



В.В. Бойко^{1,2}, В.В. Макаров¹, А.В. Малоштан², В.Ф. Омельченко²

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ БИПОЛЯРНОЙ КОАГУЛЯЦИИ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АВТОМАТИЧЕСКОГО ЕЁ ПРЕРЫВАНИЯ ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ ДЕКОРТИКАЦИИ ЛЁГКОГО

¹Харьковский национальный медицинский университет

²ГУ Институт общей и неотложной хирургии АМН Украины

Ключевые слова: декортация лёгкого, биполярная коагуляция, режим автоматического прерывания

Применение биполярной коагуляции с использованием автоматического её прерывания при диссекции плевральных спаек в ранние сроки (30-е сутки), характеризуется минимальным термическим повреждением тканей, хорошими темпами репарации с полным восстановлением структуры тканевых компонентов.

Декортация легкого – одна из распространённых операций выполняемых при эмпиеме плевры различного генеза. Выполнение данного оперативного пособия на современном этапе расширилось внедрением различных технических устройств позволяющих разделять соединительнотканые сращения, достигать аэростаз, гемостаз [1,2,5].

Наиболее широкое применение имеют электрокоагуляционные методики. С 1966 года Witmozer применил при торакальных вмешательствах биполярную коагуляцию. Разработки, направленные на создание биполярного электродра, позволяющего выполнять "резание" ткани, расширили возможности применения данного метода при хирургических вмешательствах на грудной клетке [2,6].

Локальное действие биполярной коагуляции, сохраняет вероятность дугообразования при прохождении тока и возможность повреждения близлежащих тканей. Поэтому выполнение биполярной коагуляции с применением автоматического прерывания с целью уменьшения повреждающего действия на близлежащие ткани является перспективным направлением. По данным ряда авторов, наиболее высокая вероятность повреждения при электрокоагуляции близлежащих органов при выполнении декортации легкого в ранние сроки заболевания (до 30 суток от начала возникновения сращений), что обуславливается строением соединительной ткани [2,4,6].

Цель работы – изучение морфологических особенностей легочной ткани и плевральных спаек при применении биполярной коагуляции в режиме "резание" с применением автоматического прерывания при выполнении декортации легкого в ранние сроки (до 30 суток) моделирования спаечного процесса в плевральной полости.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыт проводили на 18 разнополых половозрелых крысах линии Вистар весом 180-200 граммов с соблюдением международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1985).

Моделирование спаечного процесса в плевральной полости выполняли согласно рекомендациям Д. Спенсера (1956) [7].

Данную группу составили животные в разделение плевральных сращений, которых применялась биполярная коагуляция с автоматическим прерыванием. Проведение данного метода коагуляции осуществлялось на 30 сутки болезни. На 30-е сутки вывели 6 крыс, на 45-е сутки – 6 животных, на 60-е сутки – 6.

При разработке режима необходимой управляемой коагуляции мы использовали следующее оборудование.

- Электрокоагулятор (ВЧ генератор) фирмы Karl Storz (860021B/C/D).
- Комплекс аппаратуры "Кедр-1" для дозирования времени воздействия ВЧ энергии на свариваемые ткани, регистрации и хранения в памяти физических параметров воздействия (U, I, R, W и t) с последующей их выгрузкой в ПК IBM в виде таблиц Excel, разработанный НТ СКБ "ПОЛИСВИТ" ГНПП "Объединение Коммунар".

Количество ткани, захватываемое между браншами пинцета, находится в пределах 40-200 мг, что предварительно устанавливалось путем взвешивания на торсионных весах.

Морфологическому исследованию подвергались иссеченные спайки с фрагментами висцеральной и париетальной плевры, а также прилежащие отделы субплевральной паренхимы.

Исследуемый материал фиксировался в 10% растворе нейтрального формалина. Затем подвергался стандартной гистологической проводке через спирты увеличивающейся концентрации, жидкость Никифорова (96% спирт и дизтиловый эфир в соотношении 1:1), хлороформ, после чего заливался парафином. Из приготовленных таким образом блоков делались серийные срезы толщиной 4-5 $\times 10^{-6}$ м.

Обзорные препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, использовались для общей оценки состояния исследуемых тканей. Окрашивание препаратов



фукселином на эластические волокна по Вейгерту с докрашиванием пикрофусином по методу ван Гизон использовалось для выявления и дифференцировки соединительно-тканых структур. Для оценки функциональной активности регенерирующих тканей использовали комплекс гистохимических методик. Дезоксирибонуклеопротеиды (ДНП) выявляли реакцией по Фельгену-Россенбеку (контроль - гидролиз с HCl). Рибонуклеопротеиды (РНП) выявляли окраской по методу Браше (контроль с кристаллической рибонуклеазой). С помощью ШИК-реакции по Мак Манусу Хочкису (контроль с амилазой) выявляли нейтральные гликозаминогликаны (ГАГ), а Хейл-реакцией с толуидиновым синим – кислые ГАГ (контроль по В.В. Виноградову и Б.Б. Фиксу). Для оценки степени зрелости соединительной ткани препараты окрашивали методом Маллори. Гистологические и гистохимические методики выполнялись по прописям, изложенным в руководствах по гистологической технике [3, 4].

Методом цитофотометрии определяли оптическую плотность содержания дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) в ядрах фибробластов и рибонуклеиновой кислоты (РНК) в их цитоплазме в зеленой части спектра на срезах, обработанных методами Фельгена-Россенбека и Браше. В каждом наблюдении изучалось 3-5 случайно выбранных поля зрения.

Комплекс гистологических и цитофотометрических исследований проводился на микроскопе Olympus BX-41 с использованием программ Olympus DP-Soft (Version 3:1) и Microsoft Excel.

Иммуноморфологическое исследование проводили на парафиновых срезах, толщиной 5-6 мкм непрямым методом Кунса по методике Brosman. Коллагены типировали моноклональными антителами (МКАТ) фирмы Serotec к коллагенам I, III, и IV типов. В качестве люминисцентной метки использовали F (ab)-2 – фрагменты кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши. Препараты изучали в люминесцентном микроскопе МЛ-2 с использованием светофильтров: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3.

Весь полученный в результате проведенного морфологического исследования цифровой массив данных обрабатывался методами математической статистики с использованием вариационного анализа. При использовании методов вариационной статистики вычисляли среднюю арифметическую, степень дисперсии, среднеквадратическое отклонение, среднюю ошибку разницы, вероятность различия. Вероятность различия между двумя средними при малых выборках определяли по таблице Стьюдента с соблюдением условия (n_1+n_2-2). При определении степени вероятности допускали точность $p<0,05$, что, как известно, соответствует $P>95,0\%$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Первым этапом работы было выполнение коагуляции плевральных сращений и проводился мониторинг исследуемых показателей (U, I, R и t) во время эксперимента фиксировался устройством "Кедр-1". При этом с дискретностью в 0,1 секунды. Анализ проводился путем сопоставления энергетических показателей интенсивности воздействия высокочастотной энергии на ткань (U, I, R, W и t), и морфологических изменений в тканях, которые этим воздействием были вызваны.

Экспериментальным путем, при морфологическом исследовании, было установлено, что повышение сопротивления при коагуляции сращений до 3 раз от начального не вызывает повреждений близлежащих тканей при сроках заболевания животного 30 суток. С помощью установки "Кедр" в эксперименте, позднее и в клинике, мы устанавливали верхнюю границу сопротивления, и при превышении её коагулятор отключался автоматически. Данный режим коагуляции мы называли "управляемый", так как не повреждались близ лежащие ткани. По данным проведенных исследований отмечалось значительное повышение сопротивления коагулируемой ткани. Разброс же данных энергии объяснялся количеством ткани между браншами пинцета и не влиял на обширность повреждения. Поэтому, зная сроки заболевания, нами задавался оптимальный режим коагуляции.

У лабораторных животных первой подгруппы макроскопически листки плевры несколько утолщены, тусклые, с большим количеством спаек сероватого цвета. Микроскопически в зоне воздействия электро-коагулятором (ЭК) определяется струп, который имеет вид бесструктурных гомогенных эозинофильных масс (рис. 1). В зоне фибринOIDНЫХ изменений обна-

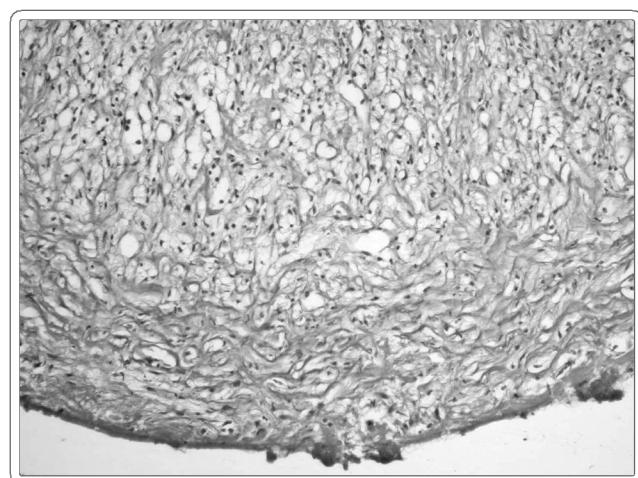


Рис. 1 В зоне воздействия электро-коагулятором определяется струп, который имеет вид бесструктурных гомогенных эозинофильных масс.

Иссекали спаек к концу 1-го месяца течения внутриплеврального воспалительного процесса. Окраска пикрофусином по ван Гизон. Ув. x200.



руживаются разрушенные нервные окончания и сосуды. В прилежащей к зоне диссекции легочной ткани отмечаются гемоциркуляторные нарушения в виде дилатации и гиперемии сосудов, развития капилляростазов, сладка и микротромбоза, а также периваскулярных кровоизлияний. Базальные мембранные сосудов набухшие, интенсивно PAS-позитивные.

В этой зоне выявляются коллагены I и III типов в виде очагового свечения неравномерной интенсивности, часто с "размытыми" границами. Границы коллагена I типа более четкие (рис. 2). Это объясняется более высокой степенью зрелости коллагена I типа, тогда как коллаген III типа общепризнан в качестве молодого интерстициального коллагена.

В плевре сохраняется воспалительная лимфогистиоцитарная инфильтрация с примесью нейтрофильных гранулоцитов. В субплевральных отделах определяются небольшие очаги склероза и рубцовой деформации легочной паренхимы. В участках деформации ткани легких определяются мелкие ацинусы и уменьшенное количество альвеол, а также очаги ателектазов.

Термическое повреждение в легочной паренхиме выражено незначительно и представлено мелкими очагами коагуляционного некроза с деструкцией расположенных в этой зоне участков альвеолярной паренхимы. Мелкие бронхи деформированы, содержат в просветах свернувшиеся белковые массы.

Спайки представлены частично созревающей грануляционной тканью с сохранившимися признаками нейтрофильной инфильтрации. Количество сосудов грануляционной ткани небольшое, стенки сосудов утолщены, а PAS-позитивные базальные мембранные разрыхлены и неравномерной ширины. Отмечаются

явления эндо-,peri- и панваскулита, полнокровие, агрегация и агглютинация эритроцитов с образованием микротромбов. Очагово в грануляционной ткани определяются гипергрануляции. Хейл-позитивная субстанция основного вещества выражена значительно, что свидетельствует о синтезе кислых ГАГ, а PAS-позитивные вещества определяются в небольшом количестве, что свидетельствует о слабой выраженности процесса коллагенизации. Гистохимическая активность ДНК и РНК в фибробластах умеренная или ослабленная (рис.3).

Количество волокнистых фуксинофильных структур, представленных отдельными тонкими волокнами или их группами, небольшое, за исключением поверхностного слоя грануляционной ткани, в котором обнаруживается более густая сеть коллагеновых волокон, формирующих очаги склероза (рис. 4).

На 45 день плевра в зоне диссекции спаек несколько утолщена, струп не определяется. Микроскопически имеет место образование прерывистого молодого соединительнотканного рубца, дающего умеренно выраженную фуксинофилю при окрашивании по Ван Гизон. В составе описанного рубца выявляются оба интерстициальных коллагена. Преобладает III тип в виде свечения умеренной и яркой интенсивности линейного характера. Коллаген I типа отмечается в виде умеренного очагового свечения. Основным клеточным компонентом соединительной ткани являются фибробlastы, их цитоплазма характеризуется высоким содержанием РНК в виде пылевидного пиронинофильного вещества. Гистохимическая активность ДНК в ядрах фибробластов умеренная. Хейл-позитивные вещества не определяются, одновременно отмечается накопление PAS-позитивной аморфной



Рис. 2 Очаговое свечение молодого интерстициального коллагена III типа неравномерной интенсивности и с "размытыми" границами. Спайка при коагуляции на 30-е сутки (выведение из эксперимента - 30-е сутки). Непрямая реакция Кунса с использованием антисыворотки к коллагену III типа. Ув. x400.

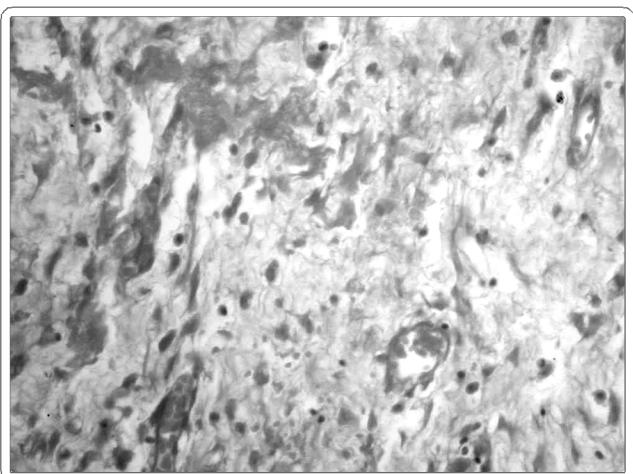


Рис. 3 Незначительно выраженная реакция на РНК цитоплазме фибробластов, что свидетельствует о снижении их белково-синтетической активности. Иссекали спайки к концу 1-го месяца течения воспалительного процесса. Окраска по Браше. Ув. x200.

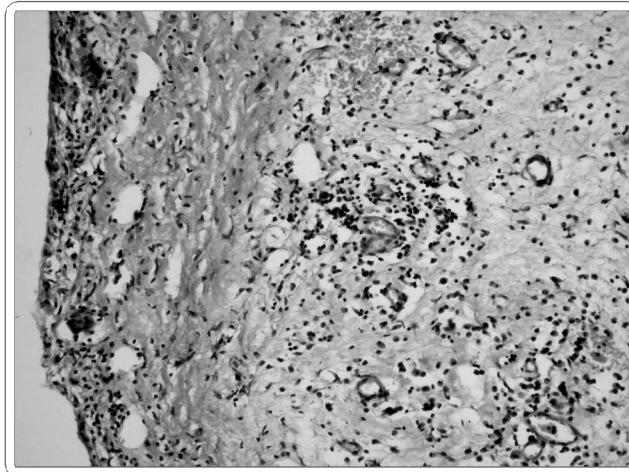
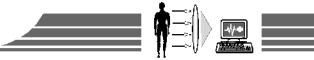


Рис. 4 Волокнистые структуры наиболее развиты в поверхностных слоях грануляционной ткани, где обнаруживается густая сеть коллагеновых волокон, формирующих очаги склероза. Отмечаются явления эндо-,peri- и панваскулита. Иссекали спайки к концу 1-го месяца течения заболевания. Окраска гематоксилином с эозином. Ув. x200.

субстанции, что свидетельствует о процессах формирования и созревания волокнистых структур. Окраска по Маллори выявляет преобладание коллагеновых волокон, эластические волокна в виде нежной сеточки вплетаются в них (рис. 5). При гистологическом исследовании легочная паренхима в субплевральных отделах не изменена, деформация альвеол и ацинусов отсутствует или выражена незначительно (рис. 5). Регенерация в области диссекции происходит путем формирования грануляционной ткани, при этом полноценность репарации определяется кооперацией эпителиального и соединительнотканного компонентов. Как известно, восстановление мезотелия, завершаю-

щее процесс репарации, тесно связан с полноценностью подлежащей соединительной ткани. В части наблюдений на месте диссекции в плевре имеет место полное восстановление структуры тканевых компонентов. Практически полностью регенерирует мезотелий с подлежащей тонкой базальной мембраной. Новообразования спаек не отмечено.

На 60 день в зоне предшествовавшей диссекции спаек плевра незначительно утолщена, струп отсутствует. Микроскопически в данной зоне имеет место соединительнотканый рубец, характеризующийся выраженной фуксинофилией при окраске по Ван Гизон. В составе описанного рубца выявляются оба интерстициальных коллагена. Преобладает III тип в виде свечения умеренной и яркой интенсивности линейного характера. Коллаген I типа отмечается в виде умеренного очагового свечения.

Основным клеточным компонентом соединительной ткани являются фиброциты. Их цитоплазма характеризуется сниженным содержанием РНК. Гистохимическая активность ДНК в ядрах фибробластов также слабо выражена. Межуточное вещество характеризуется уменьшением количества PAS-позитивной аморфной субстанции, что свидетельствует о завершенности процессов коллагеногенеза. Окраска по Маллори выявляет преобладание коллагеновых волокон, эластические волокна в виде нежной сеточки вплетаются в них. При гистологическом исследовании легочная паренхима в субплевральных отделах характеризуется слабо выраженной деформацией альвеол и ацинусов. Во всех наблюдениях на месте диссекции в плевре имеет место полное восстановление структуры тканевых компонентов (рис. 6). Полностью регенерирует мезотелий с подлежащей тонкой базальной мембраной. Новообразования спаек, как и в предыдущем сроке наблюдений, не отмечено.

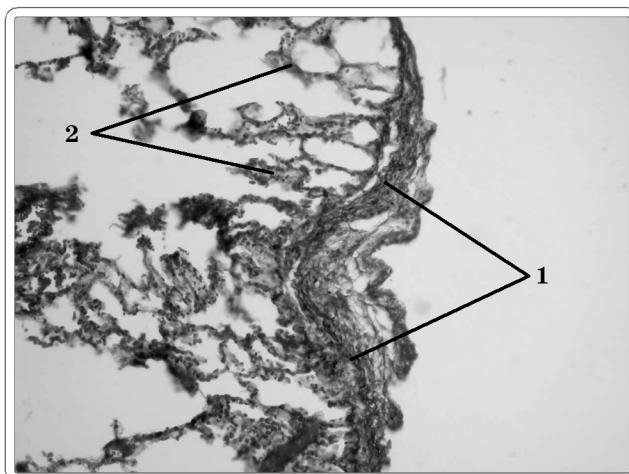


Рис. 5 Преобладание коллагеновых волокон в месте очагового склероза плевры после мягкой диссекции (1); (2) - эластические волокна. Висцеральная плевра животного, коагуляция на 30-е сутки (выведение из эксперимента - 45-е сутки). Окраска по Маллори. Ув. x200.

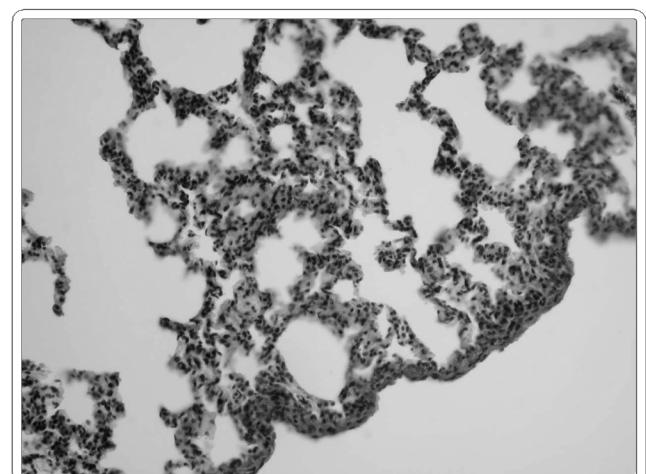


Рис. 6 Полное восстановление тканевых компонентов в месте диссекции. Висцеральная плевра животного, коагуляция на 30-е сутки (выведение из эксперимента - 60-е сутки). Окраска пикрофуксином по ван Гизон. Ув. x200.

**ВЫВОДЫ**

Таким образом, "управляемая" диссекция спаск, произведенная в ранние сроки (30-е сутки), характеризуется минимальным термическим повреждением тканей, хорошими темпами репарации с полным восстановлением структуры тканевых компонентов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бойко В.В., Флорикян А.К., Авдоcьев Ю. В., Григорян Г. О. и др. / под редакцией профессоров В.В. Бойко и А.К. Флорикяна. Гнойные заболевания лёгких и плевры. - Харьков, Прапор, 2007 - 576 с.
2. Малоштан А.В., Бойко В.В., Тищенко А.М., Криворучко И.А. Лапароскопические технологии и их интеграция в билиарную хирургию. - Х.: СИМ, 2005. - 367 с.

В.В. Бойко, В.В. Макаров, О. В. Малоштан, В.Ф. Омельченко

Експериментальне обґрунтування використання біополярної коагуляції із застосуванням автоматичного її переривання при виконанні декортикації легені

Використання біополярної коагуляції, з використанням автоматичного її переривання при пересіченні плевральних зрощень у ранній термін (30 доба), характеризується мінімальним термічним ушкодженням тканин, хорошими темпами репарації з повним відновленням структури компонентів тканини.

Ключові слова: декортикація легені, біополярна коагуляція, режим автоматичного переривання

V.V. Boyko, V.V. Makarov, A.V. Maloshtan, V.F. Omelchenko

The experimental substantiations of the application of bipolar coagulation with the use of automatic its interruption by an execution decortications of lung

The application of bipolar coagulation with the use of automatic its interruption by dissection of pleural commissures in early terms (30th days), characterize minimal thermal injury of tissues, well paces reparation with full restoration of structure tissue comports.

Key words: decortications of lung, bipolar coagulation, condition of automatic interruption

Сведения об авторах:

Бойко Валерий Владимирович, д.мед.н., профессор, заведующий кафедрой госпитальной хирургии ХНМУ, директор ГУ Института общей и неотложной хирургии АМН Украины;

Макаров Виталий Владимирович, к.мед.н., ассистент кафедры госпитальной хирургии Харьковского национального медицинского университета;

Малоштан Александр Васильевич, д.мед.н., главный научный сотрудник ГУ Института общей и неотложной хирургии АМН Украины;

Омельченко Владимир Фёдорович, заведующий патоморфологическим отделением ГУ Института общей и неотложной хирургии АМН Украины.

Адрес для переписки:

Макаров Виталий Владимирович, кафедра госпитальной хирургии, ХНМУ, Тел.: (057) 70-20-966

УДК 616.36-008.5-053.31-08

**Л.Н. Боярская¹, Ю.В. Котлова¹, В.И. Мазур¹, Е.И. Подлиanova¹,
Т.В. Сидорова², О.С. Алексеенко², С.В. Резниченко²**

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ЛЕЧЕНИЯ НЕОНАТАЛЬНЫХ ЖЕЛТУХ

¹Запорожский государственный медицинский университет

²Детская городская многопрофильная больница №5, г. Запорожье

Ключевые слова: неонатальная желтуха, клинический протокол "Желтуха новорождённых", эффективность лечения

Проведено сравнение эффективности лечения неонатальных желтух после внедрения клинического протокола "Желтуха новорождённых". Чёткая тактика врача обеспечивает безопасность наблюдения и лечения новорожденных. Ограничение энтерального медикаментозного лечения, инфузационной терапии новорожденных с симптомом желтухи уменьшает агрессивность и инвазивность лечения, при этом его длительность определяется наличием основного заболевания.

Неонатальные желтухи, обусловленные накоплением в крови избыточного количества непрямого билирубина, встречаются у 60-80% новорожденных и иногда требуют проведения неотложных лечебных мероприятий. Основными причинами желтух у ново-

рожденных является гиперпродукция билирубина, ферментативная незрелость гепатоцитов, низкая билирубинсвязывающая способность сыворотки, энтерогепатогенная кишечная рециркуляция билирубина [1,3].