

На правах рукописи

Петренко Сергей Анатольевич

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ
ЛОКАЛЬНОГО КРИОВОЗДЕЙСТВИЯ
НА ПОДЖЕЛУДОЧНУЮ ЖЕЛЕЗУ ПРИ ПАНКРЕОНЕКРОЗЕ**

3.1.9. – Хирургия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Волгоград - 2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Маскин Сергей Сергеевич

Официальные оппоненты:

Рогаль Михаил Леонидович - доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе ГБУЗ города Москвы «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского Департамента здравоохранения города Москвы»

Власов Алексей Петрович - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой факультетской хирургии с курсами топографической анатомии и оперативной хирургии, урологии и детской хирургии ФГБОУ ВО "Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарёва" Минздрава России

Ведущая организация: ФГБУ «НМИЦ хирургии им. А.В. Вишневского» Минздрава России

Защита состоится «__» _____ 2022 года в ___ ч. на заседании Диссертационного совета 21.2.005.03 по присуждению ученой степени (доктора) кандидата медицинских наук при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России, по адресу: 400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в научно-фундаментальной библиотеке ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1), а также на сайте: [http:// www.volgmed.ru](http://www.volgmed.ru).

Автореферат разослан «__» _____ 2022 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета 21.2.005.03
д.м.н., профессор

Вейсгейм Людмила Дмитриевна

Актуальность темы исследования. Острый панкреатит (ОП) развивается вследствие ферментативного аутолиза панкреатоцитов, сопровождается развитием системной воспалительной реакцией и полиорганной недостаточности [Власов А.П. и др., 2021; 2022; Галлямов, Э. А. и др., 2020; Дибиров, М. Д. и др., 2015; Новиков С.В. и Рогаль М.Л., 2021; Ball C.G. et al., 2016; Schepers N.J. et al., 2019], с возможным поражением окружающих тканей, отдаленных органов и систем [Белик Б.М. и др., 2020; Галимова, Х. И. и др., 2020; Кубышкин В.А. и др., 2019; Пугаев А.В. и Ачкасов Е.Е., 2019; Стяжкина С.Н. и др., 2018; Сыщиков Д.С., 2020; Хубутя М.Ш., 2017; Bálint E.R. et al., 2020; Hines O.J., Pandol S. J., 2019; Leppäniemi A. et al., 2019; Manohar M. et al., 2017; Mikó A. et al., 2019; Stigliano S. Et al., 2017;]. В основе ОП всегда находится панкреонекроз (ПН) [Брискин Б.С. и др., 2005;2007]. Диагностика и лечение ОП являются наиболее актуальными проблемами современной хирургии [Бебуришвили А. Г. и др., 2017; Богданов С.Н. и др., 2020; Бурчуладзе Н.Ш. и др., 2009; Дарвин, В. В. и др., 2018; Кулезнёва, Ю. В. и др., 2015; Новиков С.В. и Рогаль М.Л., 2021; Стяжкина С.Н. и др., 2016; Сыщиков Д.С., 2020; Хубутя М.Ш., 2017; Moran R.A. et al., 2018; Shah A.P. et al., 2018]. По мнению А. М. Шулутко и А. И Данилова, 2002 «... вне зависимости от этиологического фактора ОП в его патогенезе, главным является активация ферментов поджелудочной железы (ПЖ), вызывающая воспалительные и некробиотические изменения, которые проявляются отеком, кровоизлиянием, тромбозом сосудов, омертвением и аутолизом тканей ПЖ». Внутриацинарная активация ферментов ПЖ, гиперстимуляция медиаторов воспаления и сосудистые реакции представляют собой взаимозависимые механизмы, определяющие тяжесть воспалительной реакции, не только местной (деструкция ПЖ, парапанкреатической клетчатки), но и системной, проявляющейся типичными расстройствами гомеостаза при ПН, вплоть до развития панкреатогенного шока [Маркелова Н. М., 2005]. ОП болеет от 32 до 389 человек на 1000000 населения с летальностью 6–12 человек на 1000000 населения [Дронов, А. И. и др., 2019; Кубышкин В.А. и др., 2019; Пугаев А.В. и Ачкасов Е.Е., 2019; Шалаева, Т. И., 2019; Baron T.H. et al., 2020; Greenberg J.A. et al., 2016; Leppäniemi A. et al., 2019; Majidi S. et al., 2017; Xiao A.Y. et al., 2016]. Регистрируется постоянный рост заболеваемости в нашей стране, с возрастанием доли деструктивных осложненных форм заболевания. Рост частоты встречаемости ОП, низкая эффективность фармако-терапии, высокий уровень послеоперационной летальности при деструктивных формах ОП, обуславливают важность разработки новых методов и схем лечения данной патологии [Андреев А.В. и др., 2015; Бебуришвили А. Г. и др., 2017; Белик Б. М. и др., 2020; Галлямов Э. А. и др., 2020; Затевахин И.И. и др., 2007; Русинов В.М. и др., 2016; Савельев В. С. и др., 2008; Цхай Б.В. и др., 2018; Bugiantella W. et al., 2016; James T. W. et al., 2018; Stigliano S. et al., 2017; Zhang Q. et al., 2020]. Неудовлетворительные результаты лечения ОП в литературе объясняются недостаточной эффективностью традиционных методов лекарственной терапии и оперативных вмешательств на ПЖ [Власов А.П. и др., 2020; 2022; Савельев В. С. И др., 2008; Bradley E. L. 3rd, Dexter N.

D., 2010]. Роль криогенных методов лечения при ОП требует проведения дальнейших исследований [Чжао А.В. и Ионкин Д.А., 2016], что определяет актуальность темы настоящей работы.

Цель исследования: оценить патоморфологические изменения поджелудочной железы, окружающих органов и тканей, клинические проявления в динамике после локального криовоздействия на поджелудочную железу у животных с экспериментальным панкреонекрозом для последующего использования метода в клинической практике.

Задачи исследования:

1. Определить влияние локального криовоздействия на нормальную и патологически измененную ткань ПЖ в эксперименте.
2. Определить морфологические изменения при локальном криовоздействии на нормальную и патологически измененную ткань ПЖ.
3. Определить термодинамические изменения при локальном криовоздействии на нормальную и патологически измененную ткань ПЖ.
4. Определить оптимальные температурно-временные режимы локального криовоздействия на ПЖ при экспериментальном панкреонекрозе.
5. Выявить изменения окружающих органов и тканей при локальном криовоздействии на ПЖ.
6. Оценить результаты применения локального криовоздействия на ПЖ при экспериментальном панкреонекрозе.

Научная новизна исследования.

1. На основании экспериментальных исследований получены новые данные о влиянии локального криовоздействия (ЛКВ) на ПЖ при экспериментальном панкреонекрозе.
2. Получены новые сравнительные данные по применению различных температурно-временных режимов ЛКВ на ПЖ при экспериментальном панкреонекрозе.
3. Определен оптимальный температурно-временной режим локального криовоздействия на ПЖ при экспериментальном панкреонекрозе.

Практическая значимость работы.

Использование ЛКВ при экспериментальном ПН способствует регенерации панкреатических ацинусов в зоне криовоздействия, не повреждает скопления гормон-продуцирующих (эндокринных) клеток, вызывает минимальную воспалительную реакцию окружающих органов и тканей и меньший спаечный процесс в сравнении с операциями без криогенного лечения. Всё это способно улучшить результаты лечения больных с ПН, снизить операционную травму, а автономные криоапликаторы позволяют с успехом использовать данную методику в лапароскопических и ретроперитонеоскопических вмешательствах.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Локальное криовоздействие на ПЖ в оптимальном температурно-временном режиме приводит к регенерации панкреатических ацинусов в зоне криоапликации, не повреждает скопления гормон-продуцирующих (эндокринных) клеток и в более ранние сроки купирует воспаление ПЖ.

2. Воздействие сверхнизких температур на ПЖ ведет к асептическому некрозу в зоне непосредственного воздействия хладагента с дальнейшим образованием соединительнотканного рубца к 10 суткам.
3. В месте криовоздействия на ПЖ образуются три зоны, отличающиеся между собой морфологически: 1 - зона крионекроза; 2 - зона охлаждения; 3 - зона гипотермии.
4. При экспериментальном панкреонекрозе оптимальным температурно-временным режимом ЛКВ, купирующим воспаление, вызывающим минимальный спаечный процесс, регенерацию панкреатических ацинусов в зоне криоаппликации, не повреждающим скопления гормон-продуцирующих (эндокринных) клеток и не способствующим возникновению зон крионекроза, является продолжительность в 3 - 4 секунды при температуре $-195,75^{\circ}\text{C}$.
5. При ЛКВ на ПЖ на фоне экспериментального ПН возникают расширение просвета двенадцатиперстной кишки, отек ее стенки, полнокровие печени и селезенки, спаечный процесс и выпот в брюшной полости. Меньшая степень выраженности спаечного процесса при применении криовоздействия свидетельствует об антиадгезивности методики при лечении ПН.
6. Летальность при экспериментальном ПН с криолечением достоверно меньше летальности от экспериментального ПН без криовоздействия при прочих равных условиях.

Внедрение результатов исследования в практику.

Результаты настоящего исследования внедрены в практику работы хирургического отделения ГУЗ «ГКБ СМП №25» г. Волгограда. Материалы диссертационной работы применяются в лечебной и педагогической работе на кафедре госпитальной хирургии ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Апробация работы.

Материалы исследования доложены на 17-м Всемирном конгрессе международного общества криохирургии совместно с 1-м Азиатско-Тихоокеанским форумом по диагностике, лечению и профилактике рака (Бали, Индонезия, 2013); на 1-й Всероссийской конференции с международным участием «Криохирургия и новые технологии в медицине» (Санкт-Петербург, 2015); на 19-м Конгрессе международного общества криохирургии (Каунас, Литва, 2017); на Международном конгрессе по криомедицине (Санкт-Петербург, 2018); на 20-м Всемирном Конгрессе международного общества криохирургии (Хайфа, Израиль, 2019); на научно-практической конференции «Неотложная медицинская помощь – 2020» (Суздаль). Апробация диссертации проведена на совместной конференции кафедры госпитальной хирургии, кафедры хирургических болезней №1 Института НМФО ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России с участием сотрудников ГУЗ «ГКБСМП №25», ГУЗ «ГКБ №5», ГУЗ «ГКБ №12» г. Волгограда (2021).

Публикации.

Материалы диссертационной работы отражены в 14 опубликованных работах, 3 из них в периодических научных изданиях, выпускаемых в Российской Федерации и рекомендованных ВАК РФ для публикации основных

результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук, 2 в индексируемых Scopus изданиях.

Объем и структура диссертации.

Диссертация изложена на 150 страницах машинописного текста. Составляет из введения, трех глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы. Работа иллюстрирована 12 таблицами и 30 рисунками, включающими диаграммы, макро и микрофотографии. Список литературы содержит 399 источников, из них 255 на русском языке и 144 на иностранных языках. Использована компьютерная верстка; программное обеспечение – Microsoft Office; SPSS Statistics (Version 17). Гарнитура – Times New Roman.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования.

Экспериментальные исследования выполнены на крысах линии Вистар («*Wistar albicans*») массой 180–220 грамм. Крысы не имели внешних признаков каких-либо заболеваний. В течение всего эксперимента животные находились в виварии ВолГМУ, полностью отвечающем санитарным требованиям № 1045 – 73 от 06.04.1973 [7, 8, 147]. Содержание, уход, режим, рацион кормления животных соответствовали требованиям, изложенным в «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ МинВУЗа №724 от 13.11.1984 г.) [7, 8, 147]. Экспериментальное исследование проводилось после одобрения Региональным Независимым Этическим Комитетом при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (протокола № 192–2014 от 11 марта 2014 г.).

Полностью соблюдались принципы проведения экспериментальных исследований, основанные на действующих документах.

Использовали методологические принципы, разработанные на нашей кафедре Александровым В.В., 2013. После срединной лапаротомии мобилизовывали ПЖ, создавали модель ПН методом инъекции желчи в объеме 0,1 мл. в ткань ПЖ у 45 животных. На 2 сутки выполнялась релапаротомия. Кривоаппликация к участку моделированного ПН проводилась 28 животным (из 30 в основной группе, 2 крысы умерли до релапаротомии), предварительно охлажденным в жидком азоте автономным кривоаппликатором, к участку некроза ПЖ. Время криоэкспозиции и оттаивания регистрировали секундомером. В контрольной группе, состоящей из 30 животных, ЛКВ не проводилось. 15 животным из третьей экспериментальной группы выполнялось ЛКВ на неизмененную ткань ПЖ с целью доказательства безопасности методики.

Выполнялась санация брюшной полости, оценивался гемостаз в течение 15 минут, производился осмотр на инородные тела, после чего рана послойно ушивалась. Ход всех оперативных вмешательств фиксировался цифровым фотоаппаратом *Sony CyberShot H300*.

Во всех группах проводилась оценка динамики морфологических изменений на 3, 5, 10 сутки после ЛКВ. Выведение животных из эксперимента осуществлялось передозировкой тиопентала – натрия (дозировка для нарко-

за×3), выполнялась релапаротомия путем снятия швов с операционной раны, оценивалось наличие или отсутствие перитонита, гемоперитонеума, спаечного процесса в брюшной полости, брались биоптаты ПЖ с обязательным включением зоны некроза и окружающих органов и тканей».

В ходе экспериментальных исследований исследовали влияние низких температур на нормальную и патологически измененную ткань ПЖ, определяли оптимальный температурно–временной режим ЛКВ при экспериментальном ПН, изучали термодинамические изменения при ЛКВ, морфологические изменения в ПЖ и окружающих органах при ЛКВ на ПЖ. Исследовали различные параметры: температурно – временной режим ЛКВ, время замораживания и оттаивания ткани, размер замороженного участка, количество криоэкспозиций; прослежены макроскопические и микроскопические изменения участков криоаппликаций ПЖ в динамике.

В сериях экспериментов оценивали течение раннего послеоперационного периода по уровню сознания животного, двигательной активности, аппетиту, наличию кровотечения из послеоперационной раны и определяли эффективность ЛКВ, также после выведения животного из эксперимента оценивали состояние и изменения в брюшной полости:

1. поджелудочную железу (цвет паренхимы, размер, плотность, наличие некроза и нагноения в области криоаппликации);
2. парапанкреатические органы и ткани;
3. признаки интраабдоминального кровотечения;
4. признаки перитонита, количество, характер и преимущественную локализацию экссудата;
5. наличие, выраженность, преимущественную локализацию спаечного процесса, реакцию брюшины и прилегающих органов (тонкий, толстый кишечник, большой сальник, желудок). Оценка выраженности спаечного процесса брюшной полости проводилась по методике Левчика Е.Ю. (1996), Блинникова О.И. и др. (1993).
6. выраженность рубцовых изменений на поверхности ПЖ;
7. наличие или отсутствие патологических образований в брюшной полости, в исследуемом органе (кисты, абсцессы, гематомы).

Экспериментальные и морфологические исследования проводили на базе кафедр гистологии, эмбриологии, цитологии (заведующий кафедрой Загребин Валерий Леонидович, к.м.н., доцент); патофизиологии, клинической патофизиологии (заведующий кафедрой Рогова Людмила Николаевна, д.м.н., профессор) и патологической анатомии (заведующий кафедрой Смирнов Алексей Владимирович, д.м.н., профессор) ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России».

Исследовали морфологические изменения (состояние, форма и размеры ядра, цитоплазмы, клеточная инфильтрация), выраженность воспалительных, некротических, регенераторных и склеротических процессов. Микроскопию осуществляли в проходящем свете с помощью бинокулярного микроскопа *BRESSER Biorit TP 40–400x*. На каждый препарат составлялся протокол, где были представлены визуальная характеристика зоны крионекроза, охлаждения и гипотермии, количественные параметры клеточного состава по срокам наблюдения. Выполняли микрофотографии по каждой серии опыта и сроку.

В гистологических срезах при помощи окулярной измерительной сетки

по Г. Г. Автандилову для цитогистостереометрических исследований оценивали объемную долю лимфоцитов при увеличении микроскопа – 200.

Статистический анализ полученных результатов осуществляли с помощью пакета прикладных программ SPSS Statistics (Version 17) («SPSS Inc», США). Проверка на соответствие выборок нормальному закону распределения проводилась критерием Шапиро–Вилка. При нормальном распределении попарное сравнение зависимых и независимых выборок осуществлялось с использованием t–критерия Стьюдента после предварительного дисперсионного анализа на однородность групп. При несоответствии выборок нормальному закону распределения для попарного их сравнения применялись непараметрические критерии. Для изучения корреляции использовали χ^2 – критерий Пирсона. Достоверными считались результаты при вероятности безошибочного прогноза $p < 0,05$ или степени вероятности безошибочного прогноза $P > 95\%$.

При проведении исследования был использован криоаппликатор, разработанный совместно НИИ медицинских материалов и имплантатов с памятью формы при Сибирском физико–техническом институте им. В.Д. Кузнецова, Томским государственным университетом и Тюменским государственным медицинским институтом. Он удобен при операциях на печени, селезенке и поджелудочной железе в условиях эксперимента, представляет собой цилиндрический рабочий наконечник в виде стержня из пористого проницаемого никелида титана с коэффициентом пор 30–70% и их средним размером 0,01–0,25 мм, имеет сглаженную торцевую контактную поверхность с коэффициентом шероховатости не менее 2,5. В одном из торцов стержня закреплен держатель из эбонита. Строение рабочего наконечника придает ему функции резервуара хладагента. Сплав из никеля и титана обладает большой теплоемкостью и малой теплоотдачей. Подача азота осуществлялась по открытому типу погружением криоаппликатора до ручки в сосуд Дьюара для охлаждения наконечника (пассивный криозонд) до температуры $-195,75^\circ\text{C}$. Жидкий азот, заполняя поры в стержне криоаппликатора, вытесняет воздух, что создает эффект клубящегося пара. По прекращению выделения пара из сосуда Дьюара (через 10–12 сек) понимали о готовности криоаппликатора к использованию. Наполненный жидким азотом инструмент сохраняет температуру, близкую к кипению жидкого азота, в течение 1,5–2 минут.

Для отработки метода лечения экспериментального ПН с использованием сверхнизких температур выполнены операции на 75 экспериментальных животных. Модель ПН воспроизводили стандартизованно, как описано в наших работах Александровым В.В., 2013. Производили срединную лапаротомию, в операционную рану выводили ткань ПЖ, вводили в паренхиму ПЖ 0,1 мл желчи. На 2 сутки выполнялась релапаротомия. У 30 животных к участку сформировавшегося некроза ПЖ прикладывали наконечник криоаппликатора после охлаждения его в жидком азоте, под прямым углом к плоскости паренхимы ПЖ для равномерного охлаждения всей раны и на всю глубину, с различной экспозицией. После прекращения криоэкспозиции аппликатор убирали, зона промораживания медленно оттаивала в результате кон-

такта с внешней средой без ускорения процесса оттаивания. Осушали брюшную полость, проверяли окончательность гемостаза (контроль в течении 15 минут) и наличие инородных тел и ушивали брюшную стенку наглухо узловыми швами. Время операций 20–25 минут. С начала 2х суток оперированные животные получали воду, с 3х суток переводили на обычный рацион.

РЕЗУЛЬТАТЫ МАКРОСКОПИЧЕСКИХ И МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ГРУППАХ ЖИВОТНЫХ

В зависимости от количества криоаппликаций и времени криовоздействия все экспериментальные животные и были изначально разделены на 3 подгруппы, в каждой из которых выполнялось моделирование ПН. На 2 сутки им выполнялась релапаротомия, и проводилось ЛКВ на ПЖ.

В таблице 1 представлено изначально запланированное распределение животных по подгруппам в зависимости от количества криоаппликаций.

Таблица 1

Изначально планируемое распределение экспериментальных животных основной группы по подгруппам

Экспериментальные подгруппы животных основной группы			
№ подгруппы	1	2	3
Количество аппликаций / суммарное время аппликации	1 аппликация / 1– 2 секунды	2 аппликации / 3–4 секунды	3 аппликации / 5–6 секунд
Количество животных (n = 30)	10 крыс	10 крыс	10 крыс

В первую подгруппу входили животные, которым выполнялась 1 аппликация путем прикладывания наконечника криоаппликатора к ПЖ, предварительно охладив его в жидком азоте до нужной температуры. Во 2 и 3 подгруппы входили животные с числом криоаппликаций 2 и 3 соответственно. Были и такие животные, у которых во время криоаппликации происходило примерзание наконечника и, следовательно, время аппликации возрастало. Эти крысы вошли в четвертую подгруппу экспериментальных животных. Две крысы погибли после первой операции. Они вошли в 5 подгруппу (табл. 2).

Таблица 2

Итоговое распределение экспериментальных животных основной группы после локального криовоздействия

Экспериментальные животные	
Подгруппы	Количество
1 подгруппа	8
2 подгруппа	9
3 подгруппа	7
4 подгруппа	4
5 подгруппа	2
Всего	30

Продолжительность одной криоаппликации составляла 1 – 2 секунды.

Контроль за увеличением зоны промораживания осуществляли визуально (она проявлялась образованием ледяной корки). После ЛКВ на паренхиме ПЖ образовывалось ледяное пятно кратерообразной формы, которое соответствовало размерам наконечника аппликатора. Затем в течение 15–30 секунд происходило оттаивание замороженного участка. Период оттаивания

считался завершенным, когда с поверхности органа исчезала ледяная корка.

На релапаротомии через 3 суток очаг криоаппликации был вишневого цвета. Отек и напряжение паренхимы органа исчезали, граница зоны ЛКВ четко дифференцировалась. На 5 сутки участок ЛКВ становился более плотным, границы становились размытыми. На 10 сутки в месте ЛКВ появлялся нежный рубец бледно-серого цвета [147]. На релапаротомиях учитывалось наличие выпота в брюшной полости, крови, оценивалась выраженность спаечного процесса в брюшной полости. Результаты представлены в таблице 3.

На 2 сутки у всех 45 животных с экспериментальным ПН (30 основной группы и 15 контрольной) отмечалось наличие серозно-геморрагического выпота в брюшной полости, парез кишечника, париетальная и висцеральная брюшина тусклая с множественными мелкими очагами стеатонекроза. Отмечался умеренный спаечный процесс между ПЖ и сальником.

Таблица 3

Послеоперационные осложнения в группе экспериментальных животных после моделирования экспериментального панкреонекроза

Осложнения	Количество экспериментальных животных
Внутрибрюшное кровотечение	0
Перитонит	20
Наличие спаек (кол-во животных и выраженность спаечного процесса)	8 (1-я подгр) + 20 ++
Абсцессы	5 (1-я подгр)
Гематомы	6 (1-я подгр)
Несостоятельность швов послеоперационной раны	0
Наличие бляшек стеатонекроза	30

При патоморфологическом исследовании препаратов ПЖ у подопытных животных 1-й подгруппы через 3 суток после ЛКВ было отмечено наличие крупных очагов асептического некроптоза в паренхиме органа (рис. 1).

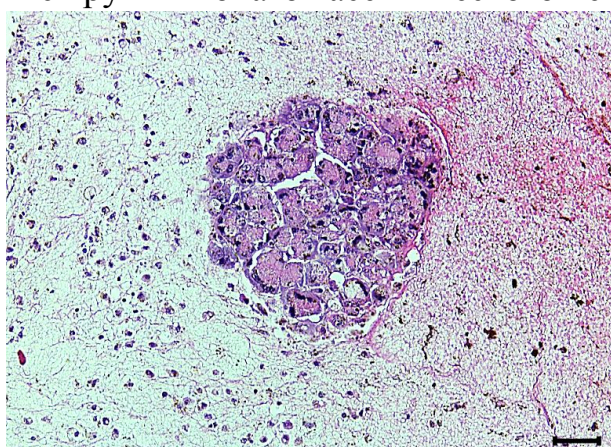


Рис. 1

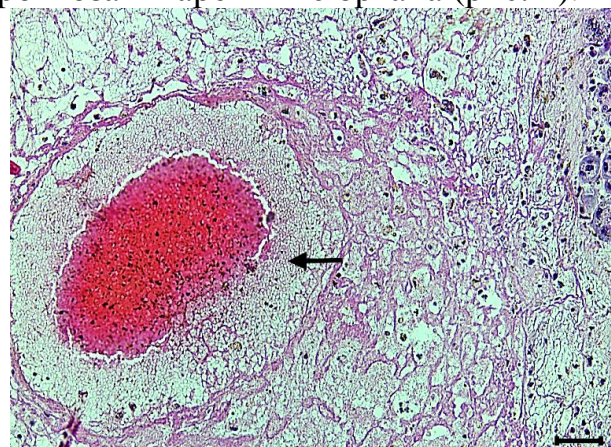


Рис. 2

Рис. 1. ПЖ подопытной крысы 1-й подгруппы через 3 суток после ЛКВ. Панлобулярный некроптоз. В центре островок паренхиматозных клеток, находящихся на различных стадиях клеточной гибели. Окраска гематоксилин-флоксином. Scalebar 50 мкм.

Рис. 2. ПЖ крысы 1-й подгруппы через 3 суток после ЛКВ. Некроптоз стенки сосуда (показано стрелкой) в окружении деструктивно-измененных элементов железы. Окраска гематоксилин-флоксином. Scalebar 50 мкм.

Степень деструкции ткани была значительной и составляла не менее 50% от площади гистологического среза ПЖ. В толще детрита располагались отдельные островки паренхиматозных клеток экзокринной части органа, на различных этапах некроптоза. Выраженные изменения регистрировали и в сосудах ПЖ в виде деструкции клеточных элементов стенки (рис. 2).

В зонах некроптоза формировались диффузно–очаговые геморрагии (рис. 3). Также отмечали геморрагическое пропитывание некротизированной ткани и массивный гемолиз эритроцитов. В паренхиме органа вне зон деструкции отмечали изменения: разобщение ацинарных клеток, отек стромы. Островки Лангерганса в сохранившейся паренхиме органа, были средней величины с морфологическими признаками некротической гибели (рис. 4).

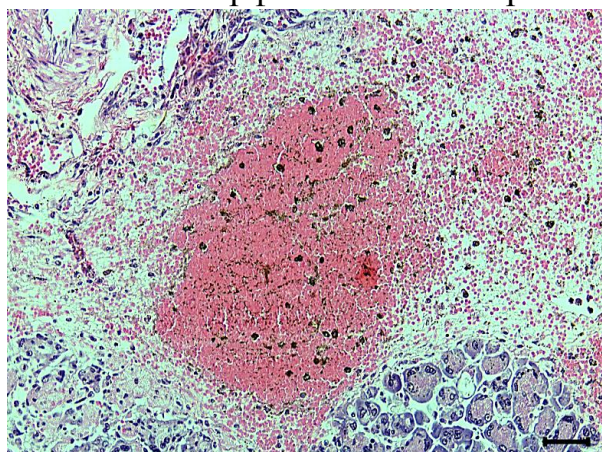


Рис. 3

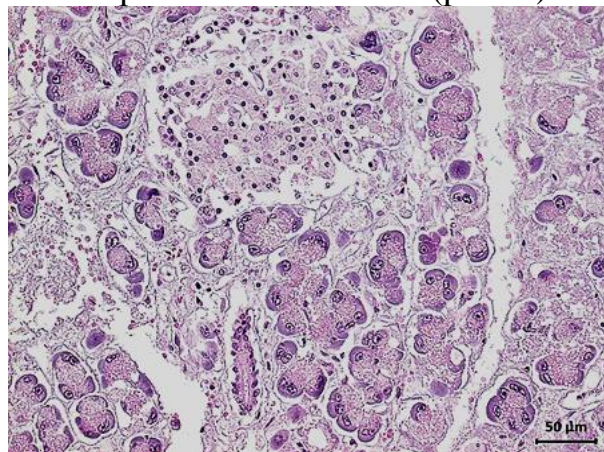


Рис. 4

Рис. 3. ПЖ крысы 1–й подгруппы через 3 суток после ЛКВ. Деструктивные кровоизлияния в паренхиме ПЖ на фоне выраженного отёка её стромы. Окраска гематоксилин–флоксином. Scalebar 100 мкм.

Рис. 4. ПЖ подопытной крысы 1–й подгруппы через 5 суток после ЛКВ. Островок Лангерганса с явлениями некроза. Окраска гематоксилин–флоксином. Scalebar 50 мкм.

В ткани печени крыс через 3 суток после ЛКВ вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов с сохранением гистоархитектоники печеночных долек. Умеренно и слабо выраженный лобулярного некроза, что соответствует степени активности А1 по шкале METAVIR. Фиксированные макрофаги (купферовские клетки) содержали большое количество гемосидерина). Патоморфологическое изучение селезенки животных показало, что ПН не оказывал влияние на морфофункциональные характеристики органа: количество и размеры фолликулов белой пульпы соответствовали норме, красная пульпа умеренно полнокровна. Однако в паренхиме селезенки обнаруживали единичные клетки, которые по морфологическим признакам были в состоянии некроптоза. А также значительное количество макрофагов, нагруженных гемосидерином, количество которых постепенно снижалось к концу эксперимента.

Группа экспериментальных животных из 1 подгруппы после ЛКВ на ПЖ в течение 1-2 секунд погибала на 3–5 сутки после релапаротомии. При патоморфологическом исследовании ПЖ животных в динамике отмечено, что на 3-5 сутки, помимо описанных признаков поражения органа, отмечали признаки диффузного слабо-умеренного продуктивного воспаления (рис. 5).

Животные 2 и 3 подгрупп на 2–3 сутки после криоапликации передвигались по клетке, самостоятельно принимали пищу и воду. Послеоперационная рана без воспаления. Во время секции животных из 2 и 3 подгрупп на 3 сутки после ЛКВ макроскопически выпота в брюшной полости или не было, либо было незначительное количество серозного характера. В месте ЛКВ сохранялся небольшой отек ткани ПЖ. К месту криовоздействия подпаяны сальник и петли тонкой кишки. Патоморфологическое исследование ПЖ через 3 суток после ЛКВ выявило изменения строения паренхимы. В экзокринной части ПЖ незначительная вакуолизация клеток ацинусов (рис. 6).

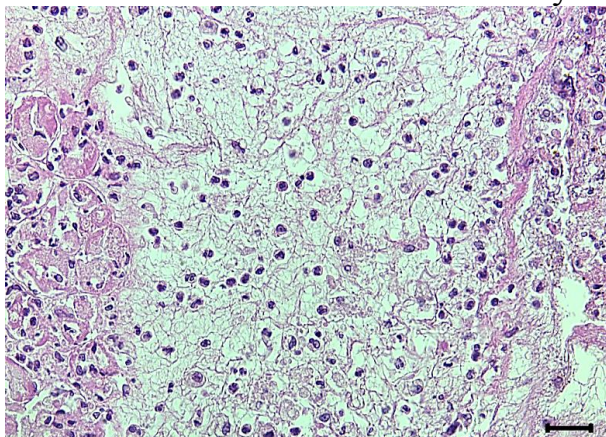


Рис. 5

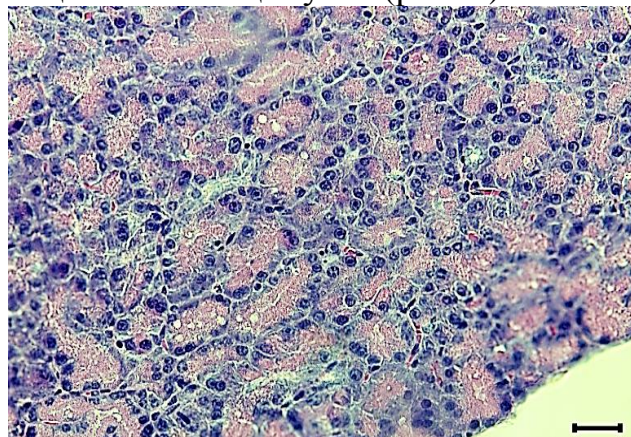


Рис. 6

Рис. 5. ПЖ подопытной крысы 1-й подгруппы через 5 суток после ЛКВ на ПЖ в течение 1–2 секунд. Диффузная лейкоцитарная инфильтрация очагов некроза. Окраска гематоксилин–флоксином. Scalebar 100 мкм

Рис. 6. ПЖ крысы 3-й подгруппы через 3 суток после ЛКВ. Вакуолизация клеток ацинуса. Окраска гематоксилин–флоксином. Scalebar 20 мкм.

На 5 сутки в зоне охлаждения микроскопически определялось образование рыхлой соединительной ткани. (рис. 7).

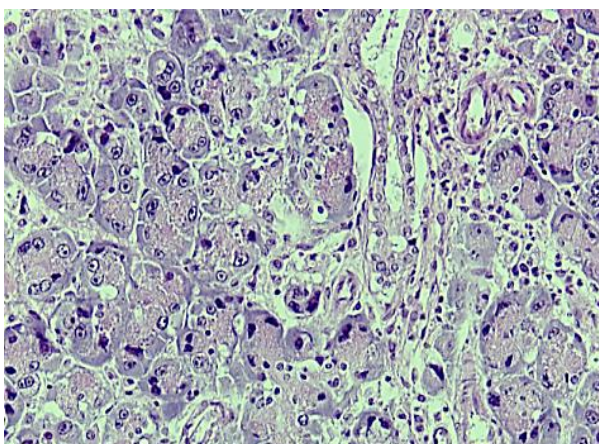


Рис. 7. ПЖ подопытной крысы 2-й подгруппы через 5 суток после ЛКВ. Образование соединительной ткани в месте ЛКВ. Окраска гематоксилин–флоксином. Scalebar 100 мкм

На границе ЛКВ ПЖ присутствовали лимфоциты, макрофаги, а выраженность инфильтрации лейкоцитами после ЛКВ на границе повреждения была меньше. В просвете сосудов форменные элементы крови. Отмечаются коллагеновые волокна, что свидетельствует об образовании рыхлой соединительной

тельной ткани в зоне криовоздействия.

К 10 суткам макроскопически границы ЛКВ становятся размытыми. Микроскопически воспалительная инфильтрация сохранялась и была достаточно выражена. Ее состав был представлен лимфоцитами, фибробластами, гистиоцитами. В междольковой строме сохранялось геморрагическое пропитывание некротических участков. Формировался первичный соединительнотканый рубец, который состоял из более грубых коллагеновых волокон. Также на границе отмечалась регенерация экзокринной части ПЖ. Цитоплазма в клетках была больших объемов, ядра в клетках были смещены к периферии.

Таким образом, ЛКВ на ПЖ при экспериментальном ПН было выполнено у 28 крыс (93,3%), изначально разделенных на три подгруппы. Каждая подгруппа отличалась временем экспозиции. В 1 подгруппу вошло 8 крыс (26,6%), во 2 - 9 крыс (30,1%), в 3 - 7 крыс (23,3%). В 4 подгруппу вошли 4 крысы (13,3%), у которых время ЛКВ было превышено ввиду прилипания наконечника криоаппликатора. Погибло в основной группе 2 животных (6,7%) после первой операции (5 подгруппа, без криовоздействия) и 8 животных из 1 подгруппы на 3–5 сутки после ЛКВ (5 и 3 животных соответственно). Летальный исход всех животных 1 подгруппы был связан с прогрессированием ПН и недостаточным лечебным действием однократного ЛКВ 1-2 сек.

Данный метод лечения ПН при помощи сверхнизких температур в соответствующем температурно–временном режиме способствует регенерации панкреатических ацинусов в зоне ЛКВ и не повреждает скопления гормонпродуцирующих (эндокринных) клеток. В результате ЛКВ на ПЖ активируются ее регенераторные способности, при этом перифокальная реакция со стороны окружающих органов и тканей минимальна.

Результаты макроскопического и микроскопического исследования в контрольной группе экспериментальных животных

В контрольной группе животные были разделены на 2 подгруппы.

В 1 подгруппу входили крысы, которым экспериментальный ПН не выполнялся, а выполнялась только лапаротомия и мобилизация ПЖ. Затем ПЖ погружалась в брюшную полость, и послеоперационная рана ушивалась наглухо. Во 2 подгруппу вошли животные, с моделью экспериментального ПН как в основной группе, путем введения в ткань ПЖ гетерогенной желчи в объеме 0,1 мл. В контрольной группе из 30 животных, ЛКВ не проводилось.

В ходе экспериментального исследования выявлено, что в 1 подгруппе животных, у которых не моделировали ПН, выжили все 15 крыс (100%).

Эти животные легко перенесли операцию. На 2–3 сутки передвигались по клетке, самостоятельно принимали пищу и воду. Послеоперационная рана была без воспаления. При релапаротомии на 3, 5, 10 сутки оценивали наличие внутрибрюшного кровотечения, перитонита, выраженность спаечного процесса. Ни у одного из животных не наблюдался гемоперитонеум (табл. 4).

Послеоперационные осложнения в контрольной группе
экспериментальных животных

Осложнение	Количество экспериментальных животных
Внутрибрюшное кровотечение	0
Перитонит	8 (2 подгр)
Наличие спаек (количество животных, подгруппа, степень выраженности)	15 (1-я подгр) ++ 15 (2-я подгр) +++
Абсцессы	11 (2-я подгр)
Гематомы	2 (2-я подгр)
Несостоятельность швов послеоперационной раны	0
Наличие бляшек стеатонекроза	15 (2 подгр)

У 8 (53,3%) животных было незначительное количество серозного выпота в объеме не более 0,1 мл. У всех животных был спаечный процесс между париетальной брюшиной с тонкой кишкой и сальником. Животных из этой подгруппы не выводились из эксперимента из гуманных соображений. Во 2 подгруппе животных, у которых моделировался ПН, наблюдалась иная картина. Все животные погибли на 2–5–е сутки.

Макроскопически на секции при исследовании погибших животных 2 подгруппы обнаруживали ферментативный перитонит с геморрагическим выпотом, вздутие кишечника, тусклость брюшины, выраженный отек ПЖ с признаками геморрагического ПН. В брюшной полости был выраженный спаечный процесс, в который входили ПЖ, тонкий кишечник, желудок, сальник, у 11 животных интраабдоминальные абсцессы.

При патоморфологическом исследовании препаратов ПЖ у животных 2 подгруппы через 3 суток отмечено наличие крупных очагов асептического некроптоза в паренхиме органа. Степень деструкции ткани значительная, не менее 50% от площади гистологического среза ПЖ. В толще детрита располагались отдельные островки паренхиматозных клеток экзокринной части органа, находящиеся на различных этапах некроптоза (рис. 8).

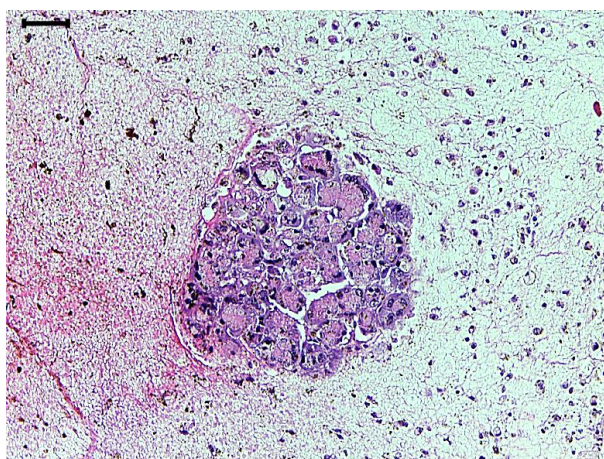


Рис. 8. ПЖ подопытной крысы 2-й подгруппы через 3 суток после моделирования ПН. Панлобулярный некроптоз. В центре островок паренхиматозных клеток, находящихся на различных стадиях клеточной гибели. Окраска гематоксилин–флюксинном. Scalebar 50 мкм.

Анализ полученных данных показал, что экспериментальный панкреонекроз сопровождается во всех случаях развитием осложнений, и при отсутствии своевременного адекватного лечения приводит к 100% летальности.

Результаты макроскопического и микроскопического исследования в группе экспериментальных животных после локального криовоздействия на неизмененную поджелудочную железу

Животным 3 экспериментальной группы было выполнено ЛКВ на интактную ПЖ. Животные разделены на 4 подгруппы, как и в основной группе. Время экспозиции: 1-2, 3-4, 5-6 и 60 секунд соответственно.

Животные этой группы на 2–3 сутки после ЛКВ передвигались по клетке, самостоятельно принимали пищу и воду. Послеоперационная рана без воспаления. Швы состоятельны. Во время секции животных из 2 и 3 подгруппы на 3 сутки после ЛКВ выпота в брюшной полости не было, либо было незначительное количество серозного характера у 5 животных (табл. 5).

Таблица 5

Послеоперационные осложнения в контрольной группе экспериментальных животных после криовоздействия на интактную поджелудочную железу

Осложнения	Количество экспериментальных животных
Внутрибрюшное кровотечение	0
Перитонит	5
Наличие спаек	15 ++
Абсцессы	0
Гематомы	0
Несостоятельность швов послеоперационной раны	0
Наличие бляшек стеатонекроза	2 (4-я подгр)

В месте ЛКВ сохранялся небольшой отек ткани ПЖ. К месту ЛКВ подпаяны сальник и петли тонкой кишки. Погибли 2 животных из 4 подгруппы. Микроскопически в месте ЛКВ на ПЖ в течение 1 минуты можно выделить три зоны: 1–зона крионекроза; 2–зона охлаждения; 3–зона гипотермии. В зоне крионекроза изменения ткани ПЖ железы были выражены более ярко (рис. 9). Ацинусы в этой зоне находились в коагуляционном некрозе. Имелись такие ацинусы, где структура была нарушена полностью. Островки Лангерганса не определялись. В соединительной ткани расширение капилляров, а просвет сосудов часто заполнен форменными элементами.

Зона некроза была выражена в большей степени у 4 подгруппы экспериментальных животных (где погибли 2 животных из 3), чем у 3 подгруппы. У животных из 1 и 2 подгруппы зоны некроза не отмечалось. В зоне охлаждения картина складывалась немного иначе. Островки Лангерганса по-прежнему в состоянии некроза, но в этой зоне определялась структура аци-

нусов. Деструкция ткани и полнокровие стромы были выражены в меньшей степени. В зоне гипотермии полнокровие капилляров выражено в меньшей степени. Полностью сохранена структура и функция ацинусов. Секреторные клетки имели четко выраженные ядра. Островки Лангерганса не повреждены.

На 5–е сутки в месте ЛКВ происходило образование рыхлой соединительной ткани. На границе воздействия присутствовали лимфоциты, макрофаги, а выраженность инфильтрации лейкоцитами после ЛКВ на границе повреждения была меньше. В просвете сосудов форменные элементы крови. Отмечаются коллагеновые волокна, что свидетельствует об образовании рыхлой соединительной ткани в зоне криовоздействия (рис. 10).

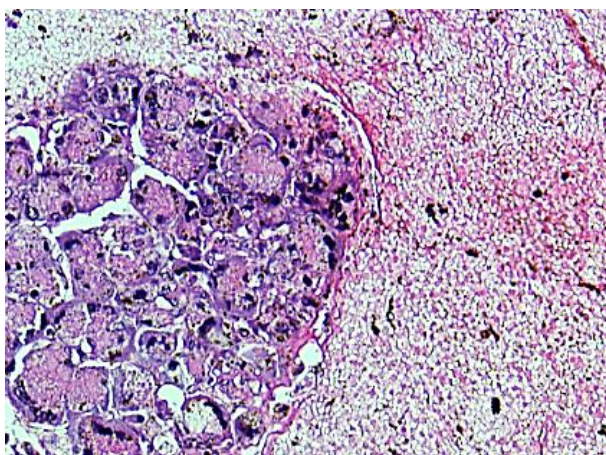


Рис. 9

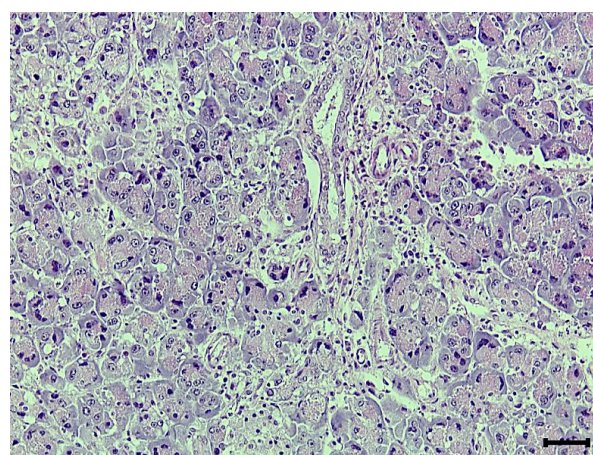


Рис. 10

Рис. 9. ПЖ подопытной крысы 4–й подгруппы через 3 суток после ЛКВ. Отчетливо определяется зона крионекроза. Окраска гематоксилин–флоксином. Scalebar 50 мкм.

Рис. 10. ПЖ подопытной крысы 2–й подгруппы через 5 суток после ЛКВ. Появление соединительной ткани в зоне ЛКВ. Окраска гематоксилин–флоксином. Scalebar 100 мкм

К 10 суткам макроскопически границы ЛКВ становятся размытыми. Микроскопически воспалительная инфильтрация сохранялась и была достаточно выражена. Ее состав был представлен лимфоцитами, фибробластами, гистиоцитами. В междольковой строме сохранялось геморрагическое пропитывание некротических участков. Формировался первичный соединительнотканый рубец, который состоял уже из более грубых коллагеновых волокон. Так же на границе отмечалась регенерация экзокринной части ПЖ. Цитоплазма в клетках больших объемов, ядра в клетках смещены к периферии. Печень, селезенка при гистологическом исследовании обычного строения.

Таким образом, ЛКВ на ПЖ сверхнизких температур в соответствующем температурно–временном режиме вызывает обратимые изменения со стороны панкреатических ацинусов, не изменяет структуру и кровеносные сосуды, не затрагивает скопления гормон–продуцирующих (эндокринных) клеток. ЛКВ, как показано, влияет на патогенетическое звено ПН, что может положительно отразиться на результатах лечения заболевания. В 1 и 2 подгруппах животных определен оптимальный температурно–временной режим, который позволил избежать некроза ткани ПЖ, что отвечает поставленной задаче.

**Сравнительная характеристика результатов исследования
в группах экспериментальных животных.
Статистическая обработка полученных данных.**

Структура летальности животных в различных группах в таблице 6.

Общая летальность в основной группе - 33,33% (10/30; 95% ДИ 0,17–0,52), а после ЛКВ при ПН - 28,57% (8/28; 95% ДИ 0,13–0,48). Летальность животных после ЛКВ наблюдалась после кроапликации в 1–2 секунды, что может быть обусловлено неадекватной продолжительностью манипуляции и недостаточным лечебным эффектом методики.

Общая летальность в контрольной группе - 50% (15/30; 95% ДИ 0,31–0,68), а после моделирования ПН без ЛКВ - 100% (15/15; 95% ДИ 0,78–1,0).

Таблица 6

Структура летальности в группах животных

	Основная группа (n=30)	Контрольная группа (n=30)		Третья экспериментальная группа (n=15)
		Без ПН (n=15)	ПН (n=15)	
До/без криовоздействия	2	0	15	–
После криовоздействия 1–2 сек	8 из 8	–	–	0 из 4
После криовоздействия 3–4 сек	0 из 9	–	–	0 из 4
После криовоздействия 5–6 сек	0 из 7	–	–	0 из 4
После криовоздействия 60 сек	0 из 4	–	–	2 из 3
Итого	10 (33,3%)	15		2

Относительный риск летального исхода в основной группе по отношению к контрольной составляет $OR=0,571$ (95% ДИ 0,256–1,198), то есть достоверной разницы по летальности между группами нет.

Но необходимо учитывать, что в контрольной группе были две подгруппы, и в первой ПН не моделировался, поэтому сравнение основной группы со всей контрольной было бы не совсем правильным.

Если рассчитать относительный риск летального исхода в основной группе по отношению ко второй подгруппе контрольной группы, то получаем $OR=0,286$ (95% ДИ 0,286–0,503), и здесь получаем статистически значимую разницу. То есть, летальность животных с ЛКВ при ПН достоверно ниже летальности животных с ПН без ЛКВ почти в 3,5 раза.

Общая летальность в 3 экспериментальной группе - 13,33% (2/15). Смерть двух животных из 4 подгруппы была обусловлена образованием обширной зоны крионекроза ПЖ вследствие длительного (60 секунд) воздействия сверхнизкой температуры.

Как показали полученные гистологические данные, воспалительные изменения отмечены во всех сериях эксперимента, причиной которых является повреждение паренхимы ПЖ в процессе моделирования ПН, мобилизации органа или избыточного ЛКВ, и его выраженность зависит от проведения или непроведения и длительности кроапликации, сроков выведения животных из эксперимента, распространенности перитонита.

Учитывая то, что экспериментальная модель была стандартизована, можно предположить, что выраженность наблюдаемых воспалительных явлений зависит исключительно от биологической инертности криоаппликаций.

При сравнении средней объемной доли лимфоцитов в непосредственном месте ЛКВ и зоне ПН без ЛКВ доказана меньшая степень лимфоцитарной инфильтрации в основной группе по сравнению с контрольной ($p < 0,05$) (табл. 7).

Таблица 7

Объемная доля (ОД) лимфоцитов в месте воздействия на ПЖ в группах исследуемых животных на различных сроках эксперимента (в %; $M \pm m$)

Группы животных и сроки взятия препаратов	⁴ Панкреонекроз (n=45/43)				⁵ Без панкреонекроза (n=30)				p (с надстрочным указанием сравниваемых групп)
	3 сут-ки	5 сут-ки	10 сутки	p	3 сут-ки	5 сут-ки	10 сутки	p	
¹ Основная группа (n=30/28)	2,5±0,2	2,0±0,1	1,5±0,2	$p^{3/5 \text{ сут}} < 0,05$ $p^{5/10 \text{ сут}} < 0,05$	–	–	–	–	–
² Контрольная группа (n=30; 15+15)	3,2±0,1	2,9±0,2	2,7±0,3	$p^{3/5 \text{ сут}} > 0,05$ $p^{5/10 \text{ сут}} > 0,05$	2,8±0,1	2,6±0,1	2,5±0,3	$p^{3/5 \text{ сут}} > 0,05$ $p^{5/10 \text{ сут}} > 0,05$	$p^{4,5 \text{ 3 сут}} > 0,05$ $p^{4,5 \text{ 5 сут}} > 0,05$ $p^{4,5 \text{ 10 сут}} > 0,05$
³ Третья экспериментальная группа (n=15)	–	–	–	–	2,0±0,1	1,5±0,1	0,8±0,2	$p^{3/5 \text{ сут}} < 0,05$ $p^{5/10 \text{ сут}} < 0,05$	–
p (с надстрочным указанием сравниваемых групп)	$p^{1,2} < 0,05$	$p^{1,2} < 0,05$	$p^{1,2} < 0,05$	–	$p^{3,2} < 0,05$	$p^{3,2} < 0,05$	$p^{3,2} < 0,05$	–	–

В основной группе выявлено статистически достоверное снижение уровня лимфоцитарной инфильтрации ($p < 0,05$) с увеличением сроков от момента ЛКВ, что отсутствует в контрольной группе ($p > 0,05$ на 3, 5, 10 сутки). При сравнении третьей экспериментальной и контрольной групп отмечено, что степень лимфоцитарной инфильтрации при ЛКВ на неизменную ПЖ (3-я группа) достоверно меньше воспалительного ответа после простой мобилизации ПЖ без ЛКВ (2 группа), причем в первом случае с течением времени он достоверно уменьшается ($p < 0,05$), а во втором нет ($p > 0,05$).

При оценке выраженности спаечного процесса при сравнении всех трех групп с отдельным учетом данных по подгруппам и в целом получено: $\chi^2 = 146,0$, $df = 8$, $p = 0,0000^{**}$ и $\chi^2 = 38,064285$, $df = 4$, $p = 0,000000^{**}$ соответственно, нулевая гипотеза исключена, принимается альтернативная, то есть имеется взаимосвязь между выраженностью спаечного процесса и видом лечения/воздействия в группах животных: криоаппликации не сопровождаются повышенным риском образования спаек, а при наличии ПН способствует его

уменьшению, вероятно, за счет меньшей лимфоцитарной инфильтрации.

Исходя из анализа структуры летальности в группах и подгруппах, макро- и микроскопических находок можно сделать вывод, что оптимальной продолжительностью ЛКВ является интервал в 3–4 секунды при температуре $-195,75^{\circ}\text{C}$, так как он не сопровождается образованием зоны крионекроза, способствует регенерации панкреатических ацинусов в зоне криовоздействия, не повреждает скопления гормон-продуцирующих (эндокринных) клеток, обрывая течение ПН, не приводит к летальному исходу, выраженному спаечному процессу, другим серьезным интраабдоминальным осложнениям (табл. 8), требующим повторных операций.

Таблица 8

Послеоперационные осложнения в группах экспериментальных животных

Осложнения	Количество экспериментальных животных		
	Основная группа (n=30/28)	Контрольная группа (n=30; 15+15)	Третья экспериментальная группа (n=15)
Внутрибрюшное кровотечение	0	0	0
Перитонит	20	8 (2 подгр)	5
Наличие спаек	8 (КВ 1–2 сек) + 20 ++	15 (1–я подгр) ++ 15 (2–я подгр)+++	15 ++
Абсцессы	5 (КВ 1–2 сек)	11 (2–я подгр)	0
Гематомы	6 (КВ 1–2 сек)	2 (2–я подгр)	0
Несостоятельность швов п/о раны	0	0	0
Наличие бляшек стеатонекроза	30	15 (2–я подгр)	2 (ЛКВ 60 сек)

Таким образом, ЛКВ на ПЖ при ПН, при адекватном температурно-временном режиме (3–4 секунды при температуре $-195,75^{\circ}\text{C}$) обладает высокой эффективностью в плане обрыва патогенетического звена в развитии ПН.

Криогенный метод способствует регенерации панкреатических ацинусов в зоне ЛКВ, не повреждает скопления гормон-продуцирующих (эндокринных) клеток. С учетом всего вышеизложенного, ЛКВ на ПЖ может быть рекомендовано при лечении ПН.

ВЫВОДЫ

1. Экспериментально установлено, что локальное криовоздействие на поджелудочную железу в оптимальном температурно-временном режиме не приводит к формированию зоны крионекроза, способствует регенерации панкреатических ацинусов в зоне криоаппликации, не повреждает скопления гормон-продуцирующих (эндокринных) клеток, и в более ранние сроки достоверно купирует воспаление поджелудочной железы. Быстрое купирование панкреатогенного ферментативного перитонита и достоверное снижение летальности в основной группе также говорит об обратимом ингибировании внешнесекреторной функции органа.

2. Воздействие сверхнизких температур на поджелудочную железу в эксперименте свыше 4 секунд ведет к асептическому некрозу в зоне непосредственного воздействия хладагента с дальнейшим образованием соединительнотканного рубца, который начинает формироваться к 10 суткам. При

меньшей продолжительности криовоздействия зоны крионекроза не образуется. При криоаппликации менее 3 секунд прерывания экспериментального панкреонекроза не происходит.

3. Определены термодинамические изменения при локальном криовоздействии на нормальную и патологически измененную ткань поджелудочной железы. В эксперименте в месте криовоздействия продолжительностью 60 секунд при температуре $-195,75^{\circ}\text{C}$ отчетливо выявлены три зоны, достоверно отличающиеся между собой морфологически: 1 – зона крионекроза, 2 – зона охлаждения, 3 – зона гипотермии. При криоаппликации в 5–6 секунд и температуре $-195,75^{\circ}\text{C}$ зона крионекроза менее выражена.

4. Оптимальным температурно–временным режимом локального криовоздействия на поджелудочную железу при экспериментальном панкреонекрозе, достоверно купирующим воспаление, вызывающим спаечный процесс меньшей степени выраженности, регенерацию панкреатических ацинусов без возникновения зон крионекроза, обеспечивающим сохранение скоплений гормон–продуцирующих (эндокринных) клеток, является продолжительность криоаппликации в 3 – 4 секунды при температуре $-195,75^{\circ}\text{C}$.

5. Изменения окружающих органов и тканей при локальном криовоздействии на поджелудочную железу на фоне экспериментального панкреонекроза: расширение просвета двенадцатиперстной кишки, отек её стенки, полнокровие печени и селезенки, спаечный процесс. Меньшая выраженность спаечного процесса при применении криовоздействия свидетельствует об антиадгезивности методики при лечении панкреонекроза.

6. Летальность при экспериментальном панкреонекрозе с криолечением достоверно меньше (в 3,5 раза) летальности от экспериментального панкреонекроза без криовоздействия при прочих равных условиях.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Криогенный метод воздействия на ПЖ может быть рекомендован для лечения ПН, учитывая его положительный эффект, суть которого состоит в регенерации панкреатических ацинусов в зоне криоаппликации, сохранении скоплений гормон–продуцирующих (эндокринных) клеток, минимальной реакции тканей и органов брюшной полости, низкой степени выраженности спаечного процесса, достоверно меньшей летальности.

2. Лечение экспериментального ПН можно производить автономным переносным криоаппликатором из никелида титана. Применение данного криоаппликатора позволяет осуществлять воздействие в труднодоступных местах с глубоким раневым каналом, что позволит использовать данную методику без широкой мобилизации тканей, что способно уменьшить интраоперационную травму и снизить вероятность инфицирования других участков брюшной полости и забрюшинного пространства, даст возможность к лапароскопической и ретроперитонеоскопической клинической апробации методики.

3. Криовоздействие с помощью автономного криоаппликатора из никелид–титана позволяет моделировать экспериментальный ПН у крыс при длительности воздействия более 4 секунд и температуре $-195,75^{\circ}\text{C}$.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации

1. Петренко, С.А. Измерение температуры поджелудочной железы при локальном криовоздействии / Д.Н. Андреев, Г.И. Жидовинов, Л.А. Иголкина // Вестник РГМУ.- 2010.- специальный выпуск №2. - С.152
2. Петренко, С.А. Экспериментальные морфологические предпосылки применения криотехнологии в лечении панкреонекроза [Текст] / Л.А. Иголкина, А.В. Смирнов, С.С. Маскин [и др.] // **Кубанский научный медицинский вестник**. - 2013. - №7 (142). – С.142-146 *
3. Petrenko, S. Experimental and clinical study of local cryoapplication in treatment of pancreatonecrosis / S. Maskin, L. Igolkina, V. Aleksandrov [et al.] // 17th World Congress of International Society of Cryosurgery (ISC) In conjunction with 1st Asian Pacific Forum on Cancer Diagnostics, Treatment and Prevention.- Bali, Indonesia. - 2013. - С.42-43
4. Петренко, С.А. Диагностические возможности компьютерной томографии и ультразвукового исследования при панкреонекрозе / В.А. Гольбрайх, С.С. Маскин, Н.И. Фетисов и др. // **Вестник экспериментальной и клинической хирургии**. 2014. Т. 7. № 4. С. 431-437. *
5. Петренко, С.А. Полиорганная недостаточность при осложненных формах панкреонекроза / Л.А. Иголкина, С.С. Маскин, В.А. Гольбрайх, В.В. Матюхин, С.А. Петренко // В книге: Материалы пленума правления ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ. Под редакцией Вишневого В.А., Гальперина Э.И., Степановой Ю.А., Корымасова Е.А., Сониса А.Г., Грачева Б.Н., 2015. - С. 58-60.
6. Петренко, С.А. Высокотехнологичные криохирургические методы в лечении инфицированных форм панкреонекроза / С.С. Маскин, Л.А. Иголкина, В.В. Александров, С.А. Петренко, В.А. Клячин // **Высокотехнологическая медицина**. 2015. Т. 2. № 4. С. 16-19.
7. Петренко, С.А. Панкреатический сепсис при панкреонекрозе / В.А. Гольбрайх, С.С. Маскин, В.В. Матюхин, Д.С. Земляков, С.А. Петренко // Материалы межрегиональной научно-практической конференции с международным участием. - Саранск, 2015, С 52-54.
8. Петренко, С.А. Применение криотехнологии в лечении инфицированных форм панкреонекроза / С.С. Маскин, Л.А. Иголкина, В.В. Александров, С.А. Петренко, В.А. Клячин // **Криохирurgia и новые технологии в медицине** / Матер. 1-ой Всероссийской конф. с междунар. участием. – СПб, 2015 – С. 10-12
9. Petrenko S. Cryotechnology in the treatment of infected pancreatic necrosis / S. Maskin, L. Igolkina, V. Aleksandrov et al. // **Low temperature medicine**. - 2015. - Vol.41, N1. – P. 2-5.
10. Петренко, С.А. Клиническая эффективность применения локального криовоздействия при инфицированном панкреонекрозе / С.С. Маскин, Л.А. Иголкина, В.В. Александров, С.А. Петренко, С.В. Кунгурцев // В сборнике: Актуальные проблемы гепатопанкреатобилиарной хирургии. Материалы XXIV Международного Конгресса Ассоциации гепатопанкреатобилиарных хирургов стран СНГ. Под редакцией В.А. Вишнево-

- го, С.Ф. Багненко, Ю.А. Степановой. 2017. С. 67-68.
11. Petrenko, S.A. The effectiveness of local cryotherapy in the treatment of pancreatic necrosis / L.A. Igolkina, S.S. Maskin, V.V. Aleksandrov, S.A. Petrenko, A.A. Pavlov // In book: **Refrigeration Science and Technology**. 3. Сер. "3rd IIR Conference on Cold Applications in Life Sciences - Cryotherapy and Cryopreservation, Proceedings" 2018. С. 39-41. #
 12. Petrenko, S.A. Local cryotherapy as an alternative treatment of pancreatic necrosis / S.S.Maskin, L.A.Igolkina, A.V.Pavlov, V.V.Aleksandrov, S.A.Petrenko, V.V. Matyukhin // The 20th World Congress of the International Society of Cryosurgery. - Haifa, 2019. – С. 34-35
 13. Петренко, С.А. Криохирургические технологии в лечении панкреонекроза / С.С. Маскин, Л.А. Иголкина, С.А. Петренко, В.В. Александров, А.В. Павлов // Неотложная медицинская помощь 2020: Материалы научно-практической конференции (16–17 июля 2020 г.). – М.: НПО ВНМ, НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ, 2020. Труды института, Т. 244, – С. 66-67
 14. Петренко, С.А. Локальное криовоздействие на поджелудочную железу при панкреонекрозе: результаты экспериментального исследования / С.С. Маскин, В.В. Александров, С.А. Петренко, Л.А. Иголкина // **Acta biomedica scientifica**. 2022; 7(1): 208-219. * #
- * - рецензируемые журналы, рекомендованные **ВАК** для опубликования результатов диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук;
- # - издания, индексируемые в международной базе **Scopus**