

УДК: [616.366-089.87+616.342-002+616.381-072]: 615.832.9

## ПРИМЕНЕНИЕ НИЗКОТЕМПЕРАТУРНОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ В ЛАПАРОСКОПИЧЕСКОЙ ХИРУРГИИ ГЕПАТОБИЛИАРНОЙ СИСТЕМЫ

С.А. Бычков, Р.Н. Гринёв, Л.Н. Душик

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

### РЕЗЮМЕ

Авторами после проведенных экспериментальных исследований представлен опыт выполнения 101 лапароскопической операции на органах гепатобилиарной системы с применением низкотемпературного воздействия. Для криовоздействия использовался криоапликатор собственной конструкции. Анализ полученных результатов позволяет рекомендовать более широко использовать низкие температуры при лапароскопических операциях.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** желчнокаменная болезнь, киста печени, лапароскопическая холецистэктомия, криовоздействие

Последнее десятилетие в гепатобилиарной хирургии отмечено дальнейшим развитием новых прогрессивных малоинвазивных технологий, особенно лапароскопических. Прогресс в области эндоскопических технологий гепатобилиарной хирургии способствовал тому, что данный метод стал альтернативным открытому хирургическому вмешательству и радикально изменил принципы лечения заболеваний гепатобилиарной зоны.

Вместе с растущей популярностью лапароскопических технологий ключевыми факторами в выполнении этих хирургических вмешательств является безопасность используемой энергии для адекватного гемостаза в стадии диссекции. Высокочастотная электрокоагуляция остается основным методом диссекции тканей, гемостаза и холестаза при лапароскопических операциях. В публикациях поднимаются вопросы безопасного использования электрокоагуляции с целью гемо- и холестаза в лапароскопической хирургии. Используемые моно- и биполярные электроды вызывают грубые повреждения паренхимы печени, что приводит к образованию коагуляционных некрозов и возможности отторжения некротизированной ткани с развитием вторичного кровотечения и желчеистечения. [1, 2].

Работа выполнена в соответствии с комплексной научно-исследовательской работой кафедры хирургических болезней Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина «Разработка малоинвазивных оперативных вмешательств с использованием низких температур в лечении больных желчнокаменной болезнью, язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки», номер госрегистрации 0100U005308.

Ряд авторов [3, 6, 7] в экспериментальных исследованиях доказали неблагоприятное воздействие электрокоагуляции на паренхиму печени. В своих исследованиях они дока-

зали, что в зоне воздействия наблюдаются выраженные деструктивные изменения паренхимы печени, приводящие к нарушению нормального клеточного строения печени, замедлению процессов регенерации поврежденной печеночной ткани и формированию грубого соединительнотканного рубца.

Чрезмерная агрессивность электрокоагуляции и отсутствие в настоящее время других доступных и надежных методов остановки кровотечения и желчеистечения требует поиска новых решений этой проблемы. В последние годы широкое применение в медицине находят низкие температуры. В отличие от электрокоагуляции, вызывающей во время операции локальный нагрев тканей с обширными очагами коагуляционного некроза, криовоздействие не приводит к гибели печеночной паренхимы, а наоборот, стимулирует местные иммунологические реакции, способствующие ускорению регенерации. Действие низких температур на ткани приводит к спазму сосудов и образованию в них тромбов, тем самым обеспечивая надежный гемостаз [4, 5, 6]. Имеющиеся сведения об успешном использовании криовоздействия с гемостатической целью при открытых операциях на печени требуют научного обоснования его применения при лапароскопических операциях.

Выделение нерешенных ранее частей общей проблемы. Нами не найдено работ, посвященных исследованию возможностей использования низких температур при лапароскопических операциях у больных с патологией гепатобилиарной системы.

Целью настоящего исследования явилось изучение в эксперименте гистоморфологических и ультраструктурных изменений печени при воздействии монополярной электрокоагуляции и низких температур и разработка новых лапароскопических методов лечения заболеваний гепатобилиарной системы с ис-

пользованием низких температур.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Экспериментальное исследование выполнено на 60 кроликах самцах породы Шиншилла массой 3-3,5 кг. Задачей эксперимента являлось изучение в сравнительном аспекте повреждающего действия на печень монополярной электрокоагуляции и криовоздействия на ложе и заднюю стенку желчного пузыря после холецистэктомии. Животным выполнялась холецистэктомия с помощью монополярного электрокрючка. В зависимости от способа холецистэктомии и метода обработки ложа и задней стенки желчного пузыря животные были разделены на четыре группы по 15 кроликов в каждой. В I группе после удаления желчного пузыря животным проводился гемостаз в ложе желчного пузыря при помощи монополярной электрокоагуляционной пуговки. Во II группе после холецистэктомии животным проводился гемостаз криогенной обработкой ложа желчного пузыря при помощи лапароскопического криоаппликатора собственной конструкции. В III группе животных холецистэктомия проводилась с оставлением задней стенки желчного пузыря с последующей мукоклазией оставшейся части желчного пузыря монополярной электрокоагуляционной пуговкой. В IV группе животных холецистэктомия проводилась с оставлением задней стенки желчного пузыря с последующей мукоклазией оставшейся части желчного пузыря при помощи криоаппликатора.

Температура активного наконечника криоаппликатора составляла  $-89^{\circ}\text{C}$ , источником хладагента являлась закись азота. Криоаппликацию печеночной паренхимы в области ложа желчного пузыря проводили с экспозицией 2-3 минуты. Температура ткани печени, подвергшейся криообработке, была не ниже порога криоустойчивости гепатоцитов и составляла  $-39\pm 1^{\circ}\text{C}$  в центре криовоздействия. Криовоздействие на слизистую оболочку задней стенки желчного пузыря проводили с экспозицией 5 минут, что соответствовало снижению температуры тканей до  $-56\pm 1^{\circ}\text{C}$  и вызывало деструкцию слизистой оболочки желчного пузыря.

Гистологическое и электронно-микроскопическое исследования ткани печени из ложа желчного пузыря проводились непосредственно после операции, на 1, 3, 7, 14 и 21 сутки после операции.

Нами выполнено 58 лапароскопических холецистэктомий (ЛХЭ) в комплексе с низкотемпературной обработкой ложа желчного пузыря (патент Украины №28882А от 16.10.2000). У всех больных имел место пе-

ривезикальный инфильтрат воспалительного генеза, что обуславливало технические трудности и повышенную кровоточивость тканей при мобилизации желчного пузыря.

Для криообработки ложа желчного пузыря применяли криоаппликатор собственной конструкции, который вводили в брюшную полость через троакар диаметром 10 мм. В качестве хладагента использовали закись азота. Температура на рабочей поверхности аппликатора составляла  $-89^{\circ}\text{C}$ , время достижения рабочей температуры не более 10 сек., конструкцией аппарата предусмотрен электроотгрев наконечника криоаппликатора в течение 10-20 сек. Криообработку печеночной паренхимы производили после отделения желчного пузыря от ложа в 5-7 точках с экспозицией 2-3 минуты до побеления тканей печени и кратковременного образования в них льда, что соответствовало снижению температуры тканей до  $-39\pm 1^{\circ}\text{C}$ . После оттаивания проводили контроль гемостаза.

Субтотальная холецистэктомия по разработанной нами технологии лапароскопического удаления желчного пузыря с сохранением подслизисто-мышечного слоя в фиксированной к печени стенке желчного пузыря (патент Украины №5893 от 15.03.2005) выполнена у 28 больных с острым гангренозным холециститом и у 14 больных со сморщенным желчным пузырем.

Методика выполнялась в тех случаях, когда задняя стенка желчного пузыря без значительного повреждения паренхимы печени из-за рубцовых изменений не могла быть отделена от ложа.

Сущность метода состоит в следующем. Если после выделения, клипирования и пересечения пузырного протока и артерии убеждались в невозможности отделения желчного пузыря от ложа без значительного повреждения паренхимы печени, то передняя и часть задней стенок желчного пузыря иссекались с помощью электрохирургического крючка или ножниц в режиме резания и коагуляции как можно ближе к интимно сращенной с тканью печени части задней стенки желчного пузыря. Иссеченная часть желчного пузыря вместе с его содержимым помещалась в контейнер. Далее производили мукоклазию оставшейся части желчного пузыря. Мукоклазия проводилась шаровидным электродом в режиме коагуляции (12 больных) и криоаппликатором (30 больных).

У 17 больных лапароскопические операции выполнены по поводу непаразитарных кист печени.

Лапароскопическая методика лечения кист печени заключалась в иссечении свободных оболочек с деэпителизацией остав-

шейся части кисты диатермокоагуляционной пуговкой (4 больных) и криоапликатором (13 больных). Операцию заканчивали дренированием оставшейся полости кисты.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Экспериментальные исследования показали, что использование при холецистэктомии монополярной электрокоагуляции с целью гемо- и желчестазы приводит к выраженным некротическим изменениям паренхимы печени в пределах 5-6 печеночных долек вглубь со значительным разрушением ее капсулы в области ложа желчного пузыря с образованием грубого соединительнотканного рубца к 21 суткам эксперимента. Криогенная обработка ложа желчного пузыря вызывает повреждение только поверхностных слоев печени (в пределах 3-4 печеночных долек) с разрушением ее капсулы, в значительной степени снижает деструктивное воздействие электрокоагуляции, способствует уменьшению сроков восстановления клеточной структуры печени, ускоренному завершению фазы регенерации и формированию нежного соединительнотканного рубца к 14 суткам эксперимента. При холецистэктомии с оставлением задней стенки желчного пузыря использование электродеструкции слизистой оболочки вызывает некротические и дистрофические изменения паренхимы печени в пределах 2-3 печеночных долек с разрушением капсулы печени и образованием грубого соединительнотканного рубца на оставшейся части желчного пузыря к 21 суткам эксперимента, тогда как криогенная деструкция слизистой оболочки вызывает минимальные дистрофические изменения паренхимы печени (в пределах 1-2 печеночных долек) с более коротким сроком их восстановления и приводит к формированию нежного соединительнотканного рубца к 14 суткам эксперимента.

Особенностью ЛХЭ при выраженном перивезикальном инфильтрате являлось затрудненное из-за воспалительного процесса и рубцово-инфильтративных изменений отделение желчного пузыря от его ложа, что диктует необходимость более интенсивно использовать электрокоагуляцию, которая нередко приводит к значительным повреждениям ткани печени. При длительном выделении желчного пузыря, а так же при непопадании в „слой” образуется значительная раневая поверхность, требующая дополнительного гемо- и желчестазы с использованием электрокоагуляции. При увеличении длительности электротермического воздействия на ткань печени соответственно увеличивается глубина и площадь коагуляционного

некроза.

Этим часто обуславливается выраженный болевой синдром в послеоперационном периоде, вследствие наличия обширной некротической поверхности, иногда - кровотечения и желчеистечение из печеночной паренхимы.

У всех больных, которым проводился гемостаз криогенной обработкой ложа желчного пузыря при помощи лапароскопического криоапликатора, отмечалось значительное снижение болевого синдрома в раннем послеоперационном периоде, не отмечалась гипертермия, не было случаев кровоточивости и желчеистечения по дренажу. Послеоперационных осложнений не было.

После электрокоагуляционной деструкции слизистой оболочки оставшийся участок части задней стенки желчного пузыря представлял собой сплошной участок коагуляционного некроза. Особенностью течения послеоперационного периода у больных, которым мукоклазия проводилась электрокоагуляционным методом, являлось повышение температуры вечером до 37,8-38,3°C и значительное раневое отделяемое по дренажу в течение 4-х первых послеоперационных дней.

В последующем для исключения неблагоприятных последствий высокотемпературного воздействия после экспериментального обоснования нами у 30 больных была применена криодеструкция слизистой оболочки оставшейся части желчного пузыря. К оставшейся части задней стенки желчного пузыря подводился криоапликатор собственной конструкции. Криовоздействие проводили в течение 5 минут, что соответствовало снижению температуры тканей до  $-56 \pm 1^\circ \text{C}$  и приводило к деструкции слизистой оболочки. При больших размерах оставшейся части задней стенки желчного пузыря криовоздействие повторяли.

У больных после криодеструкции слизистой оболочки оставшегося участка желчного пузыря течение послеоперационного периода значительно отличалось по сравнению с больными, которым была проведена электрокоагуляционная деструкция. Болевой синдром и гипертермия были менее выражены, практически отсутствовало отделяемое из дренажа. Послеоперационных осложнений не было.

Особенностью течения послеоперационного периода у 3 больных (у всех больных дезэпителизация кисты проводилась электрокоагуляционным методом) после операции явилось – умеренные боли в правом подреберье и повышение температуры вечером до 37,8-38,3°C в течение 4-х первых послеопе-

рациональных дней.

Мы связывали гипертермию в первые послеоперационные дни с электротермической деструкцией ткани печени, подобные явления мы встречали у некоторых больных после ЛХЭ при длительном электротермическом выделении «трудных» желчных пузырей.

В последующем для исключения неблагоприятных последствий высокотемпературного воздействия на ткань печени, нами у 13 больных была применена криогенная обработка оставшейся части кисты (патент Украины № 6589 от 16.05.2005).

В полость кисты устанавливали криоапликатор собственной конструкции. Криовоздействие проводили в течение 5-7 минут с быстрым последующим оттаиванием. При больших размерах полости кисты криовоздействие повторяли. Убедившись в отсутствии признаков кровотечения и желчеистечения, операцию завершали подведением к зоне вмешательства дренажной трубки. Ни у одного из больных, которым была проведена криогенная обработка полости кисты, в послеоперационном периоде мы не наблюдали осложнений.

Результаты лечения прослежены в сроки от 8 мес. до 2 лет под контролем УЗИ. Рецидивов и остаточных полостей не выявлено.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аммосов А.Б., Дмитриев В.В., Гужва А.В. // Эндоскопическая хирургия. - 2003. - №1. - С. 20-22.
2. Кригер А.Г., Горский В.А., Шуркалин Б.К. // Хирургия. - 2002. - №11. - С. 44-46.
3. Лапароскопические технологии и их интеграция в билиарную хирургию / А.В. Малоштан, В.В. Бойко, А.М. Тищенко, И.А. Криворучко. - Харьков: СИМ. - 2005. - 367 с.
4. Литвиненко А.А. // Клінічна хірургія. - 1994. - №10. - С. 51-54.
5. Парамонова Л.М. Криохирurgia печени в эксперименте // Достижения криомедицины. - Санкт-Петербург. - 2001. - С. 47-50.
6. Черкова Н.В. // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Медицина». - 2004. - №614. - Вип. 7. - С. 9-13.
7. Saliken J.C., McKinnor G., Gray R.R. et al. // Can. Assoc. Radiol. J. - 1999. - Vol.50. - №5. - P. 295-297.

## ЗАСТОСУВАННЯ НИЗЬКОТЕМПЕРАТУРНОГО ВПЛИВУ В ЛАПАРОСКОПІЧНІЙ ХІРУРГІЇ ГЕПАТОБІЛІАРНОЇ СИСТЕМИ

*С.О. Бичков, Р.М. Гриньов, Л.М. Душик*

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна*

### РЕЗЮМЕ

Авторами після проведених експериментальних досліджень представлений досвід виконання 101 лапароскопічної операції на органах гепатобіліарної системи із застосуванням низькотемпературного впливу. Для криовоздействия використовувався криоапликатор власної конструкції. Аналіз отриманих результатів дозволяє рекомендувати ширше використовувати низькі температури при лапароскопічних операціях.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** жовчнокам'яна хвороба, кіста печінки, лапароскопічна холецистектомія, криовплив

## ВЫВОДЫ

1. Метод лапароскопического дозированного криовоздействия на ложе желчного пузыря является надежным способом остановки желчеистечения и кровотечения, способствует стимуляции репаративных процессов при значительной электрокоагуляционной травматизации печеночной паренхимы при ЛХЭ.
2. Лапароскопическая субтотальная холецистэктомия с криодеструкцией слизистой оболочки оставшейся части задней стенки желчного пузыря расширяет возможности ЛХЭ при осложненных формах ЖКБ и выполняется когда из-за рубцовых изменений возникают технические трудности отделения задней стенки желчного пузыря от ложа.
3. Лапароскопическая фенестрация кисты печени с последующей криообработкой оставшейся ее части является эффективным методом лечения солитарных кист печени.

Перспективы развития исследований в данной области хирургии состоят в использовании современных технологий щадящего воздействия на ткани, совершенствовании инструментария, применяемого при лапароскопических операциях, что позволит улучшить результаты хирургического лечения больных.

## APPLICATION OF LOW TEMPERATURE EXPOSURE IN LAPAROSCOPIC SURGERY ON HEPATOBILEAR SYSTEM

S.O. Bychkov, R.M. Grynyov, L.N. Duchik

V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

### SUMMARY

After the carried out experimental researches authors submit experience of performance 101 laparoscopic operation on organs of hepatobiliary system with application of low temperatures influences. For cryoinfluences it was used the own designed cryoapplicator. The analysis of the received results allows to recommend more wide using of low temperatures at laparoscopic operations.

**KEY WORDS:** gallstone disease, cyst of liver, laparoscopic cholecystectomy, cryoinfluence

УДК: 616.98: 579.841.11.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ ЕНХАНСЕРІВ НА НАРОЩУВАННЯ БІОМАСИ МІКРООРГАНІЗМІВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ПЕРСПЕКТИВНИХ ДЛЯ БІОТЕХНОЛОГІЇ

Н.І. Городницька, А.В. Мартинов, Т.П. Осолодченко

Державна установа «Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова АМН України», м. Харків

### РЕЗЮМЕ

У роботі використовувались музейні та вакцинні штами *Pseudomonas aeruginosa*, енхансери А, В, і С класу ізохінолінів в концентрації 0,1%, 0,01%, 0,001%. Досліджувалась дія енхансерів як окремо, так і в їх комбінації на нарощування біомаси мікроорганізмів, перспективних для біотехнології. Виявлено, що як і при колонієутворенні, так і в нарощуванні біомаси активність проявляє енхансер А, який сприяє накопиченню біомаси в 1,5-2 рази у порівнянні з іншими активаторами росту. Використання комбінації трьох стимуляторів росту А, В, і С нарощує біомасу в 7-8 разів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** біотехнологія, *Pseudomonas aeruginosa*, енхансери, нарощування біомаси

Однією з основних проблем розвитку біотехнології на сьогодні залишається дороговизна кінцевого продукту. Основною причиною цього є вельми повільне нарощування маси мікроорганізмів – продуцентів біотехнологічного продукту та повільний синтез останнього. Для біотехнологічних ліків білкової природи частка основного продукту становить 0,5-0,7% від загальної кількості білку. Відповідно актуальним є розробка засобів збільшення швидкості приросту маси мікроорганізмів у реакторі та збільшення відсотку виходу кінцевого продукту. Збільшення навантаження живильного середовища додатковими метаболітними компонентами має фізіологічні обмеження: адже безперервна подача живильних речовин не здатна збільшити відсоток синтезованого біотехнологічного продукту [1, 2]. Одним з перспективних засобів підвищення як відсотку виходу біотехнологічних білкових продуктів, так і нарощування мікробної маси поза рамками фізіологічної норми є використання активаторів алостеричних ферментів класу фосфокіназ та індукторів синтезу циклічних мононуклеотидів [3].

Таким чином, перспективним завданням є дослідження здатності активаторів (енхансерів) прискорювати синтез біотехнологічних продуктів на прикладі отримання синьогнійного анатоксину та вакцини. Ця технологія дозволяє удосконалити мікробіологічну діагностику шляхом прискорення поділу клітин та появи перших колоній, здешевити вакцинне виробництво та виробництво біотехнологічних продуктів [4, 5].

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктами дослідження були штами мікроорганізмів, одержані із музею живих культур ІМІ ім. І.І. Мечникова АМН України та рекомендовані для перевірки якості поживних середовищ, а також штам синьогнійної палички для виробництва вакцин:

*Pseudomonas aeruginosa* АТСС 9027;

*Pseudomonas aeruginosa* АТСС 27853;

*Pseudomonas aeruginosa* 66-16.

Всі штами зберігались в напіврідкому середовищі. Життєздатність клітин підтримували методом пересівів на тверде поживне середовище. Культуральні та морфологічні властивості мікроорганізмів підтверджували