

УДК 616.411-089-002.4-007.17-003.93-091.8

Л.Н. Душик

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

АНАЛИЗ МЕСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ФИЗИЧЕСКИХ МЕТОДАХ РЕЗЕКЦИИ СЕЛЕЗЕНКИ И СПЛЕНЭКТОМИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

В эксперименте изучена возможность применения ультразвукового скальпеля как на этапах мобилизации селезенки, так и при ее резекции. Доказаны эффективность и надежность гемостаза при использовании ультразвука по сравнению с электрокоагуляцией. Анализ течения регенераторного процесса в хирургии селезенки показал, что использование электрокоагуляции проявляется более выраженными деструктивными, дисциркуляторными и воспалительными изменениями, а сроки резорбции некротических масс и заживления более длительные, чем при использовании ультразвука. Выявлено, что ультразвук оказывает более щадящее воздействие на ткани, чем электрокоагуляция.

Ключевые слова: *резекция селезенки, спленэктомия, ультразвуковой скальпель, электрокоагуляция, эксперимент.*

Длительное время единственно возможным оперативным вмешательством при кистах селезенки и травматических повреждениях считалась спленэктомия. Это объясняется прежде всего опасностью возникновения трудноконтролируемого кровотечения во время и после операции. Но риск развития проявлений постспленэктомического синдрома вызывает стремление к выполнению органосохраняющих операций при кистах и травмах селезенки [1, 2].

В современной гематологической хирургии разрабатываются методы лечения заболеваний системы крови, которые внедряются в практическую деятельность лечебных учреждений [3]. Несмотря на приоритет консервативных методов при заболеваниях системы крови, спленэктомия при многих из них является единственным патогенетически обоснованным способом лечения [4].

В настоящее время продолжают разрабатывать методы, позволяющие минимизировать повреждение органов и тканей в ходе выполнения спленэктомии или резекции селезенки, а также методы, обеспечивающие относительно быстрый и надежный гемостаз [5]. Это значит, что работ по рассматриваемому вопросу, в частности о морфологической структуре, течении репаративных процессов и по иммунологическому анализу

местных изменений при различных методах резекции селезенки и спленэктомии, недостаточно.

Материал и методы. В клинике хирургических болезней Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина на базе хирургического отделения ГУ «Дорожная клиническая больница ст. Харьков» УТХО «Южная железная дорога» были изучены в эксперименте возможности и особенности воздействия на ткани следующих установок: электрохирургического аппарата ЭХВА-350М/120Б «Надія-2», Украина, ультразвуковой хирургической установки «Harmonic scalpel Ultracision», Ethicon Endo Surgery, США.

Работа проведена на 168 половозрелых крысах-самцах линии Вистар массой 200–250 г. В «острых» опытах (проведены на 28 животных: биполярная электрокоагуляция селезенки – 14 и ультразвуковой скальпель – 14, а также «хронических» опытах (70 животных в каждой группе) изучены особенности электрохирургического и ультразвукового воздействия на паренхиму селезенки и сосуды ее ножки. Изменения, происходящие в зоне воздействия разных физических способов диссекции и коагуляции, изучали методом макроскопической оценки, проводили морфологические и иммуномор-

© Л.Н. Душик, 2015

фологические исследования. Через 3, 7, 14, 21 и 28 суток животных выводили из эксперимента. Оставшуюся часть селезенки или ее ножку извлекали для изучения морфологических и иммунологических процессов в зоне операции. Все манипуляции на животных осуществляли в соответствии с международными требованиями к проведению экспериментов на животных.

Животных, которым выполняли резекцию селезенки, разделили на две группы. В 1-ю группу включили животных, которым провели биполярную электрокоагуляцию селезенки, во 2-ю группу – животных, которым резекцию выполняли ультразвуковым скальпелем. Животные, которым выполнялась спленэктомия, были разделены на две группы по тому же принципу. В 1-ю группу включены животные, которым спленэктомию выполняли монополярным электроскальпелем, во 2-ю – ультразвуковым скальпелем. В острых опытах изучали эффективность рассечения паренхимы селезенки биполярной электрокоагуляцией и ультразвуковым скальпелем, а также воздействие на сосудистую ножку при выполнении спленэктомии разных методов воздействия. При этом оценивали следующие показатели: степень гемостаза; степень выраженности некротических, некробиотических и гемодинамических изменений в зоне воздействия; наличие или отсутствие дыма, искрение и другие эффекты, возникающие при контакте манипулятора с биологическими тканями.

В хронических опытах после выполнения спленэктомии или резекции селезенки при отсутствии кровотечения ножку селезенки или оставшуюся часть селезенки погружали в брюшную полость. В хронических опытах изучали размер зоны повреждения и динамику течения репаративных процессов в области послеоперационной раны селезенки и зоны сосудистой ножки, нанесенных либо электрическим скальпелем либо ультразвуковым.

В острых и хронических опытах с целью всестороннего изучения процессов, происходящих в зоне диссекции, были исследованы про- и противовоспалительные интерлейкины.

На период проведения хронических опытов, после выполнения операции, животных помещали в клетки вивария Института проблем криобиологии и криомедицины для последующего наблюдения за ними. Через 3,

7, 14, 21 и 28 суток животных выводили из эксперимента (путем введения летальных доз калипсовета плюс). Оставшую часть селезенки или ее ножку извлекали для изучения репаративных процессов в зоне операции. Из фрагментов вырезали кусочки ткани, материал фиксировали в 10%-ном водном растворе нейтрального формалина и после спиртовой проводки подвергали парафиновой проводке. Готовили серийные срезы толщиной $4-5 \cdot 10^{-6}$ м. Обзорные препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, использовали для общей оценки состояния исследуемых тканей. Количественную морфометрическую оценку ширины зоны некроза, некробиоза, демаркационного воспаления и грануляционной ткани проводили с помощью окулярной линейки Olympus (Япония).

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах толщиной 5–6 мкм прямым методом Кунса по методике Brosnan (1979). Иммунные клетки дифференцировали с помощью крысиных моноклональных антител (МКА) фирмы Serotec. Использовали МКА к ИЛ-1 α , ФНО, ИЛ-6 и ИЛ-10. Препараты изучали в люминесцентном микроскопе Axioskop 40 (Германия). С помощью окулярных сеток определяли количество клеток-продуцентов интерлейкинов в поле зрения $\times 400$, затем подсчитывали относительное количество этих клеток. Цифровые данные обработали методами вариационной статистики.

Результаты. Исследования, проведенные в остром периоде, показали, что рассечение паренхимы селезенки путем электрокоагуляции (ЭК) не обеспечивало полный гемостаз по линии разреза. Коагуляция была возможна только при воздействии на мелкие сосуды, диаметр которых не превышал 0,2 – 0,3 мм. Это обстоятельство требовало дополнительно коагулировать сосуды и тем самым усиливать термическую травму в месте воздействия. Ткани по линии разреза приобретали белую окраску, а иногда подвергались карбонизации. При этом достаточно часто происходило прилипание электрода к рассекяемым тканям, что создавало неудобства при манипуляциях.

Рассечение паренхимы селезенки ультразвуковым скальпелем происходило быстро, по линии разреза наблюдался полный гемостаз. Макроскопически края раны имели белесоватый оттенок, что было обусловлено изменением третичной структуры белка и

превращением его в коагулят, который и обеспечивал хороший гемостаз. При работе ультразвукового скальпеля отсутствовали обугливание тканей, их налипание на лезвие, дым, искрение и другие эффекты, возникающие при контакте манипулятора с биологическими тканями.

Независимо от типа диссектора (УЗС или ЭК), с помощью которого производилась резекция селезенки или спленэктомия, наблюдалось формирование нескольких зон деструкции, а именно некроза, некробиоза и сосудистых нарушений. В сравнительном аспекте различия касались лишь размеров данных зон и сроков их инволюции. Патоморфологическое исследование паренхимы селезенки после ультразвукового рассечения выявило деструктивные изменения, почти в 2,5 раза менее выраженные, чем после электродиссекции. Так, в остром периоде при проведении электродиссекции зона некроза в селезенке составляла $(179,97 \pm 5,00)$ мкм, при применении ультразвукового скальпеля – $(66,60 \pm 1,13)$ мкм. Патоморфологическое исследование, проведенное в «остром» периоде, выявило в краях зону повреждения, которая включала зону ожогового коагуляционного некроза, прилежащую к ней зону деструктивных изменений, которые визуализировались как некротические и некробиотические, а также зону выраженных острых сосудистых нарушений и реактивного воспаления при электрокоагуляционном воздействии. Зона ожогового коагуляционного некроза неширокая, представлена плотными бесструктурными эозинофильными массами. В зоне деструктивных изменений выделяли микроскопические признаки некроза, которые в паренхиме селезенки выражались явлениями кариолизиса, кариопикноза, кариорексиса, плазмокоагуляции и цитолиза, а в строме органа – фибриноидными изменениями в виде декомпозиции межклеточного вещества, гомогенизации пучков коллагеновых волокон, их интенсивной эозинофилии.

В зоне фибриноидных изменений постоянно обнаруживали разрушенные сосуды. При использовании ультразвукового скальпеля не обнаруживали внутриорганных гематом или очагов геморрагического пропитывания.

Зона некробиотических изменений при применении ультразвукового скальпеля была меньше по ширине, чем в группе, где использовали электрокоагуляцию – $(325,95 \pm 10,27)$ и

$(190,59 \pm 1,69)$ мкм соответственно. Ширина зоны некроза и на 3-и сутки применения электрокоагуляции превышала аналогичные зоны при использовании ультразвукового скальпеля в 3 раза – $(905,93 \pm 18,43)$ и $(338,43 \pm 11,43)$ мкм соответственно, некробиоза – $(352,96 \pm 12,59)$ и $(128,85 \pm 2,93)$ мкм. По периферии зоны некроза обнаруживалось реактивное демаркационное воспаление. В составе воспалительного инфильтрата при применении электрокоагуляции преобладали как живые, так и разрушенные нейтрофильные гранулоциты, в группе, где работали с ультразвуковым скальпелем, определялись нейтрофильные гранулоциты и многочисленные, функционально активные макрофаги. Ширина зоны воспаления в группе с применением ультразвукового скальпеля составила $(78,96 \pm 0,6)$ мкм, что в 2 раза меньше, чем в группе с электрокоагуляцией. В данном сроке наблюдений при применении электрокоагуляции определялись выраженные циркуляторные и реологические нарушения в виде полнокровия сосудов с развитием эритроцитарных стазов, микротромбов, а также многочисленные периваскулярные кровоизлияния, местами по типу диффузного геморрагического пропитывания. При использовании ультразвукового скальпеля циркуляторные и реологические нарушения в толще селезенки были выражены слабо. К данному сроку вблизи зоны некроза определялась грануляционная ткань – петли новообразованных тонкостенных сосудов, ширина которой составила при электрокоагуляции $(234,28 \pm 9,71)$ мкм, при работе с ультразвуковым скальпелем – $(164,96 \pm 7,03)$ мкм.

На 7-е сутки также отмечали в 3 раза большую зону некроза, применяя электрокоагуляцию. При использовании электрокоагуляции в области рассечения с разрушением не только паренхимы, но и сосудов селезенки нередко отмечался рецидив кровотечения, чего не отмечалось при применении ультразвукового скальпеля. В отличие от группы с электрокоагуляцией, в группе с применением ультразвукового скальпеля зона некробиоза не наблюдалась. Грануляционная ткань при электрокоагуляции составила $(493,98 \pm 19,02)$ мкм и характеризовалась усиленным ростом сосудов и незрелостью клеточных элементов, слабо выраженной пролиферацией клеток фибробластического ряда, тонкими и разрозненными волокнистыми структурами, что свидетельствовало о низких

темпах ее созревания. При использовании ультразвукового скальпеля грануляционная ткань составила $(321,15 \pm 7,22)$ мкм, в ней продолжалась дифференцировка клеточных элементов, а также уменьшалось количество сосудов, гематогенных элементов, количество фибробластов увеличивалось. Зона воспаления в группе ультразвукового скальпеля была меньше – $(113,87 \pm 2,47)$ и $(94,31 \pm 2,6)$ мкм соответственно. При электрокоагуляции в толще паренхимы селезенки продолжали выявляться гематомы, чего не было выявлено при применении ультразвукового скальпеля.

При электрокоагуляции на 14-е сутки зона некроза составила $(428,95 \pm 10,16)$ мкм, что в 4,5 раза больше соответствующего показателя при работе с ультразвуковым скальпелем – $(96,73 \pm 1,97)$ мкм. Зона реактивного воспаления меньше при работе с ультразвуковым скальпелем в 1,5 раза. Также ширина зоны грануляционной ткани вдвое меньше по сравнению с аналогичным показателем при использовании электрокоагуляции.

Начиная с 21-х суток при работе с ультразвуковым скальпелем в отличие от электрокоагуляции зоны некроза, некробиоза и реактивного воспаления не определялись. Грануляционная ткань при электрокоагуляции была в 2 раза больше, чем при использовании ультразвукового скальпеля, и составила $(372,87 \pm 5,5)$ и $(174,33 \pm 0,48)$ мкм соответственно.

На 28-е сутки грануляционная ткань была в 2 раза меньше при ультразвуковом воздействии. Исследование изменений сосудов при ультразвуковом рассечении селезенки показало немедленное тромбообразование в сосудах, своеобразный эффект «заваривания» просвета сосудов коагулированными тромботическими массами при минимальной выраженности некробиотических изменений в стенке сосудов по сравнению с рассечением электрокоагуляционными инструментами.

В процессе репарации особенностью местных иммунных реакций в зоне регенерации при электрокоагуляционном воздействии является более длительное сохранение среди клеток воспалительного инфильтрата клеток-продуцентов провоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО на фоне некоторого торможения продукции противовоспалительного цитокина ИЛ-10.

При ультразвуковой диссекции уже на этапе острого периода имеются признаки менее выраженной иммунной реакции в виде достоверного уменьшения числа клеток-продуцентов ФНО, а также отмечается тенденция к снижению ИЛ-10. С третьих суток эксперимента в составе воспалительного инфильтрата нарастает как провоспалительная, так и противовоспалительная активность, а с 7-х суток по мере развития регенерационного процесса усиливается активность противовоспалительной цитокиновой системы (ИЛ-10) и угнетается провоспалительная цитокиновая активность (ИЛ-1, ИЛ-6, ФНО).

Таким образом, при применении ультразвукового скальпеля характерным явилось отсутствие глубоких деструктивных изменений паренхимы селезенки, течение воспалительного процесса по асептическому типу, отсутствие значительных микроциркуляторных нарушений. Регенерация происходила путем формирования рыхлого рубца, а в сосудах обнаружено быстрое тромбообразование.

Ультразвуковой скальпель вызывает минимальные морфологические, иммуногистологические изменения в паренхиме селезенки и сосудистой ножки по сравнению с электрокоагуляцией и характеризуется благоприятным течением репаративных процессов в условиях умеренного воспаления.

Выводы

1. Применение ультразвукового скальпеля характеризуется контролируемым, щадящим воздействием на паренхиму селезенки и сосуды ее ножки; зона латерального некроза после ультразвуковой диссекции в 2,5– 4,0 раза меньше, чем после применения высокочастотных электрогенераторов. Диссекция и коагуляция с помощью ультразвуковой энергии характеризуются строго локальным эффектом и надежным гемостазом.

2. В результате изучения комплекса иммуногистохимических исследований выявлено, что течение репаративных процессов в паренхиме селезенки и сосудах ее ножки при использовании ультразвуковой диссекции и коагуляции в отличие от монополярного электроножа характеризуется слабо выраженным воспалением.

Литература

1. Спленэктомия при массивной и гигантской спленомегалии / А.У. Магомедова, А.Ю. Буланов, С.Р. Карагюлян [и др.] // Гематология и трансфузиология. – 2011. – № 1. – С. 6–10.
2. *Ying C.* Effects of different tissue loads on high power ultrasonic surgery scalpel / C. Ying, Z. Zhaoying, Z. Ganghua // *Ultrasound. Med. Biol.* – 2006. – Vol. 32, № 3. – P. 415–420.
3. Технически сложная спленэктомия: выбор способа операции / С.Р. Карагюлян, А.В. Гржимоловский, С.А. Шутов, К.И. Данишян // *Анналы хирургической гепатологии.* – 2008. – Т. 13, № 2. – С. 12–16.
4. Клинико-статистические данные и оценка различных методов терапии идиопатической тромбоцитопенической пурпуры / Л. Г. Ковалева, Т. И. Сафонова, Е. Н. Колосова и др. // *Терап. архив.* – 2011. – № 4. – С. 60–65.
5. *Cripps M.* Hand-assisted laparoscopy for wandering spleen / M. Cripps, J. Svahn // *Surg. Endosc.* – 2011. – Vol. 25, № 1. – P. 312.

Л.М. Душик

АНАЛІЗ МІСЦЕВИХ ЗМІН ПРИ РІЗНИХ ФІЗИЧНИХ МЕТОДАХ РЕЗЕКЦІЇ СЕЛЕЗІНКИ ТА СПЛЕНЕКТОМІЇ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

В експерименті вивчена можливість використання ультразвукового скальпеля як на етапах мобілізації селезінки, так і при її резекції. Доведено ефективність і надійність гемостазу при використанні ультразвуку в порівнянні з електрокоагуляцією. Аналіз перебігу регенераторного процесу в хірургії селезінки показав, що використання електрокоагуляції проявляється більш вираженими деструктивними, дисциркуляторними та запальними змінами, а строки резорбції некротичних мас і загоєння довші, ніж при використанні ультразвуку. Виявлено, що ультразвук має більш шадний вплив на тканини, ніж електрокоагуляція.

Ключові слова: *резекція селезінки, спленектомія, ультразвуковий скальпель, електрокоагуляція, експеримент.*

L.N. Dushik

ANALYSIS OF LOCAL CHANGES AT VARIOUS PHYSICAL METHODS OF RESECTION OF THE SPLEEN AND SPLENECTOMY IN EXPERIMENT

The experiment studied the possibility of using an ultrasonic scalpel as in steps to mobilize the spleen and in its resection. The efficiency and reliability of hemostasis using ultrasound compared to electrocoagulation. Analysis of the run of regenerative processes in surgery of the spleen showed – using electrocoagulation appears more pronounced destructive, dyscirculatory and inflammatory changes, and the terms of the resorption of necrotic masses and wound are longer compared to ultrasound. Thus, the activity of the immune responses dependent on the severity of lesions found that sonication provides a more gentle on the tissues.

Key words: *spleen resection, splenectomy, ultrasonic scalpel, electrocoagulation, experiment.*

Поступила 20.07.15