишь относительного числа малых лимфоцитов по сравнению с показателями контроля на 1-й мин после гемостаза неравновесной плазмой (рис. 6). Относительное число малых лимфоцитов снизилось на 28% (23,3 [17,9; 26,7] в экспериментальной группе против 30,8 [29,25; 34,3] в контроле).

Дополнительные результаты исследования

Достижение гемостаза селезенки при экспериментальном оперативном вмешательстве наступало через 1,5–2 мин обработки плазменным потоком кровотокашей поверхности.

Объем кровопотери в ходе оперативного вмешательства на селезенке с гемостазом неравновесной плазмой составил 16,6 [15,98; 17,22] мл.

Таблица 2. Спленограмма, выполненная у кроликов после гемостаза неравновесной плазмой

Клетки \ Группы	Контроль	Гемостаз неравновесной плазмой	Значение p
Незрелые нейтрофилы	0,4 [0,35; 1]	0,4 [0,3; 0,7]	0,699
Зрелые нейтрофилы	9 [7,85; 11,65]	12,8 [10,7; 14,7]	0,131
Ретикулярные клетки	0,2 [0,1; 0,25]	0,1 [0; 0,2]	0,308
Лимфобласты	8,4 [5,35; 11,5]	11,7 [10,5; 12,4]	0,257
Средние лимфоциты	39,2 [36,65; 44,8]	43,3 [41,5; 45,3]	0,345
Малые лимфоциты	30,8 [29,25; 34,3]	23,3 [17,9; 26,7]^	0,023
Эозинофилы	0,6 [0,4; 1,5]	0,2 [0,1; 0,3]	0,068
Макрофаги	0,4 [0,35; 0,55]	0,4 [0,2; 0,5]	0,627
Моноциты	4,9 [4,8; 5,25]	6,1 [4,9; 7,3]	0,252
Эритроидные клетки	0,5 [0,4; 0,7]	1,3 [0,6; 2,1]	0,126
Плазмоциты	1,2 [1,1; 1,7]	1,5 [1,1; 1,8]	0,625

Примечание: ^ — статистически значимые различия между группами.

Нежелательные явления

В ходе проведения исследования нежелательные явления не зарегистрированы.

Обсуждение

Коагуляция неравновесной плазмой является эффективным методом гемостаза при ранениях и травмах селезенки. Воздействие неравновесной плазмой приводит к минимальным патологическим изменениям, нивелирующимся спустя некоторое время.

После выполнения атипичной резекции селезенки с последующей остановкой кровотечения неравновесной плазмой резецированный орган получает значительную механическую травму, а также воздействие физических факторов, таких как OH, NO, N₂⁺, атомарный кислород и др. [10].

Ряд исследователей проводили сравнительные эксперименты по оценке повреждающего действия коагуляторов, из них наиболее современной можно считать работу ученых из университета Ганновера T. Saugus и K. Raschebrandt. Исследование было связано с оценкой эффективности гемостаза и повреждающего действия на ткань паренхиматозных органов моно-, биполярного, «холодно-плазменного» и ультразвукового коагуляторов [8]. В своей работе они пришли к выводу, что гемостаз может быть достигнут моно-, биполярной и «холодно-плазменной» коагуляцией. Ультразвуковая коагуляция больше подходит для рассечения тканей, а коагуляция изолированных сосудов не приводит к достаточному гемостазу при кровотечениях с больших площадей. Биполярный метод является наиболее эффективным с минимальным повреждающим действием [8]. В то же время G. Fridman (2006) и S. Kalghatgi (2007) в своих работах рассматривают неравновесную плазму как селективный метод коагуляции с отсутствием ожогов и глубоких повреждений тканей [13–15].

В ходе проведенных экспериментальных исследований и сравнительного анализа полученных данных была предпринята попытка сопоставления опыта предыдущих исследователей с результатами настоящей работы. В доступной нам литературе не встретилось работ, описывающих подобные результаты.

При травмах или оперативных вмешательствах на селезенке происходит выраженное кровотечение из-за особенностей строения паренхимы органа и его кровоснабжения, что часто вынуждает хирургов к полному удалению селезенки. Воздействие холодной плазмы в данном случае приводит к эффективной и полной коагуляции за счет комплексного воздействия на систему гемостаза [13, 16]. При этом непосредственного контакта электрода с обрабатываемой поверхностью не происходит, и струп не образуется, что нивелирует все отрицательные эффекты, связанные с припайванием тканей к электроду коагулятора с последующим отрывом струпа и рецидивом кровотечения. Таким образом, коагуляция кровоточащей раневой поверхности селезенки плазменным потоком в эксперименте в течение 1,5–2 мин позволяет выполнять органосохраняющие операции.

На 3-и сут после воздействия неравновесной плазмой на паренхиму селезенки кролика нами были обнаружены выраженные сосудистые изменения с нарушением структуры белой и красной пульпы, выраженность которых постепенно уменьшалась (к 7-м сут), что может быть связано с угнетением экссудативной фазы воспаления и восстановлением лимфоидных фолликулов.

Согласно нашим данным, на 14-е сут исследования в паренхиме селезенки отмечалось увеличение УО соединительной ткани и сосудов. Изменение этих параметров в паренхиме селезенки, вероятно, связано с развитием «молодой соединительной ткани» с большим числом кровеносных сосудов. Важно отметить, что на 30-е сут исследования в паренхиме селезенки подопытных кроликов УО соединительной ткани увеличивался, а сосудов, напротив, уменьшался по сравнению с предыдущими сроками и с контрольными животными, что, возможно, связано с «уплотнением» рубца. При исследовании паренхимы селезенки после воздействия неравновесной плазмой в отдаленные сроки показатели структурной организации белой и красной пульпы, а также соединительной ткани и сосудов не отличались от 30-х сут исследования.

Согласно общей неспецифической адаптационной теории [17], в ответ на действие различных по качеству раздражителей, к которым можно отнести и воздействие неравновесной плазмы, развивается реакция активации, характеризующаяся подъемом активности защитных и регуляторных подсистем организма; реакция активации несет основную антистрессовую функцию [17]. Результатом реакции активации, возможно, и объясняются обнаруженные нами изменения со стороны малых форм лимфоцитов у экспериментальных животных.

Ограничения исследования

Полученные результаты применимы только при оперативном вмешательстве на животных мелкого и среднего размера. При коагуляции кровотечений из селезенки человека необходимо существенное изменение параметров плазменного коагулятора (конфигурация электродов, мощность заряда и т.д.) и проведение соответствующих клинических исследований.

Заключение

Для достижения эффективного гемостаза при ранениях и травмах селезенки в эксперименте необходима обработка плазменным потоком кровоточащей поверхности в течение 1,5–2 мин.

После гемостаза неравновесной плазмой отмечается минимальное повреждение паренхимы селезенки, проявляющееся в первые минуты после воздействия реакцией активации. В отдаленные сроки паренхима селезенки полностью регенерирует с образованием соединительнотканного рубца, который не нарушает функционирование органа.

Полученные результаты могут быть использованы для разработки плазменного коагулятора при оперативных вмешательствах на паренхиматозных органах человека и проведения соответствующих клинических испытаний с целью последующего внедрения данной технологии в медицину.

Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке программы «Приоритет 2012 Фонд содействия развитию малых форм предприятий в НТС. Проведение НИ-ОКР по государственному контракту № 10848р/19772 от 13.08.2012 г.»

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Попов В.А. Гемостаз и герметизация швов (операции на внутренних органах). М.: ГЭОТАР-Медиа. 2008. 320 с.
2. Савельев В.С., Кириенко А.И. Клиническая хирургия. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2009. Т. II. 401 с.
3. Ahmed N., Vernick J.J. Management of liver trauma in adults. *J. Emerg. Trauma and Shock*. 2011; 4 (1): 114–119.
4. Alkozai E.M., Lisman T., Porte R. J. Bleeding in liver surgery: prevention and treatment. *Clin. Liver Dis*. 2009; 13 (1): 145–154.
5. Махнев А.В., Стрелин С.А., Шнейдер В.Э., Волкова Ю.Л. Патент на изобретение RUS 2421159 22.06.2009. Способ остановки кровотечения при травмах печени. Опубл. 27.12. 2010.
6. Кубачёв К.Г., Кукушкин А.В. Диагностика и хирургическая тактика при изолированной и сочетанной травме печени. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2010; 92 (1): 119–122.
7. Щёголев А.А., Платонов Д.В., Марущак Е.А. Закрытая абдоминальная травма: тактика хирурга при повреждениях печени и селезенки. *Лечебное дело*. 2007; 3: 73–78.
8. 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.
9. Choi S.H., Lee J.M., Lee K.H., Kim S.H., Lee J.Y., Han J.K., Choi B.I. Postbiopsy splenic bleeding in a dog model: comparison of cauterization, embolization, and plugging of the needle tract. *Am. J. Roentgenol*. 2005. 185 (4): 878–884.
10. Денеко О.И., Алейник А.Н., Семичев Е.В. Плазменная медицина. Учебное пособие. Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing. 2013. 93 с.
11. Семичев Е.В., Бородин О.Ю., Бушланов П.С. Экспериментальная хирургия паренхиматозных органов (обзор литературы). *Русский медицинский журнал*. 2012; 20 (36): 1743–1746.
12. Тихонов В.И., Попов О.С., Шпилевой П.К. Кровотечение. Переливание крови. Учебно-методическое пособие. Томск: ТГУ. 2005. 148 с.
13. Kalghatgi S.U., Fridman G., Cooper M., Nagaraj G., Peddinghaus M., Balasubramanian M., Vasilets V.N., Gutsol A.F., Fridman A., Friedman G. Mechanism of Blood Coagulation by Nonthermal Atmospheric Pressure Dielectric Barrier Discharge Plasma. *IEEE 34th International Conference*. 2007. 674 p.
14. Balasubramanian M., Fridman G., Brooks Ari D., Fridman A., Gutsol A.F., Vasilets V.N., Halim A., Friedman G. Comparison of Direct and Indirect Effects of Non-Thermal Atmospheric-Pressure Plasma on Bacteria. *Plasma Process Polym*. 2007; 4: 370–375.
15. Fridman G., Friedman G., Gutsol A.F., Shekhter A.B., Vasilets V.N., Fridman A. Applied Plasma Medicine. *Plasma Process Polym*. 2008; 5: 503–533
16. Moldoveanu C., Geavlete B., Jecu M. Stanescu F., Adou L., Bulai C. Bipolar plasma vaporization versus monopolar TUR and «cold-knife» TUI in secondary bladder neck sclerosis — An evidence based, retrospective critical comparison in a single center clinical setting. *J. Med. Life*. 2014. 7 (1): 94–99.
17. Гонохова М.Н., Бойко Т.В., Ельцова А.А. Сравнительная цитоморфологическая характеристика селезенки крыс при воздействии пестицидов. *Современные проблемы науки и образования*. 2013; 6: 1056.

598

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Семичев Евгений Васильевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник ЦНИЛ СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (923) 401-81-60, e-mail: evsemichev@yandex.ru

Байков Александр Николаевич, заведующий ЦНИЛ СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 911-101, e-mail: baikov47@mail.ru

Шевцова Наталья Михайловна, старший научный сотрудник ЦНИЛ СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 911-101, e-mail: nata_m_shevtsova@mail.ru

Бушланов Павел Сергеевич, клинический ординатор кафедры хирургических болезней педиатрического факультета СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 911-101, e-mail: pavel.vivian@gmail.com

Геренг Елена Андреевна, старший научный сотрудник ЦНИЛ СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 911-101, e-mail: e-gereng@mail.ru

Алейник Александр Никонорович, старший научный сотрудник кафедры прикладной физики ФТИ ТПУ
 Адрес: 634050, Томск, пр-т Ленина, д. 30, тел.: +7 (3822) 60-63-33, e-mail: aleinikan@mail.ru